

## Über den Stickstoff des enteiweißten Blutserums.

Von

Dr. Rudolf Philipp, Sekundärarzt.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik R. v. Jaksch in Prag)

(Der Redaktion zugegangen am 8. Juli 1913.)

Im Anschluß an meine<sup>(1)</sup> Arbeit über den Reststickstoff und Harnstoffgehalt im Blute von Nephritikern habe ich einige vergleichende Bestimmungen des Filtratstickstoffes nach Fällung mit Phosphorwolframsäure, Uranylacetat und Ferrum oxydatum dialysatum ausgeführt, deren Resultate ich im folgenden mitteile. Weiters habe ich die Methode der Harnstoffspaltung im Autoklaven, wie sie von Henriques<sup>(2)</sup> und Gammeltoft angegeben wurde, mit der Spaltung nach Kjeldahl verglichen.

Ein Mangel lag bisher darin, daß man keine ideale Methode der Enteiweißung hatte. Und die Resultate, die man für den Reststickstoff erhielt — ich fasse hier diesen Begriff weiter und bezeichne damit auch den Filtratstickstoff nach Enteiweißung mit den oben genannten Methoden —, waren nicht ohne weiteres vergleichbar. Denn nach der Hitze-koagulation bleiben im Filtrat außer den krystalloiden stickstoffhaltigen Stoffen des Blutserums auch noch einige Kolloide, nämlich Serummucoïd, Albumosen und Proteinsäuren, also auch niedere Eiweißkörper. Um vollkommen zu enteiweißen und Krystalloide von Kolloiden zu trennen, verwendet man besser die Eiweißfällung mit Metallsalzen. Doch muß man sich vor Augen halten, daß der auf diese Weise erhaltene Filtratstickstoff nicht mit dem Reststickstoff im engeren Sinne identisch ist, worunter man eben nur den Filtratstickstoff nach Hitze-koagulation versteht. Und in dieser Hinsicht wurde in neuerer Zeit das von Kowalewski<sup>(3)</sup> angegebene Uranylacetat von

A. Oszaki<sup>(4)</sup> für klinische Zwecke eingeführt und mit Erfolg verwendet. Früher wurde Phosphorwolframsäure hierzu verwendet, und zwar wurden von R. v. Jaksch<sup>(5)</sup> und mir<sup>(6)</sup> Bestimmungen hiermit ausgeführt. Schließlich noch nicht zur Enteiweißung für die Filtratstickstoffbestimmung erprobt erscheint die Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum, die von Michaelis<sup>(7)</sup> und Rona bei der Blutzuckerbestimmung benützt wurde. Diese beiden Methoden habe ich nun bei einer Reihe von Bluts eris nebeneinander angewandt, und zwar habe ich in erster Linie den Filtratstickstoff nach Phosphorwolframsäure- und Uranylacetatfällung und dann diesen nach Uranylacetatfällung und Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum verglichen. In einigen Fällen habe ich auch die Hitzekoagulation verwendet, und zwar nach der von Hohlweg<sup>(8)</sup> angegebenen Weise mit Monokaliumphosphat und Essigsäure. Nach dieser Methode habe ich jedoch in zwei Fällen viel höhere Werte erhalten, trotzdem bei der Ferrocyanalprobe nicht die geringste Trübung zu konstatieren war. Was die Ausführung der einzelnen Methoden anbelangt, so hielt ich mich hinsichtlich der Phosphorwolframsäurefällung an die Vorschrift von Schöndorff, die von R. v. Jaksch in der Festschrift für Leyden genau beschrieben ist; hinsichtlich der Uranylacetatfällung an die Angaben Oszakis. Die Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum machte ich nach Neuberg.<sup>1)</sup>

Bei der Phosphorwolframsäurefällung wurde 10%ige Phosphorwolframsäure verwendet, der ein zehntel Teil 25%ige Salzsäure zugesetzt wurde. Es wurde nur Phosphorwolframsäure von Kahlbaum verwendet und auch immer die Fähigkeit, Harnstoff in Lösung zu halten, geprüft. Und zwar wurde das Serum immer in die vierfache Menge von Phosphorwolframsäure eingetropt und hierauf gut gemischt. Das Eiweiß fiel meist in groben Flocken aus. Nach 24 Stunden wurde abfiltriert, und mit einem aliquoten Teil des Filtrates die Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl ausgeführt. Uranylacetat wurde in 1½%iger Lösung in der Menge des verwandten Serums, das vorher mit der dreifachen Menge Wassers ver-

<sup>1)</sup> Neuberg. Der Harn, II. Teil, S. 994.

dünnt wurde, tropfenweise zugefügt; das Eiweiß fiel in fein verteilter Form aus. Nach gutem Umschütteln wurde filtriert. Das Filtrat war immer sofort vollkommen eiweißfrei. Die Ferrocyanalprobe zeigte nie die geringste Trübung.

Bei der Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum wurde das Serum mit dem achtfachen Volumen Wasser verdünnt und hierauf Ferrum oxydatum dialysatum in der Menge des verwendeten Serums zugesetzt. In einigen Fällen genügten auch  $\frac{1}{5}$  dieser Menge. Die Fällung ging immer glatt vor sich und das Filtrat zeigte nicht die geringste Trübung bei der Ferrocyanalprobe, und auch die Prüfung auf Eisen fiel negativ aus.

(Siehe umstehende Tabelle 1.)

Wenn man die vorliegende Tabelle betrachtet, in der die Resultate nach Phosphorwolframsäurefällung denen nach Uranylacetatfällung gegenübergestellt sind, so sind in den betrachteten Fällen die Werte nach der ersten Methode immer niedriger als nach der zweiten, bloß in einem Falle herrscht fast vollkommene Übereinstimmung. Im Durchschnitt erhält man 88,1% Filtratstickstoff nach Phosphorwolframsäurefällung gegenüber dem nach Uranylacetatfällung. Was die Fällung durch Hitze-koagulation anbelangt, so ergaben sich in zwei von den untersuchten Fällen Werte, die fast doppelt so groß waren als die nach Phosphorwolframsäure- und Uranylacetatfällung gefundenen, trotzdem die Ferrocyanalprobe im Filtrat vollkommen negativ war. Da bleibt die Frage offen: sind doch noch Eiweißkörper in Lösung geblieben oder waren die oben erwähnten stickstoffhaltigen, kolloiden Substanzen in diesen Fällen besonders stark vermehrt? Dies zu beantworten, hierzu reichen diese zwei Bestimmungen nicht aus. In dem einen Falle war der Unterschied kein zu großer. (Fall IX.) In diesem Falle wurde das Filtrat nach der Hitze-koagulation mit Phosphorwolframsäure gefällt und 0,121 g Stickstoff gefunden, während die direkte Fällung mit Phosphorwolframsäure 0,139 g N ergab.

In der folgenden Tabelle (Tab. II) ist der Vergleich der Fällung mit Uranylacetat und der Fällung durch Ferrum oxydatum dialysatum zusammengestellt.

Tabelle I.

Fall	Verwandte Menge Serum in ccm	Fällung mit Phosphorwolframsäure		Verhältnis des Filtratstickstoffes nach Phosphorwolframsäurefällung zu dem nach Uranylacetatfällung in %	Verwandte Menge Serum in ccm	Fällung mit Uranylacetat		Fällung durch Hitzeokoagulation	
		g Stickstoff berechnet auf 100 ccm Serum	Doppelbestimmungen			Mittelwert	g Stickstoff berechnet auf 100 ccm Serum	Doppelbestimmungen	Mittelwert
I	55	0,023	0,023	0,023	65	0,024	0,024	—	—
II	100	0,180	0,189	0,185	100	0,208	0,210	—	—
III	40	0,039	0,041	0,040	40	0,041	0,041	0,096	0,096
IV	40	0,048	0,048	0,048	40	0,060	0,060	0,108	0,109
V	25	0,035	0,035	0,035	25	0,048	0,046	—	—
VI	40	0,039	0,039	0,039	25	0,046	0,046	—	—
VII	100	0,019	0,019	0,019	100	0,021	0,021	—	—
VIII	15	0,158	—	0,158	10	0,178	—	—	—
IX	25	0,138	0,140	0,139	30	0,152	—	0,160	0,160
XIII	50	0,175	0,175	0,175	30	0,193	0,193	—	—
XX	75	0,085	0,085	0,085	75	0,101	0,105	—	—

Tabelle II.

Fall Nr.	Fällung mit Ferrum oxyd. dialysatum			Verhältnis des Filtratstickstoffes nach Fällung mit Ferrum oxyda- tum dialysatum zu dem nach Fällung mit Uranylacetat in %	Fällung mit Uranylacetat				
	Ver- wandte Menge Serum in ccm	g N in 100 ccm Serum			Ver- wandte Menge Serum in ccm	g N in 100 ccm Serum			
		Doppel- proben	Mittel- wert			Doppel- proben	Mittel- wert		
XII	40	0,338	0,338	0,338	91,4	40	0,370	0,370	0,370
XIV	23	0,045	0,045	0,045	128,6	23	0,035	0,035	0,035
XV <sup>1)</sup>	100	0,037	0,037	0,037	90,2	300	0,041	0,041	0,041
XVI	49	0,057	0,057	0,057	80,3	49	0,070	0,072	0,071
XVII	25	0,050	0,050	0,050	87,7	25	0,057	0,057	0,057
XX	75	0,106	0,109	0,108	104,8	75	0,105	0,101	0,103

Hier ergibt sich, daß in vier Fällen im Filtrat nach der Fällung mit Uranylacetat ein höherer Stickstoffgehalt gefunden wurde. In zwei Fällen ist er in dem Filtrat nach der Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum höher. In einem dieser letzteren Fälle ist jedoch die verwandte Serummenge sehr gering und es spielen vielleicht Versuchsfehler eine Rolle. In anderen Fällen ist die Differenz gering. In der Mehrzahl der Fälle scheint auch hier die Uranylacetatfällung einen höheren Wert zu geben.

Im Durchschnitt aus meinen Bestimmungen beträgt der Filtratstickstoff nach Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum 97,2% gegenüber jenem nach Fällung mit Uranylacetat. Wenn wir nun alles zusammenfassen, so ergibt sich: Die Fällung mit Uranylacetat und die mit Ferrum oxydatum dialysatum haben den Vorteil, daß man sich leicht davon überzeugen kann, ob das Filtrat wirklich eiweißfrei ist.

Da bei der Uranylacetatfällung dies immer der Fall war und trotzdem die Werte nach Phosphorwolframsäurefällung um durchschnittlich 10% niedriger waren, so ist der bei der Uranylacetatfällung gefundene Wert als der richtige anzusehen.

<sup>1)</sup> Pleuraexsudat.

und bei dem nach Phosphorwolframsäurefällung gefundenen der Fehler von etwa 10% in Rechnung zu ziehen.

Die Fällung mit Ferrum oxydatum dialysatum bietet gegenüber der Uranylacetatfällung keine Vorteile.

Mit Rücksicht darauf, daß empfohlen wird, die Fällung nicht direkt durch die Metallsalze auszuführen, sondern zuvor in der Hitze auszukoagulieren, habe auch ich einen Versuch mit den von mir benützten Methoden gemacht und in der folgenden Tabelle (Tab. III) zusammengestellt.

Tabelle III.

		Durch Phosphorwolframsäure		Durch Ferrum oxydatum dialysatum		Durch Uranylacetat	
		A.		B.		C.	
Direkte Fällung	Doppelbestimmungen	0,138	0,140	0,050	0,050	0,057	0,057
	Mittelwert	0,139		0,050		0,057	
Fällung nach Hitze-koagulation	Doppelbestimmungen	0,121	—	0,048	0,058	0,050	0,050
	Mittelwert	0,121		0,048		0,050	

A ist das Serum des Falles IX auf Tabelle I, B und C ist das Serum des Falles XVII auf Tabelle II. Die oben angeführten Resultate sind Gramme Stickstoff berechnet auf 100 ccm Serum. Die Methode, die hier zur Anwendung kam, war folgende: das Serum wurde in der Hitze auskoaguliert und zwar unter Zusatz von Essigsäure bis zu schwach saurer Reaktion: nach Abkühlenlassen wurde filtriert und ein aliquoter Teil des Filtrates zur weiteren Fällung benützt.

Von den Fällungsmitteln wurde eine zur vollkommenen Fällung genügende Menge hinzugefügt, jedoch ein Überschuß des Fällungsmittels vermieden.

Aus obiger Tabelle ergibt sich, daß man bei indirekter Fällung immer niedrigere Werte erhält. Die Differenzen erreichen jedoch nicht die Höhe, als daß die Mehrarbeit zu empfehlen wäre. Im Gegenteile, da die Filtrate nach der Fällung mit Uranylacetat und mit Ferrum oxydatum dialysatum vollkommen eiweißfrei waren, ist eher anzunehmen, daß die Resultate mit direkter Fällung die richtigen sind, während das Minus

bei der indirekten Fällung als Verlust anzusehen ist, der aus den Fehlerquellen der komplizierteren Methode entspringt.

Von V. Henriques und S. A. Gammeltoft wurde in neuerer Zeit zur Harnstoffbestimmung im Harn die Spaltung desselben im Autoklaven empfohlen. Ich habe dies auch versucht und für Harnstofflösung ein vollkommen übereinstimmendes Resultat mit der Spaltung nach Kjeldahl erhalten.

In Doppelproben wurden je 5 ccm einer etwa 1%igen Harnstofflösung einmal nach Kjeldahl und dann unter Zusatz der gleichen Menge Normalschwefelsäure in Autoklaven bei 150° eineinhalb Stunden lang erhitzt. Dann wurde nach der gewöhnlichen Art mit Laugezusatz destilliert. In allen vier Proben wurde 7,9 ccm  $\frac{1}{4}$ -Normallauge zum Austitrieren gebraucht, was die Angaben der genannten Autoren vollauf bestätigt, nämlich daß Harnstoff durch diese Methoden vollkommen gespalten wird.

Bei den Versuchen mit den enteiweißten Seren gaben sich folgende Resultate (siehe Tabelle IV):

Tabelle IV.

Spaltung	Fällung durch	Phosphorwolframsäure	Uranylacetat	Ferrum oxydatum dialysatum
Nach Kjeldahl	Doppelbestimmungen	—	A. { 0,038: —	0,0385; 0,0385
	Mittelwert	—		
Im Autoklaven	Doppelbestimmungen	—	0,028; 0,028	0,028; —
	Mittelwert	—		
Nach Kjeldahl	Doppelbestimmungen	0,085; 0,085	0,105; 0,101	0,106; 0,109
	Mittelwert	0,085	0,103	0,108
Im Autoklaven	Doppelbestimmungen	0,081; —	0,096; 0,098	0,090; 0,090
	Mittelwert	0,081	0,097	0,090

Die obigen Werte sind wieder Gramme Stickstoff, berechnet auf 100 ccm Serum. A und B sind zwei verschiedene Sera. C ist ein und dasselbe Serum, das auf Tabelle I und II als Fall Nr. XX bezeichnet ist.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich, daß schon da Differenzen vorkommen, wo ich die Destillation unter Laugezusatz vorgenommen habe, und zwar Differenzen, die wohl nicht als Versuchsfehler anzusehen sind, sondern in dem Vorhandensein von stickstoffhaltigen Stoffen des Filtratstickstoffes begründet sind, die nach dieser Methode nicht gespalten werden. Man wird auf diese Weise vielleicht mit Erfolg den Reststickstoff fraktionieren können und zur Harnstoffbestimmung im Blut durch Verwendung von Magnesia usta zur Herbeiführung der alkalischen Reaktion bei der Destillation eine brauchbare Methode ausarbeiten können.

Das verwandte Serum war in den Fällen I, III, IV, XVII und XX der Tabellen I und II, sowie in den Fällen A und B auf Tabelle IV ein Serungemisch ohne Rücksicht auf die Diagnose. In den Fällen II, VIII, IX und XII stammte das Serum von Urämischen.

Im Falle XIII setzte ich zum Serum Harnstofflösung hinzu.

Im Falle V stammte das Serum von einem Patienten mit Lebercirrhose, im Falle VI von einem mit arteriosklerotischer Schrumpfniere, im Falle XIV von einer Kohlenoxydvergiftung, im Falle XVI von einer Opiumvergiftung, und die Fälle VII und XV waren keine Sera, sondern pleuritische Exsudate. Was die Fälle von Urämie betrifft, so weisen sie die höchsten Werte für Reststickstoff auf. Fall II war eine chronische interstitielle Nephritis mit schweren urämischen Symptomen. Er starb einige Wochen nach der Venaepunctio.

Fall VIII war eine schwere Pyelonephritis, die als Fall XI bereits in meiner Arbeit «über Reststickstoff- und Harnstoffgehalt im Blute von Nephritikern» publiziert ist. Damals betrug der Filtratstickstoff nach Phosphorwolframsäurefällung 0,082 g und ist also jetzt, wo das Blut etwa eine Woche ante exitum entnommen wurde, fast auf das Doppelte, d. i. 0,158 g, gestiegen.

Fall IX und XII ist ein Fall von akuter Nephritis mit den schwersten urämischen Symptomen. Das erstemal betrug der Filtratstickstoff nach Uranylacetatfällung 0,152 g und zwar im Laufe einer Woche auf 0,370 g, wo die venaepunctio einen Tag ante exitum erfolgte, gestiegen. Wir können also auch



502 Rudolf Philipp, Über den Stickstoff des entweißten Blutserums.

hier die hohen Werte bei Urämie, den Anstieg vor dem Tode, und die schlechte Prognose bei hohen Werten bestätigt sehen.

#### Literatur.

1. R. Philipp, Mediz. Klinik, Bd. 9, S. 912, 1913.
2. V. Henriques und S. A. Gammeltoft, Skand. Archiv f. Physiol., Bd. 25, S. 166, 1911; zitiert nach C. Neuberg, Der Harn, I. Teil, S. 641, 1911
3. Kowalewski, Z. f. anal. Chemie, Bd. 24, S. 551.
4. A. Oszaki, Zeitschrift f. klin. Medizin, Bd. 77, S. 1, 1913.
5. R. v. Jaksch, Internationale Beiträge zur inneren Medizin, Festschr. für Leyden, Berlin 1902, S. 197 und Zeitschr. f. Heilkunde, Bd. 24, S. 401, 1903.
6. siehe bei 1.
7. Michaelis und Rona (zitiert nach C. Neuberg, Der Harn, II. Teil, S. 994).
8. H. Hohlweg, Deutsches Archiv f. klin. Medizin, Bd. 104, S. 216, 1911.

Prag, am 6. Juli 1913.

---