

Untersuchungen über Kolloide im Urin.

I. Mitteilung.

Über Kolloide im normalen menschlichen Urin.

Von

Privatdozent Dr. **Lichtwitz**, Assistent, und
Dr. **Otto Rosenbach**, Medizinalpraktikant.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Göttingen.)

(Der Redaktion zugegangen am 25. Juni 1909.)

Im Anschluß an Untersuchungen über die Bildung von Niederschlägen in der Galle,¹⁾ die ergeben hatten, daß das Ausfallen der die Konkremente bildenden Stoffe durch Reaktionen zwischen entgegengesetzt geladenen Kolloiden bedingt ist, erschien es bei der Weiterführung dieser Untersuchungen auf die Niederschlagsbildung in den Harnwegen geboten, zunächst die Kolloide des normalen Urins, ihre physikalische und chemische Beschaffenheit anzugeben.

Die Angaben hierüber in der Literatur sind nicht eben zahlreich. Das Mucin des Harns ist nach C. A. H. Mörner²⁾ eine Verbindung von Eiweiß mit eiweißfällenden Substanzen. Nucleinsäure und Chondroitinschwefelsäure. Neuere, im Institute Hofmeisters³⁾ angefertigte Arbeiten über die adialysablen Stoffe des Urins haben ergeben, daß die Chondroitinschwefelsäure nicht durch die Membran geht. Dieser hochmolekularen Säure steht das tierische Gummi Landwehrs⁴⁾ nahe, das nach den Angaben von Landwehr und Baisch⁵⁾ kolloidale Beschaffenheit hat. Ein stickstoffhaltiges kolloidales komplexes

¹⁾ Deutsch. Archiv für klin. Med., Bd. XCII, S. 100, 1097.

²⁾ Skandinav. Arch. f. Physiol., B. VI, S. 332.

³⁾ Kumoji Sasaki, Hofmeisters Beiträge, Bd. IX, S. 386, 1907. M. Savaré, ibidem, Bd. IX, S. 401, Bd. XI, S. 71. W. Ebbecke, Biochem. Zeitschrift, Bd. XII, S. 485, 1908.

⁴⁾ Zentralblatt f. d. med. Wissenschaften 1885.

⁵⁾ Diese Zeitschrift, Bd. XVIII, XIX, XX.

Kohlehydrat findet Salkowski¹⁾ unter den alkoholunlöslichen Stoffen des Urins. Auch dem Urochrom schreibt G. Klemperer²⁾ kolloidalen Charakter zu. Seine Untersuchungen führten zu dem Ergebnis, daß der menschliche Urin die Fähigkeit, Harnsäure in Lösung zu halten, durch seine kolloidale Beschaffenheit erlangt, und daß unter den kolloidalen Substanzen in erster Reihe das Urochrom in Betracht kommt. Ob sich das Urobilin in echter oder kolloidaler Lösung im Urin befindet, ist nicht untersucht. Die Oxyproteinsäure geht nach Hofmeister durch die Membran.

Angaben über die elektrische Ladung der Harnkolloide macht H. Iscovesco.³⁾

Mit der Gesamtmenge der Kolloide befassen sich die bereits erwähnten Untersuchungen aus dem Laboratorium Hofmeisters, in denen bei normalen und kranken Individuen das Gewicht der nicht dialysierenden Stoffe festgestellt sind. Weiterhin findet sich in einer Arbeit von Tamaka⁴⁾ der Hinweis, daß die Quantität der hydrophilen Kolloide durch die Bestimmung der Viskositäts-erhöhung gemessen werden könnte. Diese Messung müßte aber im dialysierten Urin erfolgen, da, wie auch aus neueren Untersuchungen von W. Pauli⁵⁾ hervorgeht, die innere Reibung kolloidaler Lösungen durch Salze in unkontrollierbarer Weise verändert wird.

Die Anwendung der Wage, die ja zweifellos für die Feststellung der Gesamtmenge der Kolloide die genaueste Methode ist, kann keinen Aufschluß darüber geben, ob die kolloidalen Stoffe im Sol- oder Gelzustand oder in welchem Grade der Aufteilung oder Teilchengröße enthalten sind, was für die Annäherung an unser Problem von ausschlaggebender Bedeutung ist.

Wir haben uns daher zur Messung der Gesamtkonzentration der Sole der Zsigmondyschen Methode der Bestimmung der Goldzahl bedient.

¹⁾ Berl. klin. W., 1905, Nr. 51/52.

²⁾ Kongreß f. inn. Medizin 1902.

³⁾ Compt. r. de la Soc. Biolog., S. 60, 1906.

⁴⁾ Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol., Bd. LIX, S. 1, 1908.

⁵⁾ Kolloid-Zeitschrift, Bd. III, 1908.

Indem wir bezüglich des Theoretischen insbesondere auf die Arbeiten von R. Zsigmondy¹⁾ und bezüglich der Methodik auch auf die demnächst erscheinende Inaugural-Dissertation des einen von uns (R.) verweisen, sei hier nur kurz daran erinnert, daß die hochrote kolloidale Goldlösung durch Elektrolyte gefällt wird, wobei die Farbe in Blau umschlägt. Diese Fällung kann durch Kolloide verhindert werden, und Zsigmondy nennt die Menge Kolloid in Milligramm, die eine bestimmte Menge Goldlösung eben nicht mehr gegen eine bestimmte Menge 10%iger Kochsalzlösung schützt, die Goldzahl des Kolloids. Wir weichen von dieser Benennung dort, wo nichts anderes vermerkt ist, insofern ab, als wir der Einfachheit halber die Schutzwirkung nicht in Milligramm, sondern in Kubikzentimeter registrieren.

Die Abstufungen des Farbüberganges von Rot in Blau sind in den Tabellen²⁾ in abgekürzter Form wiedergegeben, sodaß bei Mischfarben die überwiegende Nuance an zweiter Stelle steht. Es bedeutet:

R Rot	V Violett
1/vR Rot mit einem Schimmer ins Violett	BIV Blau Violett
VR Violett Rot	VBI Violett Blau
RV Rot Violett	Bl Blau.

Die Grenze der Schutzwirkung liegt bei V bis BIV.

1. Bestimmung der Goldzahlen normaler Urine.

Unter normalem Harn verstehen wir in diesem Zusammenhang helle Urine vom spezifischen Gewicht 1015—1018, die nicht nur frei von Stoffen sind, die klinische Bedeutung haben, sondern die insbesondere auch keine Urat- oder Phosphatseimente fallen lassen.

Normaler undialysierter Urin übt fast immer eine fällende Wirkung auf die Goldlösung aus. Ist diese Fällung keine vollständige, so kann man häufig eine Schutzwirkung konstatieren.

Aus einer großen Reihe von Versuchen diene folgender als Beispiel, der die höchste Goldzahl des undialysierten Urins wiedergibt.

¹⁾ Zur Erkenntnis der Kolloide, Jena 1905.

Zeitschr. für analyt. Chemie, Bd. XL, S. 697, 1901.

²⁾ S. Dissertation von R., Göttingen 1909.

Frisch entleerter Urin, hell, klar, sauer, spezifisches Gewicht 1015. 5 ccm Goldlösung.

Urin ccm	Vor Zusatz von 0,5 ccm einer 10%igen NaCl-Lösung	Nach.
2,0	RV	RV
1,0	RV	RV
0,5	RV	V

Die fällende Wirkung des Urins läßt sich durch Dialyse beseitigen, ist also sicher durch Elektrolyte bedingt. Da, wie Kontrollversuche ergaben, Zusatz von 1% Kochsalz auf die Goldzahl von Dextrin ohne Einfluß ist, so sind an der fällenden Wirkung des Urins, im Einklang mit der Hardyschen Fällungsregel, wohl hauptsächlich die mehrwertigen Ionen beteiligt. Der dialysierte Urin zeigt immer eine Schutzwirkung, die sehr häufig höher liegt, als die des undialysierten Urins.¹⁾

In 35 Versuchen zeigte sich die Schutzwirkung zwischen 1,5 und 0,25 ccm gelegen. Bei längerer Dialyse nimmt die Schutzkraft schnell ab. Mit schnell dialysierenden Membranen, vielleicht Schilfschläuchen, die uns damals leider noch unbekannt waren, würden sicherlich noch kleinere Goldzahlen zu erreichen sein.

Die Bestimmung der Goldzahl in Milligramm wurde 3 mal vorgenommen. Es wurden Werte von 0,695, 0,81, 0,74 mg festgestellt. Die Goldzahl ist also größer, als die von Gummi arabicum, aber kleiner als die von Tragant nach der Tabelle von Zsigmondy.

2. Darstellung der Schutzkolloide.

Die hydrophilen (reversiblen) Kolloide sind leicht adsorbierbar. Eine Form der Adsorption, nämlich die an der Ober-

¹⁾ Es wäre zu erwarten gewesen, daß in allen den Fällen, wo die schützende Quantität des Urins eine so kleine ist, daß ihre Elektrolyte keine fällende Wirkung mehr hat, die Goldzahl vor und nach dem Dialysieren die gleiche sein müsse. Da sich das aber nicht so verhält, so ist, was sich aus andern Beobachtungen ergab, zu schließen, daß ein Gehalt an Elektrolyten die Schutzwirkung von Kolloiden selbst dann ungünstig beeinflußt, wenn eine sichtbare Veränderung der Goldlösung nicht zu konstatieren ist.

fläche zweier nicht mischbarer Flüssigkeiten, ist von Winkelblech¹⁾ dazu benützt worden, Kolloide auch in ganz verdünnten Lösungen nachzuweisen. Wir haben diese Methode, die sich auch für den Urin zu einer quantitativen gestalten ließe, dazu verwandt, die Kolloide aus dem Urin zu isolieren. Schüttelt man Urin mit Benzin, so bildet sich ein dichter, sehr feinporiger und viele Tage lang beständiger Schaum, der nach dem Verdampfen des Benzins einen schmutziggrauen, in Wasser und verdünnter Natronlauge nicht völlig löslichen Rückstand gibt. Im Zustande der Emulsion sind die adsorbierten Stoffe völlig in Wasser löslich.

Die Untersuchung dieser eingeengten Waschflüssigkeit und der Lösung des getrockneten Benzinrückstandes ergibt, daß in das Benzin Schutzkolloide übergegangen sind. Wird der Versuch quantitativ geleitet, der Urin so lange mit Benzin geschüttelt, bis er keine Emulsion mehr gibt, der Rückstand auf das ursprüngliche Volumen des Urins gebracht und die Schutzwirkung festgestellt, so ergab sich bei 3 Versuchen die gleiche Goldzahl wie im entsprechenden dialysierten Urin, in einigen anderen eine geringere schützende Wirkung des Benzinrückstandes. Der Harn, der nach wiederholtem Schütteln mit Benzin keinen Schaum mehr gibt, ist auch nach dem Dialysieren frei von Schutzkolloiden. Es ist also prinzipiell festgestellt, daß man durch Behandeln mit Benzin dem Urin sämtliche Schutzkolloide entziehen kann.

In dem nach den Angaben von Salkowski²⁾ dargestellten alkoholunlöslichen Rückstand des Urins, der ein komplexes, stickstoffhaltiges Kohlenhydrat umfaßt, sind die Schutzstoffe quantitativ vorhanden. Die alkohollöslichen Portionen sind nach dem Dialysieren ohne jede schützende Wirkung und nicht mehr imstande, eine Benzinemulsion zu geben. Aus der Lösung der Alkoholfällung geht beim Schütteln mit Benzin die gesamte Schutzwirkung in dieses über.

¹⁾ Zeitschrift für angewandte Chemie, 1906; vgl. auch Ramsden, Arch. f. Anat. u. Phys., 1894, S. 517, und Plósz, Malys Jahresberichte, Bd. XX, S. 215.

²⁾ l. c.

3. Das Verhalten der Schutzkolloide gegen physikalische Eingriffe.

Die Kolloide sind beständig gegen Eintrocknen bei Zimmertemperatur und auf dem Wasserbade, gegen Kochen bei annähernd normaler Reaktion und gegen Ausfrieren. Beim Kochen in stark saurer oder alkalischer Lösung oder nach Behandlung mit Benzoylchlorid verliert der Urin die Fähigkeit, einen Benzinschaum zu geben.

4. Die chemische Natur der Schutzkolloide
versuchten wir zunächst durch Prüfung der wichtigsten organischen Stoffe auf Schutzwirkung zu ermitteln.

a) Bei Harnstoff, der nach Zsigmondy¹⁾ bei Siedehitze eine Goldzahl größer als 500 hat, konnten wir bei Zimmertemperatur eine Schutzwirkung nicht feststellen.

b) Bezüglich der Harnsäure findet sich insbesondere in den Arbeiten von His d. J. mehrfach der Hinweis, daß die Harnsäure und ihre Salze in kolloidaler Form auftreten können. Wir haben saures harnsaures Natrium, Harnsäure in Glycerin gelöst, und nach Nikolaier²⁾ dargestellte Diformaldehydharnsäure auf kolloidale Eigenschaften untersucht. Die Präparate gingen alle durch die dialysierende Membran und gaben keine Schutzwirkung. Auch eine Lösung von Harnsäure in Nucleinsäure und Urochrom (s. unten) ließ keine Beeinflussung der Goldlösung erkennen.

c) Urochrom dialysiert sowohl aus Urin wie aus seiner wässrigen Lösung durch alle Membranen, die wir angewandt haben. Die dialysierten Urine, die Schutzwirkung ausüben, sind fast farblos. Durch Schütteln mit Benzin wird der Urin nicht heller. Der eingedampfte Benzinschaum zeigt keine Harnfarbe. Wir haben das Urochrom nach dem Verfahren von Garrod dreimal dargestellt. Zwei Präparate gaben weder eine Schutzwirkung noch einen Benzinschaum. Das dritte zeigte beide Phänomene, enthielt also wohl noch eine Beimengung anderer kolloidaler Stoffe.

¹⁾ i. c., S. 67.

²⁾ Deutsch. Arch. f. klin. Med., Bd. LIX, 1906.

d) Eine von Bendix und Schittenhelm¹⁾ dargestellte sehr reine Thymonucleinsäure ergab eine Goldzahl von 2,5 mg. Chondroitinschwefelsäure haben wir noch nicht untersucht.

Der Benzinschaum ergab nach mehrmaligem Waschen mit destilliertem Wasser und Eintrocknen auf dem Wasserbade oder bei gewöhnlicher Temperatur einen grauen Rückstand, in dem sich N nachweisen läßt. Nach längerem Kochen mit verdünnten Mineralsäuren entsteht eine Lösung, die noch einen starken Uringeruch hat und die Furfurolreaktion gibt. Eine Reduktion von Fehlingscher Lösung war noch nicht zu erzielen, vermutlich der geringen Substanzmengen wegen, über die wir verfügten. Dagegen gelang es, ein Osazon herzustellen, allerdings auch noch nicht in einer Quantität, daß ein Umkrystallisieren zur Schmelzpunktbestimmung erfolgen konnte. Der Rückstand der Benzinemulsion fällt in essigsaurer Lösung eine Gelatinelösung.

Ergebnisse:

1. Der normale Urin des Menschen enthält Kolloide, die auf die Goldlösung Schutzwirkung ausüben.
2. Die Kolloide sind darstellbar durch Dialyse, durch Schütteln mit Benzin, durch Fällern mit Alkohol.
3. Die Schutzwirkung der Kolloide ist beständig gegen Ausfrieren, Kochen, Eintrocknen.
4. An der Schutzwirkung des Harns sind Harnstoff, Harnsäure, Urochrom nicht beteiligt.
5. Beteiligt sind dagegen die eiweißfällenden Substanzen des Urins und das komplexe N-haltige Kohlenhydrat Salkowskis.

¹⁾ Zentralbl. f. d. ges. Phys. u. Path. des Stoffwechsels, N. F., Bd. I, Nr. 2.
