

geführt. Zu dem Urin gibt man dann ein Zehntel seines Volumens (also 1,2 ccm) 20%iger Chlorcalciumlösung und bringt Mengen von 0,2—2 ccm zu je 5 ccm ungekochter guter Magermilch. Die Proben bringt man 1 Stunde lang in ein Wasserbad von 20°, dann 5 Minuten lang in ein solches von 40°. Der Enzym- oder Zymogengehalt des Harnes wird ermittelt, daß man die Probe mit der kleinsten Urinmenge aussucht, die gerade noch die zugesetzte Milch zum Gerinnen gebracht hat.

V. Lipase.

Zum Nachweise werden zu je 1 ccm Harn 2 ccm Milch, die mit einer 1%igen Sodalösung alkalisch gemacht und mit Lackmus blau gefärbt wird, hinzugefügt. Bei Brutwärme soll ein vorhandenes Lipaseferment aus der Milch Fettsäuren entwickeln, die Flüssigkeit soll rot gefärbt werden. (Rosenberg.)

H. Pribram und J. Loewy¹⁾ messen den Lipasegehalt des Harnes durch die spaltende Wirkung gegenüber einer neutralisierten Lösung von Monobutyryn.

VI. Proteolytische Zellfermente.

Solche können im Harn beim Vorhandensein und Zerfalle von Leukocyten auftreten, wobei die intrazellulären, proteolytischen Enzyme freigemacht werden, so bei Cystitis, Pyelitis, einzelnen Formen von Nierenkrankheiten, bei Menstruation.

Man bringt einen Tropfen Harn auf eine Löfflersche Blutserumplatte und beläßt sie 24—48 Stunden bei 50—60° im Brutschranke; beim Vorhandensein von Ferment bildet sich an der Stelle des Harntröpfens eine seichte Vertiefung.

Tyrosinasen nennt man, um dies noch zu erwähnen, Fermente, die Tyrosin, Phenylalanin, Homogentisinsäure, Adrenalin und noch andere Verbindungen in dunkelgefärbte Substanzen verwandeln; sie sind von den sog. Phenolasen, die Phenole unter Farbstoffbildung verändern, verschieden; beide sind echte Oxydasen und bewirken die gleichen chemischen Vorgänge, nur wirken sie auf verschiedene Substanzen verändernd ein.

Tyrosinase fand O. Gross²⁾ im Harn eines an Lebergeschwulst Leidenden.

Siehe: S. G. Hedin, Zeitschr. physiol. Chem. 1921. 112. 252. Über proteolytische Enzyme im normalen und pathologischen Harn. — Lotte Wolpe, Berl. klin. Wochenschr. 1921. 58. 110. Über Fermentausscheidung und Hypophysenwirkung bei Diabetes insipidus; es wurde zweimal Trypsin durch das Anreicherungsverfahren gewonnen.

42. Ehrlichsche³⁾ Diazoreaktion.

Aromatische Diazoverbindungen geben mit verschiedenen im Harn vorhandenen Substanzen schöne Farbenreaktionen, es bilden sich Farbstoffe; die Reaktion beruht darauf, daß gewisse im Harn (pathologischem?) vor-

¹⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1912. 76. 489.

²⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1919. 45. 488.

³⁾ Zeitschr. klin. Mediz. 1882. 5. 285; Deutsch. med. Wochenschr. 1883. 9. 549; 1884. 10. 419.

kommende Substanzen sich mit p-Diazobenzolsulfosäure kuppeln und die bekannte rote Färbung geben.

Über die Natur des diese Reaktion veranlassenden Körpers sind verschiedene Ansichten geäußert worden; im normalen Harn soll die Reaktion niemals positiv eintreten. Soviel ist wohl gewiß, daß diese Körper im Organismus nur aus dem Eiweiß stammen können; nach Sahli ist das Eintreten der Reaktion als ein Zeichen pathologischen Eiweißzerfalles aufzufassen. M. Weiß betrachtet sie als Maß des endogenen Gewebszerfalles. Engeland¹⁾ fand als Ursache die nächsten Oxydationsprodukte des Tyrosins, die p-Oxyphenylpropionsäure und die p-Oxyphenylelessigsäure. In der Hauptsache ist die Färbung durch Körper bedingt, die sich durch den Besitz des Imidazolkernes auszeichnen (Aminoimidazolpropionsäure [Histidin]). Nach Hermanns und P. Sachs²⁾ ist der Farbstoff wahrscheinlich die Azoverbindung einer Oxyindolelessigsäure und diese ein Abbauprodukt des Tryptophans. Nach den Forschungsergebnissen von Bondzynski, Dombrowski und Panek gibt die Antoxyproteinsäure (S. 242) in ausgesprochenem Maße diese Reaktion. M. Weiß³⁾ fand als die Ursache der Reaktion auch eine in ihren Fällungsreaktionen mit den Proteinsäuren übereinstimmende Substanz, das Urochromogen.

Man wird nach dem gegenwärtigen Stande unserer Kenntnisse in dem Auftreten der eben erwähnten Stoffe die Ursache für die Diazoreaktion des Harnes zu suchen haben, zumal die Antoxyproteinsäure und das mit den Proteinsäuren jedenfalls verwandte Urochromogen in vermehrter Menge bei den Zuständen vorkommen, bei welchen die Diazoreaktion eintritt.

Nach den Untersuchungen von Ehrlich, die von vielen Seiten ihre Bestätigung gefunden haben, findet man eine ausgesprochene positive Reaktion bei verschiedenen fieberhaften Erkrankungen, während sie bei chronischen Krankheiten ohne Fieber nur ausnahmsweise vorkommen soll; erstere hat Ehrlich nach ihrem Verhalten gegenüber der Reaktion in 3 Gruppen eingeteilt:

1. Bei Gelenkrheumatismus, Meningitis, Rubeola und Varicellen fehlt sie fast regelmäßig;
2. häufiger, je nach der Schwere der Krankheit, fällt sie positiv aus bei Pneumonie, Scharlach, Diphtherie und Erysipel;
3. regelmäßig positiv fällt sie aus bei Typhus abdominalis und exanthemicus, Masern⁴⁾ und in den letzten Stadien von Phthisis.

Die Reaktion findet sich auch im Beginne der Trichinose, wo sie besonders intensiv eintreten soll.

Mit der Reaktion, mit ihrer Ausführung und mit ihrem Werte hat sich eine selten umfangreiche Literatur beschäftigt.⁵⁾

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1908. 55. 1643.

²⁾ Zeitschr. physiol. Chem. 1921. 114. 79. 81; 1922. 122. 98.

³⁾ Biochem. Zeitschr. 1911. 30. 334; 1922. 133. 331; 134. 269.

⁴⁾ G. Hunter, Brit. Medic. Journ. 1922. II. 751; Chem. Centralbl. 1923. 94. I. 142.

⁵⁾ E. Huber, Die Ehrlichsche Diazoreaktion. Dissertation. Bern 1910.

Erforderliche Lösungen.

1. Diazoreagens: 0,5 g Sulfanilsäure (p-Aminobenzolsulfosäure), 5,0 g 25%iger Salzsäure, 100 ccm Wasser.
2. 1/2%ige Natriumnitritlösung.

Die Reagenzien müssen ganz rein und unzersetzt sein. Aus 1 und 2 entsteht die Diazobenzolsulfosäure $\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{OH}$. Das gemischte Reagens (aus 1 und 2) hält sich nicht, man verfährt deshalb wie nachstehend angegeben.

Ausführung.

10 ccm des möglichst frischen Harnes werden mit 10 ccm des Diazoreagens versetzt, 2 Tropfen der Natriumnitritlösung hinzugegeben und gut durchgeschüttelt. — Hierbei kann es zu der „primären Farbenreaktion“ kommen; es kann eine dunkle (violette) Färbung oder eine Gelbfärbung des Harnes entstehen; die Dunkelfärbung soll durch Gallenfarbstoffe (Bilirubin), die Gelbfärbung durch die Gegenwart von Urobilinogen bzw. Urobilin bedingt sein. — Man läßt nun rasch einige (2) Kubikzentimeter einer 10%igen Ammoniaklösung (auf einmal, in einem Schusse) zufließen; es entsteht im positiven Falle die „sekundäre“ Farbenreaktion, eine rosa- oder lebhaft karminscharlachrote Färbung der Flüssigkeit, beim Schütteln eine charakteristische Rotfärbung des Schaumes. Eine gelbe bis kaffeebraune Farbenänderung, wie sie jeder Harn gibt, ist nicht als positive Diazoreaktion aufzufassen. Ist man im Zweifel, ob die Reaktion positiv ausgefallen ist, so läßt man den Harn stehen, es bildet sich in positiven Fällen nach 24 Stunden ein Niederschlag, dessen oberer Teil blau, grün oder schwarz gefärbt ist.

Zur raschen Ausführung der Reaktion werden von Ranke¹⁾ graduierte Reagenzgläschen, Diazoröhrchen, empfohlen.

M. Weiß (a. a. O.) empfiehlt, zum Alkalisieren 20%ige Natriumhydroxylösung und Diazobenzolsulfosäure in doppelt so starker Konzentration, als von Ehrlich vorgeschrieben, anzuwenden. Die störende Färbungen gebenden Farbstoffe Urobilinogen, Bilirubin entfernt man durch Aussalzen mit Ammoniumsulfat.

Beurteilung.

Es sind noch andere Ausführungen der Diazoreaktion empfohlen, die aber keinerlei Vorteile bieten. Schon von Beck, Friedenwald wurde an Stelle der Sulfanilsäure in gleicher Menge das Paraamidoacetophenon empfohlen. Welwart gibt neuerdings diese Abänderung an. In dem teureren Reagens konnten Vorteile nicht gesehen werden.

Opium, Morphin, Chrysarobin, Naphthalin, Heroin und Dionin, Atophan, Salvarsan sollen die Diazoreaktion veranlassen, Harn nach dem Einnehmen von gerbsäurehaltigen Arzneimitteln, auch von Wein, Harn nach dem Gebrauche von Phenol und dessen Derivaten, von Kresol, Kreosot, Guajacol, Salol soll die Reaktion nicht mehr geben.

Diese Tatsache hat man bei der Vornahme der Probe zu berücksichtigen, um so mehr als bei Typhus, Phthise solche Medikamente gegeben werden. Nach Ansicht anderer Forscher sollen Medikamente, außer Tuberkulin keinen Einfluß haben.

Die als Ersatz der Ehrlich'schen Diazoreaktion empfohlene Methylenblau-(Methylen-grün)-reaktion nach Russo bei Typhus abdominalis soll ohne klinischen Wert sein; nach R. Dunger,²⁾ L. F. Dmitrenko,³⁾ Sighart, M. Rhein, A. Skutetzky u. M. Klaffen u. a. hängt der positive oder negative Ausfall dieser Reaktion, wie auch ähnlicher (Kronberger, Wiener) ausschließlich von der größeren oder geringeren Färbekraft des Harnes ab. Es handelt sich nicht um eine Reaktion im chemischen Sinne, sondern um die Entstehung der Komplementär-

¹⁾ Zu haben bei P. Altmann, Berlin NW. 6, Luisenstraße 47.

²⁾ Deutsch. med. Wochenschr. 1906. 32. 1580.

³⁾ Mediz. Woch. 1906. 7. 481.

farbe aus Blau und Gelb, die Reaktion ist also nur ein Indikator für eine bestimmte Gelbfärbung des Urins. Fieberharne sind häufig konzentriert und reicher an Farbstoff, deswegen findet sich auch bei ihnen die Methylengrünreaktion. A. Klier hält sie für eine Gallenfarbstoffreaktion. Es werden 4 ccm Harn mit 4 Tropfen Methylenblaulösung (1:1000) versetzt; im positiven Falle soll eine smaragdgrüne Färbung eintreten.

Die Urochromogenreaktion von Weiß.

Siehe bei Urochrom S. 479.

Diese Reaktion tritt in Fällen ein, wo auch die Diazoreaktion positiv verläuft. Über die Beziehungen der Reaktionen ist Näheres an angegebener Stelle ausgeführt.

Den mit der doppelten Menge Wasser verdünnten Harn bringt man in 2 Reagenzgläser, die man bis zur Hälfte füllt; zu dem Inhalte in einem Glase fügt man 3 Tropfen einer 1‰ Kaliumpermanganatlösung. Bei positivem Ausfalle der Probe tritt eine Zunahme der gelben Farbe ein; die Intensität der Reaktion soll der Stärke der Diazoreaktion proportional sein.

Störend wirkt die Anwesenheit von Urobilin und Bilirubin, die man, wie schon angegeben, in der Weise beseitigt, daß man bei intensiv gefärbten Harnen 20 ccm davon mit 16 g Ammoniumsulfat versetzt, umrührt und etwa $\frac{1}{2}$ Stunde stehen läßt. Die störenden Farbstoffe werden dadurch ausgefällt und abfiltriert. Das Filtrat dient zum Anstellen der Reaktion.

E. Klasten¹⁾ läßt die Permanganatprobe im nativ sauren und im angesäuerten Harne vornehmen; bei Gegenwart von Urochromogen tritt Gelbfärbung im ersten, nicht aber im zweiten Falle ein.

43. Die Cammidge'sche Reaktion.²⁾

Die Reaktion von Cammidge, mit deren Hilfe es in manchen Fällen möglich sein soll, akute Erkrankungen des Pankreas feststellen zu können, besteht im wesentlichen darin, daß normale Harne, die nicht unmittelbar mit Phenylhydrazin reagieren, wie die Monosaccharide (auch Disaccharide), diese Reaktion, also ein Osazon, geben, sobald sie vorher mit Säure gekocht worden sind. Augenscheinlich enthalten solche Harne eine kompliziert zusammengesetzte Verbindung, die beim Kochen mit Säuren gespalten wird, wobei ein Körper entsteht, der mit Phenylhydrazin den bekannten Niederschlag, hellgelbe haarfeine Nadeln, teilweise in Büscheln, Drusen angeordnet, liefert. Solche Verbindungen könnten sein Polysaccharide, Glykoside, gepaarte Glykuronsäuren usw. Cammidge nimmt als Muttersubstanz ein kompliziert gebautes Kohlenhydrat an; einen eindeutigen Beweis hiefür erbringt er aber nicht; der Natur nach sollen die Krystalle aus Verbindungen der Glykuronsäure mit dem Osazone eines pentoseartigen Zuckers bestehen. P. J. Cammidge vermutet auch, daß es sich um eine nicht gärfähige Pentose handeln könnte; die Pentosen könnten aus dem Nucleoprotein der Pankreasdrüse übergegangen sein. Die angegebenen Krystalle lösen sich, als besonderes Kennzeichen der Verbindung, in 33%iger Schwefelsäure.

¹⁾ Med. Klinik 1920. 16. 832.

²⁾ Lancet 1904. I. 329, 782; 1905. II. 14; Brit. Med. Journ. 1904. I. 776; 1906. 594. 622. 1150; Med. chir. Transact. 1906. 89. 239.