

Das Reduktionsvermögen des normalen Harns.

Von

Fr. N. Schulz.

(Aus der chemischen Abteilung des physiologischen Institutes in Jena.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. Januar 1912.)

Normaler, zuckerfreier Harn zeigt bei richtiger Anstellung der Trommerschen Probe kein nennenswertes Reduktionsvermögen. Bei zu starkem Erwärmen kann man jedoch bei der Trommerschen Probe auch mit normalen Harnen beträchtliche Reduktion von Kupferoxydhydrat zu Oxydul bekommen. Es liegt das daran, daß der Harn auch normalerweise beträchtliche Mengen reduzierender Stoffe (vor allem Kreatinin und Harnsäure) enthält.

Will man mit zuckerfreiem Harn ausgesprochene Reduktionserscheinungen sich vorführen, so braucht man nur einen Überschuß von Kupfer anzuwenden, und dann längere Zeit zu kochen. Versetzt man 5 ccm Harn, der in klinischem Sinne zuckerfrei ist, mit dem gleichen Volumen starker Natronlauge und dann mit etwa 5—10 Tropfen konzentrierter Kupfersulfatlösung, so entsteht ein dicker Niederschlag von blauem Kupferoxydhydrat. Erwärmt man nun zum Sieden und hält einige Zeit im Sieden, so wird aus dem blauen ungelösten Kupferhydroxyd schwarzes, ebenfalls ungelöstes Kupferoxyd. Erwärmt man nun weiter, so tritt nach verschieden langer Zeit (etwa nach zwei Minuten) eine Reduktion des schwarzen Kupferoxyds zu Oxydul ein. Man sieht, wie die schwarzen Flocken zunächst einen gelblichen Schimmer bekommen und dann ziemlich plötzlich durch und durch intensiv gelb-rot werden. Wüßte man nicht, daß es sich um eine gegen die Trommersche Vorschrift angestellte Probe handelte, so würde man auf Grund dieses Befundes sagen, daß es sich um eine stark positive «Zuckerprobe» handle.

Es macht immerhin einige Mühe, auf diese Weise ein beträchtliches Reduktionsvermögen des Harns nachzuweisen, so daß kaum anzunehmen ist, daß dem praktischen Arzt, mit wenig Übung in chemischem Arbeiten, häufiger auf diese Weise

eine Fehldiagnose unterläuft. Man wird sofort sehen, daß der betreffende Harn kein größeres Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat hat, wird demnach auch nur geringe Mengen von Kupfersulfatlösung hinzugeben und außerdem wird man das Kochen, schon weil die Flüssigkeit schwer ruhig zum Sieden zu bringen ist, nicht so lange fortsetzen, daß eine Oxydulausscheidung eintritt.

Gelegentlich anderer Untersuchungen habe ich die auffallende Beobachtung gemacht, daß jeder normale Harn ein großes Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat hat, wenn man dem Harn zuerst Kupfersulfat und nachher erst Lauge zusetzt.

Die Menge des lösbaren Kupferoxydhydrats schwankt etwas nach der Konzentration und der Zusammensetzung des betreffenden Harnes. Man kann aber durchschnittlich sagen, daß 5 ccm Harn etwa die Kupferoxydhydratmenge, die aus 5 bis 10 Tropfen konzentrierter Kupfersulfatlösung stammt, in Lösung zu halten vermag. Eiweißfreier Harn von der normalen, schwach sauren Reaktion bleibt klar, wenn man ihn mit der oben genannten Menge Kupfersulfatlösung versetzt. Gibt man nun tropfenweise 30%ige Natronlauge hinzu, so erhält man bei genügendem Zusatz von Natronlauge (15—20 Tropfen auf 5 ccm Harn) eine dunkelblaue Lösung, die, wenn man nicht zu viel Kupfersulfat hinzugegeben hat, abgesehen von der leichten Phosphattrübung, klar ist. Hat man zu viel Kupfersulfat hinzugegeben, so ist die Lösung getrübt durch ungelöstes Oxydhydrat. Auffallenderweise ist in den Büchern nirgends darauf hingewiesen, daß der normale Harn ein so großes Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat besitzt, wenn man Kupfersulfat und Natronlauge nicht in der Reihenfolge der Trommerschen Vorschrift, sondern in der umgekehrten Reihenfolge zusetzt.

Dieser auffallende Unterschied beruht wohl im wesentlichen auf dem Gehalt des Harns an Kreatinin, wenigstens verhält sich eine Kreatininlösung in dieser Hinsicht ebenso wie der Harn. 5 ccm einer 1%igen Kreatininlösung vermögen die aus ca. 5 Tropfen konzentrierter Kupfersulfatlösung stammende Kupferoxydhydratmenge aufzulösen, wenn man zuerst das Kupfer-

sulfat und dann die Natronlauge hinzugibt. Versetzt man die Kreatininlösung erst mit Natronlauge und dann mit Kupfersulfat, so löst sich dagegen gar kein Kupferoxydhydrat mit blauer Farbe.

Eine Kreatinlösung zeigt weder bei vorhergehendem noch bei nachfolgendem Zusatz von Kupfersulfat ein Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat. Da Kreatinin durch Einwirkung von Alkali leicht in Kreatin übergeht, ist die Erscheinung also dadurch zu erklären.

Die Kreatininmengen im Harn sind aber viel geringer, wie die der oben genannten Kreatininlösung. Ob neben dem Kreatiningehalt des Harns noch andere Stoffe in Betracht kommen, konnte ich nicht feststellen. Es müßte sich um einen der Stoffe handeln, der in beträchtlicheren Mengen im Harn vorkommt. Harnstoff, Hippursäure, Harnsäure zeigen nicht dieses Verhalten der Kreatininlösung. Nach Worm-Müller kann auch harnsaurer Alkali bei genügendem Überschuß von Alkalihydrat Kupferoxydhydrat in Lösung halten, es tritt aber bald ein weißlicher Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul auf. Der leichte Niederschlag, der sich namentlich beim Erwärmen von Harn, der erst mit CuSO_4 und dann mit Lauge versetzt wurde, bemerkbar macht, und von dem die Oxydulausscheidung oft deutlich ausgeht, besteht zum beträchtlichen Teil aus solchem harnsaurem Kupferoxydul.

Ich bin diesen Dingen ins Einzelne bisher nicht nachgegangen, da es mir zunächst auf die rein praktische Seite ankam, vor einer bisher nicht berücksichtigten Fehlerquelle der Trommerschen Probe zu warnen.

Daß nicht etwa die Oxyproteinsäuren für dieses Lösungsvermögen in Betracht kommen, geht daraus hervor, daß auch nach der Ausfällung der Oxyproteinsäuregruppe durch Zinksulfat (nach Kojo) der Harn noch ein gleich hohes Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat zeigt, wenn man zuerst Kupfersulfat hinzugibt. Auch Entfernung der mit neutralem Bleiacetat oder mit basischem Bleiacetat fällbaren Stoffe ändert dieses Lösungsvermögen des Harnes nicht.

Diese Eigenschaft des normalen Harnes bei verkehrter Anstellung der Trommerschen Probe, reichliche Mengen von

Kupferoxydhydrat mit blauer Farbe in Lösung zu halten, birgt die Gefahr in sich zur Diagnose auf einen abnormen Zuckergehalt in Harnen, die tatsächlich keine abnormen Zuckermengen enthalten. Man kann nämlich mit normalen Harnen mit Leichtigkeit eine Reduktion dieses gelösten Kupferoxydhydrats zu Oxydul, das sich als gelbroter Niederschlag ausscheidet, erzielen.

Ich habe an einer Anzahl von normalen Harnen die Bedingungen ausprobiert, unter welchen diese Reduktion sich mit ziemlicher Sicherheit demonstrieren läßt. Man nehme 5 ccm Harn, gebe dazu tropfenweise konzentrierte Kupfersulfatlösung. Es ist nun auszuprobieren, wie viel Kupferoxydhydrat durch die 5 ccm Harn in Lösung gehalten werden kann; 5—10 Tropfen ist die durchschnittlich in Betracht kommende Menge. Die Reaktion läßt sich am besten demonstrieren, wenn man möglichst reichlich Kupfersulfat hinzugibt, jedoch darf kein nennenswerter Überschuß von ungelöstem Kupferoxydhydrat nach dem Zusatz von Lauge vorhanden sein. Hat man diese ausprobierte Menge von Kupfersulfatlösung hinzugesetzt, so fügt man etwa 15—20 Tropfen 30%ige Natronlauge hinzu. Es ist wesentlich, daß man weder zu wenig, noch viel zu viel Natronlauge in Anwendung bringt.

Hat man so eine schön dunkelblaue Lösung, die fast völlig klar ist, erhalten, so erwärmt man zum Sieden. Man bemerkt schon, ehe volles Sieden im Gang ist, daß die blaue Farbe wesentlich abblaßt, mehr grünlich wird, oder auch ganz einer gelb-rötlichen Farbe Platz macht. Dann beobachtet man, wie nach einigem Sieden, oft schon nach wenigen Sekunden (nach längstens einer Minute, wenn man das Optimum für den betreffenden Harn getroffen hat), eine leichte Trübung von schwer definierbarer Farbe eintritt, die dann aber rasch und fast plötzlich gelb-rötlich wird. In wenigen Sekunden ist die Probe von einem reichlichen, diffusen, gelb-rötlichen Niederschlag durchsetzt, der sich nach einiger Zeit als fester, körniger, gelb-rötlicher Niederschlag zu Boden setzt.

Die Abscheidung des Oxydulniederschlages erfolgt am schönsten, wenn man nicht zu stark erwärmt; man erwärme einmal zu vollem Sieden, bezw. bis zum Verschwinden der

blauen Färbung, dann nehme man das Reagenzglas aus der Flamme heraus und lasse etwas abkühlen. Manchmal kommt schon während dieses ersten Abkühlens die Ausfällung des Oxyduls zustande. Meist muß man aber noch einmal oder auch mehrere Male aufkochen. Das wesentliche ist, daß man so kurz zum Sieden erwärmt, daß die Ausscheidung erst beginnt, wenn die Flüssigkeit nicht mehr in vollem Sieden begriffen ist. Wenn man in dieser vorsichtigen Weise erwärmt, dann scheidet sich das Oxydul sofort in großen Flocken ab und auch mit reinerer Farbe. Es ist auffallend, daß die Abscheidung von Oxydul zunächst an den feinen Flocken beginnt, zu denen sich die leichte Trübung der alkalisierten Probe beim Sieden zusammengeballt hat (Phosphattrübung, harnsaurer Kupferoxydul). An diese Flocken lagert sich dann fast in einem Moment das rasch anschließende Oxydul an.

Ein ganz ähnliches Verhalten beobachtet man bisweilen auch bei richtig angestellter Trommerscher Probe¹⁾ mit diabetischen Harnen. Salkowski hat dieses eigentümliche plötzliche Anschließen des Oxydulniederschlages bei einem Falle von Pentosurie beschrieben. Es ist dies Verhalten aber nicht spezifisch für Pentosurie.

Es ist klar, daß wir es hier mit einer Fehlerquelle der Trommerschen Probe zu tun haben, die praktisch durchaus im Bereich der Möglichkeit liegt. Ist als erster Fehler der Zusatz der Kupfersulfatlösung vor der Lauge erfolgt, so ist zum Vollenden der Täuschung nur noch nötig, daß der Zusatz des Kupfersulfats und der Lauge annähernd in den oben näher bezeichneten Mengenverhältnissen stattfindet. Das ohne weiteres auffallende Lösungsvermögen des Harnes für Kupferoxydhydrat gibt dann sicher leicht den Anlaß, etwas stärker zu erwärmen, zumal die schon beim einfachen Aufkochen eintretende Entfärbung der blauen Lösung auch weiterhin den Verdacht auf abnorme Zuckermengen bestärkt.

¹⁾ Eine besondere Warnung vor dieser Fehlerquelle der Trommerschen Probe habe ich kürzlich in der Münchn. med. Wochenschr. veröffentlicht.

Es gehören allerdings bestimmte Konzentrationsverhältnisse dazu, um die beschriebene Reduktionserscheinung deutlich zu machen. Bei zu geringem Zusatz von Kupfersulfat und auch von Lauge kommt es nur zur Entfärbung und nicht zur Ausfällung von Oxydul. Auch ein großer Überschuß von Lauge verhindert die Ausfällung des Oxyduls. Bei eiweißhaltigen Harnen kommt es ebenfalls nur zur Entfärbung.

Auf diese verschiedenen Schwierigkeiten mag es zurückzuführen sein, daß auf diese Fehlerquelle der Trommerschen Probe noch nirgends hingewiesen wurde. Es wird zwar in Praxi nicht gar so selten vorkommen, daß die Reagenzien in der verkehrten Reihenfolge zugesetzt werden; aber die Fälle, in denen dann wirklich eine schöne intensive Oxydulbildung beobachtet wird, werden doch wesentlich seltener sein.

Wie ist nun das Verhalten beim Erwärmen, die eigentliche Reduktionserscheinung zu erklären? Wesentlich ist offenbar das Kreatinin sowohl als Lösungsmittel für das Kupferoxydhydrat, als auch als reduzierender Stoff. Die Fähigkeit des Kreatinins (und auch des Kreatins), Kupferoxyd zu Oxydul zu reduzieren, ist lange bekannt. Es kommt aber, wenn man etwa Kreatinin mit Fehlingscher Lösung kocht, nicht zu einer Ausfällung des Oxyduls, sondern nur zu einer Entfärbung. Eine Abscheidung des Oxyduls läßt sich dagegen erzielen, wenn man die Flüssigkeit mit kohlensaurem Natrium sättigt. Die zunächst beim Erwärmen eintretende Entfärbung bei der falschen Trommerschen Probe mit Harn wird also wohl wesentlich mit auf das Kreatinin zu setzen sein.

Als zweiter reduzierender Stoff kommt die Harnsäure in Betracht. Der Harnsäure kommt ein beträchtliches Reduktionsvermögen zu. Nach Worm-Müller kann 1 Mol. Harnsäure 2 Mol. CuO (aus Fehlingscher Lösung stammend) reduzieren. Im Gegensatz zum Kreatinin kann man mit Harnsäure nicht nur eine Reduktion des Oxyds zu Oxydul, sondern auch eine Ausscheidung von Oxydul erzielen. Es gehören jedoch bestimmte Reduktionsbedingungen dazu, um eine maximale Ausscheidung von Oxydul zu erzielen. Insbesondere ist nach Worm-Müller bei Verwendung einer zur vollkommenen Oxydation

ungenügenden Kupferoxydmenge die Ausscheidung eine unvollkommene, da die gebildeten Zersetzungsprodukte der Harnsäure instande sind, mehr als die bei der Reduktion gebildete Oxydulmenge in Lösung zu halten.

Für die Trommersche Probe kommen auch noch andere Stoffe als Lösungsmittel für Oxydul in Betracht, und zwar sowohl direkt als auch durch bei der Probe entstehende Zersetzungsprodukte. Vor allem ist hier das Harneiweiß zu nennen. Daher wird ja auch bei der Trommerschen Probe verlangt, daß man das koagulierbare Eiweiß vorher entferne. Will man sich das Reduktionsvermögen des Harns bei verkehrter Anwendung der Trommerschen Probe besonders prompt vorführen, so kann man den Harn zuerst schwach mit Natriumcarbonat alkalisieren und dann mit Zinksulfat fällen (Verfahren von Kojo). Man nehme auf 100 ccm Harn 30—40 Tropfen konzentrierte Natriumcarbonatlösung und 30 ccm 10%ige Zinksulfatlösung. Das erhaltene Filtrat gibt starke Ausscheidung von Oxydul, oft schon ehe der Harn vollauf zum Sieden gekommen ist, jedenfalls nach ganz kurzem Sieden.

Ein recht interessanter Versuch ist folgender. Man nehme 5 ccm Filtrat von der Zinkfällung, gebe 5—10 Tropfen konzentrierte Kupfersulfatlösung hinzu und dann 20 Tropfen Natronlauge. Man erhält eine dunkelblaue fast völlig klare Lösung. Erwärmt man nunmehr zum Sieden und nimmt, sobald die Flüssigkeit ins richtige Wallen kommt, aus der Flamme heraus, so sieht man, daß sich in der entfärbten oder blaß grünlichen Flüssigkeit ein flockiger weißlicher Niederschlag befindet, der für einen einfachen Phosphatniederschlag etwas reichlich erscheint. Beobachtet man nunmehr während des Abkühlens, so sieht man, daß der weißliche Niederschlag langsam zunimmt (harnsaurer Kupferoxydul). Plötzlich wird der Niederschlag gelblich und in wenigen Sekunden ist die Flüssigkeit erfüllt von einem dicken Oxydulniederschlag, der sich rasch zu Boden setzt.

Es ist also offenbar durch die Entfernung der Oxyprotein-säurefraktion die Fähigkeit, das gebildete Oxydul in Lösung zu halten, herabgesetzt worden, sodaß man in diesem Falle die Reduktion schon ohne richtiges Sieden erzielen kann. An-

scheinend eignet sich ein derartig vorbereiteter Harn am besten, um dieses Reduktionsvermögen des normalen Harnes quantitativ festzulegen.

Man kann sich auch künstlich Lösungen herstellen, die sich ganz analog wie der Harn verhalten. Vermischt man z. B. je 2 ccm einer je 1%igen Lösung von Kreatinin, harnsaurem Natrium und Hippursäure in Wasser, fügt dann 5 Tropfen konzentrierte Kupfersulfatlösung und 20 Tropfen 30%ige Natronlauge hinzu, so erhält man eine dunkelblaue Lösung, die bei kurzem Sieden starke Ausscheidung von Oxydul zeigt. Setzt man dagegen zu der obigen Mischung erst Natronlauge und erst dann Kupfersulfat, so bekommt man ausschließlich eine Fällung von Kupferoxydhydrat, über der sich nach einigem Stehen eine farblose Flüssigkeit absetzt, sodaß also in diesem Fall kein Oxydhydrat mit blauer Farbe gelöst ist.

Es sind die hier angegebenen Mischungsverhältnisse zwar solche, wie sie im Harn nicht in Betracht kommen. Es würde sich aber wahrscheinlich auch mit anderen Konzentrationsverhältnissen eine ähnliche Reaktion erzielen lassen. Welche Bedeutung die Hippursäure hierbei hat, kann ich nicht genau angeben. Es ist mir nicht gelungen, mit Kreatinin und Harnsäure bzw. harnsaurem Natrium allein Lösungen zu bekommen, die Entfärbung der Kupferlösung und Ausfällung von Oxydul zeigen.

Ob die hier mitgeteilten Beobachtungen sich dazu eignen, um einen gewissen Reduktionswert des Harns quantitativ festzulegen, und in welcher Weise das geschehen kann, das sollen weitere Untersuchungen lehren.

Zusammenfassend sei hervorgehoben: 1. Mit normalen, zuckerfreien Harnen kann man stark positive Trommersche Probe bekommen, wenn man zunächst Kupfersulfatlösung und erst dann Natronlauge hinzufügt. Es sei daher ausdrücklich vor dieser Abweichung von der Trommerschen Vorschrift gewarnt.

2. Kreatininlösungen zeigen ebenso wie normaler Harn ein beträchtliches Lösungsvermögen für Kupferoxydhydrat, wenn man erst Kupfersulfat und dann Natronlauge hinzufügt, nicht aber bei Zusatz der Reagenzien in der umgekehrten Reihenfolge.