

# Über das Vorkommen eines krystallisierbaren nicht koagulierbaren Eiweißstoffes im Harn bei einem Falle von Magencarcinom.

Von

O. Schumm und A. Kimmerle.

Mit einer Tafel in Lichtdruck.

(Aus der Direktorialabteilung [Prof. Dr. L. Brauer] und dem Chemischen Laboratorium [Vorsteher: O. Schumm] des Allgemeinen Krankenhauses Hamburg-Eppendorf.)  
(Der Redaktion zugegangen am 13. Mai 1914.)

Die spontane Krystallisierung eines im Harn enthaltenen Eiweißstoffes ist unseres Wissens bislang nur einmal beobachtet worden und zwar von Byron Bramwell und Noël Paton.<sup>1)</sup> Der Harn enthielt 1,5—5,16% Eiweiß. Nach den von Noël Paton ausgeführten Analysen bestand das Harn-eiweiß zu rund 93—96% aus Globulin, zu 4—7% aus Albumin. Beim Erhitzen zum Sieden gerann der sauer reagierende Harn fast vollständig unter Bildung einer fibrinartigen Masse, die einen beträchtlichen Grad von Dehnbarkeit und Elastizität besaß. Beim Aufbewahren des Harns in einer verschlossenen Flasche entstand im Laufe von Tagen oder Wochen ein Niederschlag von Eiweißkrystallen. Sie entstanden auch, wenn der aus dem Harn durch Halbsättigung mit Ammoniumsulfat ausgefällte Eiweißniederschlag 4—5 Tage gegen fließendes Wasser und 2 Tage gegen destilliertes Wasser dialysiert wurde. Beim Ansäuern einer schwach ammoniumsulfathaltigen Lösung des Eiweißstoffes mit Essigsäure wurden keine Krystalle gewonnen. Noël Paton hielt den krystallisierten Eiweißstoff für ein Globulin.

Die Krystalle waren aschefrei, wenigstens hinterließen 0,965 g keine wägbare Menge Asche. Sie waren unlöslich in kaltem und heißem Wasser und in Alkohol, lösten sich aber in schwachen Lösungen von Kochsalz und Ammoniumsulfat, ferner in Salzsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Kalilauge und Ammoniak. Beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung schied sich die Substanz zuweilen wieder in Krystallen aus. Sie gab die Xanthoproteinreaktion, die Reaktion von Liebermann und

<sup>1)</sup> Reports from the laboratory of the Royal College of Physicians, Edinburgh, Bd. 4, S. 47, 1892.

entwickelte beim Verbrennen den Geruch nach verbrannten Federn. Die Gerinnungstemperatur des Harns lag bei 59—60°. Lösungen der Eiweißkrystalle in schwachen Neutralsalzlösungen gerannen bei 56—59°. Die Krystalle waren phosphorfrei und enthielten nach der von Murray ausgeführten Analyse 51,89% C, 6,88% H, 16,06% N, 23,93% O, 1,24% S. In einer eingehenden Besprechung dieses Falles hat Huppert<sup>1)</sup> darauf aufmerksam gemacht, daß der Gerinnungspunkt dieses Eiweißstoffes mit dem der Heteroalbumose übereinstimme. Als Huppert später Gelegenheit erhielt, eine ihm von Noël Paton überlassene Probe des Eiweißstoffes selbst zu untersuchen, kam er zu dem Schluß, daß sie von der Heteroalbumose verschieden sei, und Eigenschaften aufweise, wie sie ein echtes Globulin, z. B. Serumglobulin, besitze. Die Vermutung, daß es sich um ein dem Globulin nahestehendes Histon handeln könne, wurde durch ihr Verhalten gegen Ammoniak widerlegt.

Kürzlich haben wir im frischen Harn einer Carcinom-Kranken einen Eiweißkörper gefunden, der die Eigenschaft hatte, sich in heißem, fast salzfreiem Wasser zu lösen und beim Erkalten in mikroskopischen Körnchen oder gut ausgebildeten Krystallen abzuscheiden. Das bei unserem Eiweißstoff beobachtete Ausbleiben der sog. Hitzekoagulation ist ein bekanntes Merkmal des «Bence-Jonesschen Eiweißkörpers». Von diesem wissen wir durch Magnus-Levy,<sup>2)</sup> daß er aus einer annähernd 40 Volumprozent gesättigte Ammoniumsulfatlösung enthaltenden Lösung bei langem Aufbewahren auskrystallisieren kann. Der Harn, aus dem Magnus-Levy die Eiweißkrystalle gewann, stammte von einem Menschen, der nach den klinischen Erscheinungen höchstwahrscheinlich an multiplen Myelomen litt; die Sektion ist nicht ausgeführt worden. Magnus-Levy hat die (millimeterlangen) Krystalle entdeckt, nachdem die Lösung 4 Monate lang in einer verschlossenen Flasche gestanden hatte. Die Krystalle wurden in Wasser gelöst, die Lösung mit Ammoniumsulfatlösung bis zur eben beginnenden Trübung versetzt. Nach 24 Stunden hatte sich ein großer Teil des Eiweißkörpers krystallinisch ausgeschieden. Magnus-Levy konnte den Eiweiß-

<sup>1)</sup> Huppert, I. Über einen Fall von Albumosurie, Diese Zeitschrift, Bd. 22, S. 500, 1896. — II. Über den Noël-Patonschen Eiweißkörper, Zentralblatt für die medizinischen Wissenschaften, Bd. 36, 1898, S. 481.

<sup>2)</sup> A. Magnus-Levy, Über den Bence-Jonesschen Eiweißkörper, Diese Zeitschrift, Bd. 30, 1900.

körper so noch mehrfach umkrystallisieren; freilich erhielt er nie wieder makroskopische Krystalle. Die Ausbeute betrug ca. 1 g. Alle Versuche zur Gewinnung weiterer Mengen der Substanz in Krystallen, die sowohl unter den gleichen als auch unter geänderten äußeren Bedingungen ein ganzes Jahr hindurch fortgeführt wurden, verliefen erfolglos.

Mehrere Jahre danach haben Grutterink und de Graaf<sup>1)</sup> aus dem Harn eines Kranken einen Eiweißkörper krystallinisch abscheiden können, der in seinem Verhalten im allgemeinen mit dem Bence-Jonesschen Eiweißkörper übereinstimmte und auch wohl allgemein damit identifiziert wird. Grutterink und de Graaf bezeichneten die Substanz im Titel ihrer Abhandlung als eine krystallinische Harnalbumose, fanden aber, daß sie bei der Verdauung mit Pepsinsalzsäure in ein Gemisch von primären und sekundären Albumosen zerfiel. In der von Magnus-Levy beschriebenen Weise, d. h. durch Stehenlassen einer annähernd 40% gesättigter Ammoniumsulfatlösung enthaltenden Lösung haben Grutterink und de Graaf die Substanz nicht krystallisieren können. Die Krystallisierung trat nur ein, wenn ammoniumsulfatreiche Lösungen mit einer bestimmten Menge Schwefelsäure versetzt wurden. Auch aus Lösungen, die an Stelle von Ammoniumsulfat Zinksulfat oder Magnesiumsulfat enthielten, konnte die Substanz in Krystallen erhalten werden, ebenfalls aus Lösungen, die an Stelle der genannten Salze Chlorammonium und Salzsäure oder Chlor-natrium und Salzsäure enthielten. Angaben über die Mengen, in denen die erwähnten Zusätze gemacht werden mußten, liegen indessen nicht vor. Im Verlaufe weiterer Untersuchungen ergab sich, daß die Substanz innerhalb 24 Stunden zum Krystallisieren gebracht werden konnte, wenn man 90 ccm der wässrigen Lösung der Substanz mit 10 ccm gesättigter neutralisierter Ammoniumsulfatlösung und «steigenden Mengen» Säure versetzte. Der Kranke ist von Prof. Dr. Hijmans van den Bergh klinisch beobachtet worden, der über den Fall

<sup>1)</sup> A. Grutterink und J. de Graaf, Über die Darstellung einer krystallinischen Harnalbumose, Diese Zeitschrift, Bd. 34, S. 393, 1901 und Bd. 46, S. 472, 1905.

ausführlich berichtet hat.<sup>1)</sup> Bei einer kürzlich gepflogenen mündlichen Unterhaltung hatte Herr Prof. Dr. Hijmans van den Bergh die Freundlichkeit, sein Urteil über den Fall dahin zusammenzufassen, daß nach dem Ergebnis der histologischen Untersuchung eine myelomatöse Erkrankung des Knochenmarkes bestanden habe.

In unserem Falle handelt es sich um eine 50 Jahre alte Frau, welche früher Masern, Scharlach, Diphtherie, Lungenentzündung und im Jahre 1896 Blinddarmentzündung gehabt haben will. Wegen eingeklemmten Bruches wurde sie früher operiert. Die Patientin hat kein Kind ausgetragen; außerdem hatte sie noch 3 Umschläge gehabt; nach 6—8wöchiger Schwangerschaft erfolgte ohne ersichtliche Ursache die Frühgeburt. Der letzte Abort fand im Jahre 1906 statt. Seit Oktober 1913 fühlte sich die Patientin nicht mehr so recht wohl, der Appetit ließ nach; in der Lebergegend traten heftige Schmerzen auf; auch stellte sich eine leichte Gelbfärbung der Haut ein. Angeblich sollen leichte ziehende Schmerzen in der rechten Schulter vorhanden gewesen sein. Seit 3 Jahren Menopause.

Status praesens: große, mäßig kräftig gebaute Frau, in verhältnismäßig gutem Ernährungszustand. Hautdecken schmutzig hellgelblich verfärbt, Fettpolster schlaff. Am Kopfe ergibt sich äußerlich kein besonderer Befund. Die Zunge ist belegt. Am Halse keine Drüsenschwellungen.

Thorax: o. B. Lungen: o. B. Herz: Füllung des Pulses nicht immer gleichmäßig, sonst o. B.

Abdomen: Bauchdecken nicht gespannt, Fettpolster wenig vermehrt. In der Mittellinie eine Narbe, welche vom Nabel nach abwärts bis zur Symphyse reicht. Unterhalb des rechten Rippenbogens fühlt man eine harte, schmerzempfindliche Resistenz, deren Oberfläche grobhöckerig erscheint. Die Resistenz erstreckt sich nach links und oben, reicht in der Mittellinie gut 3 Querfinger breit nach abwärts vom Processus xiphoideus und verliert sich unter dem linken Rippenbogen. Bei der Inspiration verschiebt sich die Resistenz nach unten (die vergrößerte Leber). Die Milz ist nicht zu fühlen. Am ganzen Körper sind nirgends vergrößerte Drüsen zu fühlen. Das Skelettsystem bietet zunächst keine auffallenden Veränderungen; der rechte Humerus, beide Tibiae und das Sternum sind auf Druck etwas empfindlich. An beiden Tibiae kann

<sup>1)</sup> Hijmans van den Bergh, Albumosurie (Bence-Jones), Separat-Afdruk Herinnerings-Bundel Prof. Rosenstein, 1902 bei Eduard Jjdo, Leiden.

man auch leichte Verdickungen fühlen. Der Urin ist trüb, gelb, die Menge in 24 Stunden gelassen = 800 ccm, spez. Gewicht 1016, Reaktion sauer, die Zuckerproben sind negativ, Eiweiß vorhanden, Urobilinogen  $\sigma$ , Urobilin  $\sigma$ . Im Urinsediment (Zentrifugat) fanden sich Leukocyten, granulirte Zylinder, hyaline Zylinder, Epithelien. Beim Stehenlassen des Urins setzte sich in 24 Stunden kein deutliches Sediment ab. Blutdruck 100—105 mm Hg (Riva Rocci-Denecke). Die Untersuchung des Blutes ergab folgendes: 4300000 E, 8900 L, 70% Hb. Die Zusammensetzung der Leukocyten ergab nichts Besonderes; das Blutbild wurde öfters untersucht. Wassermann  $\sigma$ , Tumorreaktion nach v. Dungern negativ. Im ausgeheberten Mageninhalt war keine freie HCl, aber auch keine Milchsäure vorhanden. Die Röntgenuntersuchung des Abdomens ergibt, daß der fühlbare große Tumor mit dem Magen nicht zusammenhängt.

Es wurde zunächst angenommen, daß es sich um einen Lebertumor handelt, vermutlich um eine von Metastasen durchsetzte Leber neben einem irgendwo im Abdomen, am wahrscheinlichsten im Magen, sitzenden primären malignen Tumor.

Während der Beobachtung schwankte der Eiweißgehalt beträchtlich, ebenso die Urinmengen (von 600—200 ccm). Es fiel nun auf, daß bei einem Eiweißgehalt von 2‰ und 3‰ die mikroskopischen Befunde im Urin sich im Vergleich zu denen der früheren Tage wesentlich anders verhielten. Während man bis zum 26. XI. 13 in dem öfters untersuchten Urin stets reichlich Zylinder finden konnte, nahmen von diesem Tage an die Zylinder im Urin beträchtlich ab und verschwanden bald dauernd. Die Leukocyten, Epithelien, Harnsäurekrystalle blieben. Der Urin wurde vom 25. XI. 13 ab täglich mikroskopisch untersucht, jedesmal wurden 3—4 Präparate durchsucht. Am 1. XII. 13 klagte die Frau über etwas Schmerzen in der rechten Schulter und in den Knochen der Extremitäten. Auf Druck waren rechts die III.—VI. Rippen, das Sternum, der rechte Humerus und beide Tibiae empfindlich. Außer den schon eingangs erwähnten Auftreibungen an beiden Tibiae waren sonst am Skelettsystem nirgends Auftreibungen oder Verdickungen zu fühlen. In Erinnerung an unseren früheren Fall <sup>1)</sup> dachten wir, es möchte sich auch hier um einen malignen Tumor handeln, wobei gleichzeitig multiple Myelome vorhanden seien. Der Urin wurde auf den Bence-Jonesschen Eiweißkörper untersucht und er war auch wirklich vorhanden. Der klar filtrierte, stark sauer reagierende Urin wurde vorsichtig erwärmt; es zeigte sich bei 48° C. eine schwache, aber deutliche Opalescenz, welche schon bei 53° C. in eine deutliche Trübung überging. Bei weiterem Erhitzen bis zum Kochen verschwand die Trübung nicht. Wurde aber der zum Kochen gebrachte Urin möglichst heiß filtriert, so war das Filtrat zunächst ganz klar, trübte sich nach einiger Zeit und gab allmählich einen feinflockigen Niederschlag. Wurde das Filtrat wieder zum Kochen erhitzt, dann ver-

<sup>1)</sup> A. Kimmerle und O. Schumm, Sitzungsbericht der biolog. Abteilung des ärztl. Vereins Hamburg v. 29. IV. 1913, Münch. med. Wochenschrift 1913, Nr. 26.

schwand die Trübung wieder ganz, um beim Abkühlen von neuem aufzutreten.

Diese Reaktionen waren an den folgenden Tagen mehr oder minder deutlich ausgeprägt vorhanden. Erst in den Urinmengen der dem Tode vorhergehenden letzten 2 Tage war das beschriebene Verhalten weniger ausgeprägt. Der Körper scheint also an Menge abgenommen zu haben, eine Beobachtung, welche auch schon von anderer Seite gemacht ist. Am 13. XII. 1913 erfolgte der Tod; die Sektion wurde 18 Stunden später vorgenommen.

Außer Infarkten in beiden Unterlappen der Lunge, einer myodegeneratio adiposa cordis und Nierenkonkrementen wurde ein Magencarcinom gefunden, welches Lebermetastasen verursacht hatte. Aus dem Sektionsprotokoll entnehmen wir folgende Daten:

Bei der Eröffnung des Magens findet sich in der Gegend der großen Krümmung, 8 cm vom Pylorus entfernt in der Schleimhaut eine 2 Markstückgroße, flache, scharf umschriebene, rein weiße, etwas über das Niveau der umgebenden Schleimhaut prominierende Stelle, welche an einer Stelle in die darunter gelegene Submucosa zu dringen scheint, sonst jedoch gut verschieblich ist. Die übrige Schleimhaut des Magens ist dunkelschieferfarben und mit zähem Schleim bedeckt. Der übrige Intestinaltraktus zeigt nichts Besonderes.

Die Leber mißt 36 : 20 : 11 cm. Der untere Leberrand überragt den rechten Rippenbogen um 2 Querfinger Breite. Die ganze Leber, welche mit ihrem linken Lappen bis in die Gegend der Milz reicht, ist diffus durchsetzt von zahlreichen, feinen, weißlichen Geschwulstknoten, welche nur in sehr geringem Grade oder gar nicht über das Niveau der Oberfläche prominieren und nirgends nabelartige Einziehungen an der Oberfläche verursachen. Auf der gekörnten Schnittfläche ist das ganze Parenchym von feinsten bis kleinhaselnußgroßen, grauweißen, häufig konfluierenden, nur wenig über die Schnittfläche prominierenden, derben Geschwulstherden durchsetzt; dazwischen sind nur spärliche, zum großen Teile verfettete Lebergewebsinseln übrig geblieben. Auch narbige, glasige, fibröse Gewebzüge durchziehen das Gewebe auf der Schnittfläche. Auf den Sägedurchschnitten verschiedener Knochen (Schädeldach, beide Femur, Sternum, verschiedene Rippen und Wirbel, die Tibia und Fibula des linken Beines) wurden nirgends Herdkrankungen festgestellt. Die intakte Corticalis setzt sich überall scharf gegen das Mark hin ab; im Oberschenkel findet sich außer gelbem Mark (Fettmark) auch blaßgraurotes Mark; in den Wirbelkörpern findet sich zum Teil Fettmark. Die linke Tibia und Fibula führen reines Fettmark. An einer umschriebenen Stelle der rechten Fibula läßt sich eine etwa 1 mm dicke, subperiostale, gegen die Rinde zu gut abgegrenzte, kompakte Knochenauflagerung erkennen.

Nach dem Urteile von Herrn Prof. Dr. Eugen Fraenkel (Vorsteher des hiesigen Pathologisch-anatomischen

Instituts) waren im Knochenmark makroskopisch und mikroskopisch durchaus keine Veränderungen nachweisbar, welche auf eine Erkrankung des Knochenmarkes hätten schließen lassen, weder solche myelomatöser Art noch andere.

Wir beschreiben nun das allgemeine Verhalten des Harns, die Gewinnung der Krystalle und ihre Eigenschaften.

Der Harn reagiert gegen Lackmus sauer; die gewöhnlichen Eiweißproben (Hellersche Probe, Essigsäure-Ferrocyankaliumprobe, Kochprobe, Esbachs Probe) fielen positiv aus. Die Gerinnungstemperatur des Harns (ohne oder mit Zusatz von 1—2 Tropfen 30%iger Essigsäure auf 50 ccm Harn unter den üblichen Vorsichtsmaßregeln bestimmt) schwankte an den einzelnen Tagen zwischen 50 und 60°. Wurde der Harn zum Sieden erhitzt, mit 1 Tropfen 30%iger Essigsäure oder mehreren Tropfen Salpetersäure versetzt, filtriert und abgekühlt, so gab das in der Hitze klare Filtrat beim Erkalten eine schwach milchige oder feinflockige Trübung, die beim Erhitzen verschwand. Auch wenn man den mit  $\frac{1}{30}$  Raumteile gesättigter Kochsalzlösung und ca.  $\frac{1}{100}$  Raumteil 30%iger Essigsäure versetzten Harn aufkochte, ließ sich im Filtrat die nicht koagulable Substanz nachweisen. Salpetersäure, in genügender Menge dem Harn zugesetzt, bewirkte eine Ausflockung; beim Erhitzen trat Aufhellung ein; doch blieb ein Teil der Flocken ungelöst. Beim Verdünnen mit Wasser blieb der Harn klar, ebenso bei Zusatz von Essigsäure. Durch Zusatz von Essigsäure und viel Kochsalz ließ sich alles Eiweiß ausfällen. Durch Zusatz von 2 Raumteilen 90%igen Alkohols wurde das Eiweiß größtenteils, aber nicht vollständig ausgefällt. Der Gesamteiweißgehalt betrug durchweg 3‰, in den letzten Lebenstagen erheblich weniger. Im schwach ammoniakalisierten Harn begann die Ausfällung von Eiweiß, wenn in 100 Raumteilen des Gemisches 42 Raumteile gesättigter Ammoniumsulfatlösung enthalten waren, also etwa bei  $\frac{2}{5}$ -Sättigung.

Zur Gewinnung der nicht koagulablen Eiweißsubstanz wurde der Harn durch Autkochen bei schwach essigsaurer Reaktion (mit oder ohne Zusatz von Kochsalzlösung) und Filtrieren ent-

eiweißt, das Filtrat mit dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt, der Niederschlag abfiltriert und mit kaltem oder heißem Wasser, teils ohne teils mit Zusatz von sehr wenig Essigsäure extrahiert. In heißem Wasser war der durch Alkohol ausgefällte Niederschlag größtenteils löslich, in kaltem Wasser bedeutend weniger. In der kaltgesättigten schwach ammoniakalischen Lösung entstand bei Zusatz von gesättigter Ammoniumsulfatlösung die erste Trübung, wenn in 100 Raumteilen des Gemisches 38 Raumteile gesättigter Ammoniumsulfatlösung enthalten waren. Durch  $\frac{3}{5}$ -Sättigung ließ sich zwar die Hauptmenge, aber nicht alles Eiweiß ausfällen, die Ausfällung war erst beendet, wenn in 100 Raumteilen des Gemisches 68 bis 70 Raumteile gesättigter Ammoniumsulfatlösung enthalten waren. Die kaltgesättigte wässrige Lösung der Alkoholfällung gab bei Zusatz von ziemlich viel Salpetersäure einen starken Niederschlag, der sich bei gelindem Erwärmen löste und beim Erkalten wieder erschien. Die Lösung gab ferner positive Millon-Reaktion, positive Xanthoproteinreaktion und rotviolette Biuretreaktion, bei der Behandlung mit Kalilauge Albuminatbildung und beim Kochen mit Kalilauge und Bleiacetat Schwarzfärbung. Nach mehrstündiger Verdauung der Substanz mit Pepsinsalzsäure ließen sich in dem Verdauungsgemisch primäre und sekundäre Albumosen nachweisen. Die aus einer größeren Portion Harn in der angegebenen Weise gewonnene Alkoholfällung wurde mit Alkohol gewaschen, scharf abgesogen, mit 20 ccm Wasser verrieben und unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen gelassen, wobei der größere Teil in Lösung ging. Das Filtrat wurde mit 2 Tropfen Ammoniakflüssigkeit versetzt und wieder filtriert. 7 ccm dieses klaren, gelblichen Filtrats lieferten 0,1598 g Trockensubstanz, deren Gehalt an Asche 0,0215 g betrug; davon waren 0,0017 g in Wasser unlöslich (Kalkphosphat). Die bei gewöhnlicher Temperatur hergestellte Lösung enthielt demnach 0,1383 g oder 1,98% organische Substanz, die ganz überwiegend aus nicht koagulablem Eiweiß bestand.

Einmal wurde dieser Eiweißstoff auf folgende Weise in Krystallen erhalten: 200 ccm Harn, 10 ccm gesättigte Kochsalzlösung und  $\frac{1}{2}$  ccm 30%ige Essigsäure wurden

aufgekocht, heiß filtriert, das Filtrat mit Alkohol gefällt, der Niederschlag mit Alkohol gewaschen, alkoholflecht mit ca. 15 ccm Wasser und 1 Tropfen 30%iger Essigsäure verrieben, erhitzt (jedoch nicht bis zum Kochen) und filtriert. Das in einem Glaszylinder aufgefangene Filtrat, das sich sehr bald trübte, wurde in den Eisschrank gestellt. Als wir am übernächsten Morgen den Inhalt des Zylinders verarbeiten wollten, fiel es dem einen von uns (Sch.) auf, daß der entstandene Niederschlag teilweise fest an den Wandungen des Zylinders haftete. Er prüfte daraufhin sogleich mikroskopisch und fand, daß der ganze Niederschlag in der Hauptsache aus schön ausgebildeten Krystallen bestand. Daneben waren kleinste, teilweise zu mehreren verklebte Kugeln vorhanden. Die Massenhaftigkeit des krystallinen Niederschlags sprach von vornherein dagegen, daß es sich um Krystalle einer anorganischen Substanz handelte, und die chemische Untersuchung bewies, daß in der Tat ein krystallisierter nicht koagulabler Eiweißstoff vorlag. Wir bemerken schon hier, daß es uns, trotz Innehaltens der gleichen äußeren Versuchsbedingungen, nicht gelungen ist, weitere Mengen der Substanz zu krystallisieren. Allerdings konnten wir nur noch einige Portionen Harn verarbeiten, da die Kranke bald starb. Um festzustellen, ob der krystallinische Niederschlag größere Mengen anorganischer Substanz enthielt, haben wir die Masse umgerührt, nach kurzem Stehenlassen die überstehende Flüssigkeit mit den schwebenden feinen Teilchen möglichst vollständig abgossen, den überwiegend aus gut ausgebildeten Krystallen bestehenden Bodensatz abfiltriert, ihn ohne vorheriges Auswaschen, also verunreinigt durch etwas Mutterlauge, vom Filter genommen, im Platintiegel bei  $110^{\circ}$  bis zur Gewichtskonstanz getrocknet, gewogen und verascht. 0,1013 g bei  $110^{\circ}$  getrockneter Substanz gab 0,0031 g Asche; davon waren 0,0012 g in Wasser unlöslich und bestand im wesentlichen aus Kalkphosphat. Der wasserlösliche Teil der Asche enthielt Alkalichlorid, das offenbar aus der Mutterlauge stammte. In einer zweiten Probe des Krystallniederschlags, der auf der Zentrifuge sorgfältig mit Wasser gewaschen war, konnten wir nach dem Veraschen Alkalichloride nicht nach-

weisen. Aus obigen Zahlen berechnet sich der Gehalt des durch anhaftende Mutterlauge verunreinigten Krystallniederschlags an wasserunlöslicher Asche zu 1,18%. Höher dürfte der Gehalt der **reinen** Krystalle an Gesamtasche nicht gewesen sein, vielleicht noch niedriger.

Nach Ausführung einiger Vorproben haben wir den Rest der Krystalle durch Aufschwemmen in Wasser und Dekantieren von den beigemengten kleineren Teilchen befreit und ihn durch Auswaschen auf der Zentrifuge vollständig gereinigt. Die Krystalle blieben dabei größtenteils gut erhalten und zeigten bei der (teilweise mikrochemischen) Prüfung folgende Eigenschaften:

1. Sie sind in Alkohol unlöslich, in kaltem Wasser schwer, in heißem Wasser leicht löslich; bei genügender Konzentration trübte sich die heiße, wässrige Lösung beim Erkalten; die Trübung ist bedingt durch mikroskopische Kügelchen, die allmählich die Gestalt von Scheibchen mit unregelmäßig gezacktem Rand annehmen und sich mit Kaliumpermanganat braun färben. Eine dünnere Lösung bleibt beim Erkalten klar, trübt sich bei Zusatz von Salpetersäure und wird beim Erwärmen wieder klar.

2. Sie enthalten Stickstoff (Probe von Lassaigne stark positiv) und leicht abspaltbaren Schwefel (Braunschwarzfärbung beim Kochen mit Kalilauge und Bleiacetat).

3. Sie lösen sich in Kalilauge leicht auf, beim Neutralisieren der Lösung fällt die Substanz aus (Bildung von Albuminat).

4. Sie geben die Reaktionen von Millon, Molisch (intensiv rot), von Ehrlich (rotvioletter Ring beim Unterschichten der Lösung mit einer Lösung von p-Dimethylamido-benzaldehyd in Schwefelsäure), rotviolette Biuretreaktion und die Xanthoproteinreaktion.

5. Sie lösen sich in verdünnter und konzentrierter Schwefelsäure, in Salpetersäure, in Salzsäure. Setzt man zu einer Probe des Krystallbreis auf dem Objektträger wenig Salpetersäure oder verdünnte Schwefelsäure, so werden die Krystalle trüb und lösen sich auf; es verbleibt jedoch eine kaum wahrnehmbare «staubförmige» Trübung.

6. Sie färben sich mit Millons Reagens rosa und nehmen

dabei allmählich Bogenform an, mit Kaliumpermanganat braun, mit Jodjodkalium braun, mit Goldchlorid gelb, mit Pikrinsäure gelb, mit Safranin rot, mit Säurefuchsin rot.

In Fig. 1 und 2 sind Mikrophotogramme des ursprünglichen Krystallniederschlags wiedergegeben, in Fig. 3 das Mikrophotogramm der mit Kaliumpermanganat gefärbten Krystalle<sup>1)</sup> (Vergrößerung 50 mal). Durch das beschriebene Verhalten sind die Krystalle als echte Eiweißkrystalle gekennzeichnet.<sup>2)</sup>

Unsere Krystalle zeigen in allen wesentlichen Punkten völlige Übereinstimmung mit denen von Grutterink und de Graaf. Diese geben an, daß ihre Eiweißkrystalle sich in kochendem Wasser völlig lösen und beim Abkühlen gelöst bleiben.<sup>3)</sup> Eine einigermaßen konzentrierte, in der Hitze hergestellte vollkommen klare wässerige Lösung **unserer** Krystalle gab beim Erkalten eine starke Trübung, während eine sehr verdünnte Lösung auch beim Erkalten klar blieb. Ein sicherer Unterschied im chemischen Verhalten unserer Krystalle und derer von Grutterink und de Graaf hat somit nicht nachgewiesen werden können; unsere Beobachtungen sprechen vielmehr dafür, daß beide Stoffe identisch sind. Der vollgültige Beweis ihrer Identität konnte freilich nicht erbracht werden, da die kleine Menge unserer Krystalle nicht ausreichte, um die Bausteine der Substanz näher zu bestimmen.

Magnus-Levy beschreibt die Eigenschaften seiner Krystalle folgendermaßen:<sup>4)</sup> «Die unter einer ammoniumsulfathaltigen Lösung aufbewahrten Krystalle lösten sich nach dem Filtrieren und Abpressen etwas langsamer in Wasser als der unkrystallisierte Körper, immerhin genügend leicht. Die wässerige Lösung wurde beim Erwärmen stark getrübt, bei 100° wurde sie bei noch vorhandenem geringen Salzgehalt

<sup>1)</sup> Die mikrophotographischen Aufnahmen unserer Krystalle verdanken wir Herrn W. Gummelt.

<sup>2)</sup> Vgl. A. Wichmann, Über die Krystallformen der Albumine. Diese Zeitschrift, Bd. 27, S. 575, 1899.

<sup>3)</sup> l. c., S. 401.

<sup>4)</sup> l. c., S. 217/218.

Fig. 1.

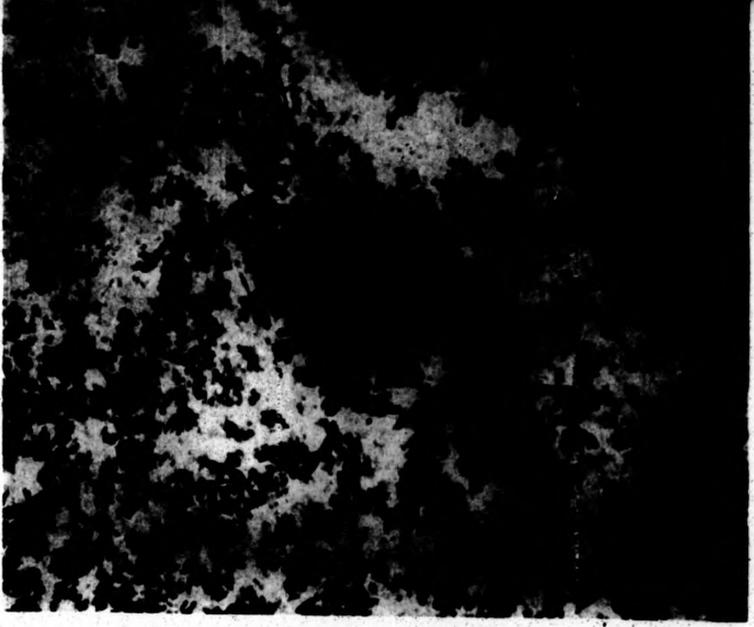


Fig. 2.

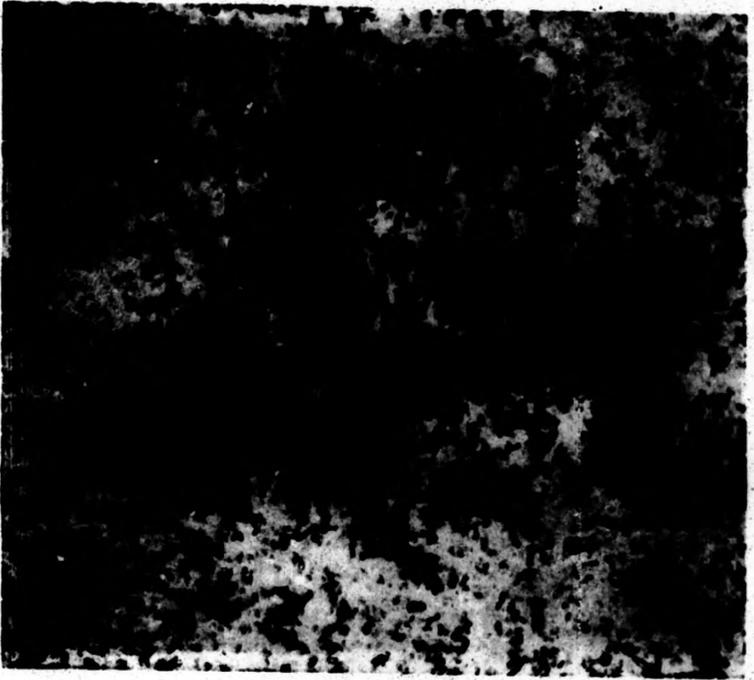
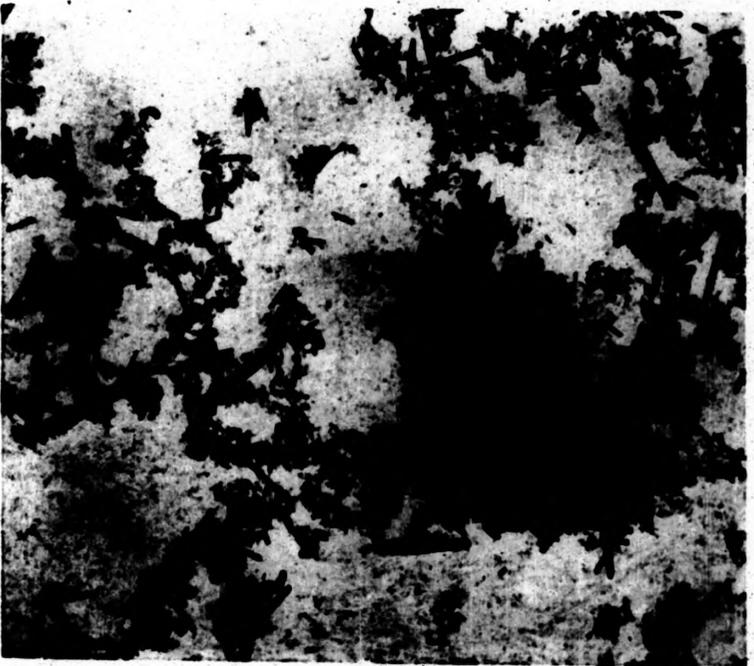


Fig. 3.



klar, während nach starker Dialyse, wenn das Ammoniumsulfat bis auf Spuren entfernt war, in der Siedehitze Klärung nicht eintrat. Die Fällungsgrenzen durch Ammoniumsulfat lagen für die salzfreie sehr stark verdünnte Lösung des Bence-Jonesschen Körpers bei 4,8, resp. 6,6 ccm Ammoniumsulfatlösung, also etwas höher als im Urin. Gegen Salpetersäure, Kochsalz, Kochsalzessigsäure, Ferrocyankaliumessigsäure reagierte die Lösung des krystallisierten Körpers genau wie die des nicht krystallisierten. Die Krystalle waren noch nicht aschefrei: Bei der Salpeterschmelze ergaben sie (durch Molybdänsäure und Tripelphosphatniederschlag nachgewiesen) einen geringen Phosphorgehalt. Da die direkte Veraschung im Platintiegel aber eine nicht saure, sondern eine in Wasser unlösliche, in Salzsäure lösliche Asche lieferte, so darf auch hier der Phosphorgehalt wohl auf eine Beimengung von Kalk und Magnesiaphosphat bezogen werden.»

Danach darf angenommen werden, daß Magnus-Levys Krystalle in Wasser von gewöhnlicher Temperatur ziemlich leicht löslich waren. Im Gegensatz dazu waren Grutterink und de Graafs und ebenso unsere Krystalle in Wasser von gewöhnlicher Temperatur sehr schwer löslich. Es erscheint jedoch nicht möglich, aus dieser Abweichung auf eine Verschiedenheit der vorliegenden Eiweißstoffe zu schließen, zumal die Höhe des Aschegehalts von Magnus-Levys Krystallen nicht angegeben ist.

Im Blut, der Leber und dem Knochenmark haben wir keinen Eiweißstoff nachweisen können, welcher die dem «Bence-Jonesschen Eiweißkörper» eigentümliche Reaktion zeigte.

Unsere Beobachtung beweist, daß das klinische Symptom einer Bence-Jonesschen Albuminurie bestehen kann, ohne daß eine Knochenmarkserkrankung nachweisbar ist. Ob etwa verschiedene einander sehr nahestehende pathologische Eiweißstoffe vorkommen, deren jeder dem Harn die für die Bence-Jonessche Albuminurie charakteristischen Eigentümlichkeiten verleihen kann, ist noch unentschieden.

---