Über das Verhalten der Purinkörper im Blut II.

Von

E. Schiller und K. Wiener.

(Aus der medizinischen Universitätsklinik zu Königsberg i. Pr. [Direktor: Prof. Dr. A. Schittenhelm].)

(Eingegangen am 28. März 1914.)

Als erster hat wohl Baß¹⁾ Mitteilungen über das Vorkommen von Purinbasen im normalen Blut und quantitative Angaben darüber gemacht. Er fand, daß das Gesamtblut etwa 6—10 mg Basenstickstoff auf 100 g Blut enthielt. Im Plasma eines urämischen Kranken fand er 2,6 mg. Während von diesem Autor die Gesamtmenge des Purinbasenstickstoffes ermittelt wurde, bestimmte Ehrmann²⁾ — wie schon Baß³⁾ bemerkte — nur die Menge der freien Purinbasen. Das gleiche war bei den Bestimmungen der Fall, die von uns⁴⁾ mit der Methode von Schittenhelm angestellt worden waren.

Da es uns notwendig schien, sowohl die freien als die gebundenen Purinkörper quantitativ bestimmen zu können, war von uns zu diesem Behuf eine Methode (l. c.) ausgearbeitet worden. Wir haben auch nicht, wie Baß und Ehrmann Harnsäure und Purinbasen in einer Portion bestimmt, sondern haben es vorgezogen, in getrennten Portionen die Menge der Harnsäure und der gesamten Purinkörper zu ermitteln.

In nachstehender Tabelle geben wir die Resultate bei einer Reihe von normalen Fällen zugleich mit dem Ergebnis der Bestimmung der Harnsäure nach Folin. Die Werte beziehen sich auf Milligramm in 100 ccm Blut.

Nr.	$\bar{U}$	$\bar{U} N$	Freier Gesamt- purin N	Gebunden. Purin N
1	—	—	2,56	5,28
2	1,17	0,39	1,58	4,16
3	1,6	0,53	0,82	2,62
4	2,2	0,73	1,6	3,6
5	1,4	0,47	1,34	—
6	1,2	0,4	0,9	0,9

Aus diesen Bestimmungen geht hervor, daß die Harnsäure nur etwa ein Viertel bis die Hälfte der im menschlichen Blut vorhandenen freien Purinkörper ausmacht. Die Menge der freien Purinkörper schwankt zwischen 0,82 und 2,6 mg N. Diese Werte stimmen mit denen, die wir nach der Methode von Schittenhelm (l. c.)

erhielten, gut überein. Die Harnsäurewerte liegen zwischen 1,2 mg und 2,2 mg in 100 ccm Blut. Sie stimmen mit den von Folin für das normale, menschliche Blut angegebenen überein. Die Menge der gebundenen Purinkörper schwankt ziemlich stark zwischen 0,9 und 5,28 mg N in 100 ccm.

In einer Reihe von pathologischen Fällen wurden folgende Resultate erhalten:

Nr.	Krankheit	$\bar{U}$	$\bar{U} \text{ N}$	Freier Gesamt- purin N	Gebunden. Purin N
1	Urämie	—	—	2,7	11,3
2	Nephritis . . .	3,17	1,09	2,99	3,94
3	Nephritis . . .	2,0	0,7	—	0,8
4	Gicht	5,0	1,7	—	1,36
5	Gicht	7,5	2,5	5,4	3,7
6	Arthrit. chron. (Gicht?) . .	4,2	1,4	2,5	4,9

Die Harnsäurewerte stimmen auch in diesen Fällen mit den von Folin angegebenen überein. Bei Nephritis findet sich eine mäßige Erhöhung der Harnsäure auf ca. das Doppelte des normalen Wertes. Bei den Gichtfällen zeigt sich eine Vermehrung der Harnsäure auf das 4—5fache. Die Menge der freien Purinbasen ist bei der Gicht offenbar vermehrt. Die Menge der gebundenen Purinbasen liegt innerhalb der normalen Grenzen. Bei der Nephritis scheint der Purinbasengehalt des Blutes keine Änderung zu erfahren, wenn keine urämischen Erscheinungen bestehen. Bei dieser tritt dann allerdings eine erhebliche Steigerung insbesondere der gebundenen Purinbasen ein (vgl. auch die in der I. Mitteilung gebrachte Zusammenstellung). Eine größere Reihe von Bestimmungen wird noch nötig sein um die hier angeschnittenen Fragen endgültig zu lösen.

Baß (l. c.) gibt nun an, daß er im menschlichen Blut nur Adenin habe finden können. Da uns dieser Befund sehr bemerkenswert schien, haben wir ihn nachgeprüft. Zu diesem Zwecke wurden folgende Versuche angestellt.

Aus 4150 ccm Blut, das von normalen, purinfrei ernährten Menschen gewonnen wurde, wurden die Silbersalze der freien Purinkörper nach der Vorschrift von Folin dargestellt. Diese wurden bei salzsaurer Reaktion mit Schwefelwasserstoff zersetzt und zur weiteren Reinigung noch einmal in das Silbersalz übergeführt. Daraus konnten 20 mg reine, schneeweiße Harnsäure isoliert werden, die die typische Murexidreaktion gab. Weitere Purinkörper wurden in dieser Fraktion nicht gefunden. Welche Purinkörper neben der Harnsäure frei im Blut vorkommen, konnte also nicht festgestellt werden.

Das Filtrat hiervon wurde mit Salzsäure neutralisiert, mit 3% Salzsäure versetzt und fünf Stunden am Rückflußkühler gekocht. Hieraus wurden die Purinbasen als Silbersalze ausgefällt. Aus diesen wurde 0,18 Adenin pikrat isoliert, das nach Umkrystallisieren einen Smp. von 275° zeigte. Weitere Purinkörper, insbesondere Harnsäure konnten in dieser Fraktion nicht gefunden werden. Wir sind somit zu dem gleichen Resultat wie Baß (l. c.) gekommen. Auf das Fehlen von Harnsäure in dieser Fraktion möchten wir ganz besonders hinweisen gegenüber der Ansicht von Dohrn, daß die Harnsäure in gebundenem Zustande im menschlichen Blut kreise.

Einen ähnlichen Befund konnten wir bei Schweineblut erheben:

Aus 5650 ccm defibriertem Schweineblut konnten nach dem gleichem Verfahren 0,04 g Adenin pikrat mit einem Smp. von 274° isoliert werden, das in gebundenem Zustande vorhanden war. Harnsäure und andere Purinbasen konnten nicht isoliert werden.

An welchen Komplex das Adenin im Blut gebunden ist, konnten wir nicht mit Sicherheit feststellen. Wir können nur sagen, daß es sich um einen verhältnismäßig langsam dialysierenden Körper handelt, wie aus folgenden Versuchen hervorgeht:

1. 378 ccm normales menschliches Blut wurde nach Folin enteiweißt, stark eingengt und unter Zusatz von Chloroform und Toluol so lange gegen destilliertes Wasser dialysiert, bis im Dialysat die Chlorreaktion verschwunden war. Im Dialysat wurden 1,0 mg und im Inhalt des Dialysierschlauches 2,4 mg gebundener Purinstickstoff gefunden.

2. 260 ccm normales menschliches Blut wurden analog verarbeitet. Im Dialysat wurden 2,9 mg und im Inhalt des Dialysierschlauches 3,6 mg gebundener Purinstickstoff gefunden.

Es ist wohl das Wahrscheinlichste, wie es schon Baß angenommen hat, daß das Adenin sich in einer nucleotidartigen Bindung befindet.

Baß hielt es zunächst nicht für sehr wahrscheinlich, daß die zelligen Elemente als ausschließliche Quelle für diese Körper in Betracht kämen, wiewohl sie erheblichen Anteil hätten. Später (l. c.) spricht er die Vermutung aus, daß sie von den roten Blutkörperchen herstammten. Wir haben zur Entscheidung dieser Frage eine Reihe von Versuchen angestellt.

Zunächst wurden in je 100 ccm Blut eines normalen Menschen die Mengen der freien und gebundenen Purinkörper bestimmt und es wurden 0,82, bzw. 2,62 mg N gefunden (s. Nr. 3 der Tabelle). Dann wurden aus 100 ccm desselben Blutes 45 ccm Serum gewonnen; in diesem wurden 1,0 mg freie und 1,08 mg gebundener Purinstickstoff gefunden.

Aus diesem Versuch geht hervor, daß weniger als die Hälfte

des gebundenen Purinstickstoffes im Serum gefunden werden konnte, daß dagegen die freien Purinkörper vollständig ins Serum übergehen.

250 ccm defibriniertes Rinderblut wurden nach Folin enteiweißt und die eingeeengte Flüssigkeit 5 Stunden mit 3proz. Salzsäure hydrolysiert; es wurden 6,2 mg Purinstickstoff gefunden. Dann wurde aus dem gleichen Blut durch Zentrifugieren 120 ccm Serum gewonnen. In diesem wurde mit der gleichen Methodik nur 1,0 mg Purinstickstoff nachgewiesen, während in 80 m des Zentrifugats 3,8 mg Purinstickstoff gefunden wurden.

Aus diesen Versuchen geht mit Sicherheit hervor, daß die Hauptmenge des gefundenen Purinstickstoffes aus den geformten Bestandteilen des Blutes stammt, und zwar ist es wahrscheinlich, daß er in ihnen nur in sehr lose gebundenen Zustände sich findet, da er bereits durch Kochen mit $\frac{1}{100}$ n-Essigsäure in Lösung gebracht wird. Es scheint uns hier eine gewisse Analogie mit dem Vorkommen der Inosinsäure in der Muskulatur vorzuliegen, die bereits durch Auslaugen mit kaltem Wasser extrahiert werden kann.

Am merkwürdigsten scheint es uns zu sein, daß es gerade das Adenin ist, das in so verhältnismäßig großen Mengen im Blut vorkommt, während es doch z. B. unter den Purinbasen des Urins nur einen verhältnismäßig kleinen Teil ausmacht. Es wäre interessant, zu untersuchen, ob das Adenin unter den gebundenen Purinkörpern des Urins in größeren Mengen vorkommt. Es scheint uns eine Erklärung dieses merkwürdigen Vorkommens darin zu liegen, daß es einen höher molekularen Adeninkomplex gibt, der für Fermente schwer angreifbar ist. Bei Versuchen, die von Schittenhelm und dem einen von uns (Wiener⁵)) angestellt wurden, zeigte sich, daß beim Abbau von Thymonucleinsäure durch Rindermilzferment im Dialysierbeutel unter den adialysablen mit Bleiacetat fällbaren Purinkomplexen nur Adenin in größeren Mengen sich fand. Bei diesem Versuch zeigte es sich also, daß der einzige Körper, der von dem sehr aktiven Milzferment nicht gespalten werden konnte, ein Adeninkomplex war. Zur weiteren Klärung dieser Frage haben wir noch folgenden Versuch angestellt:

300 ccm eines frischen Pneumokokken - Empyemeiters wurden mit reichlich Toluol und Chloroform versetzt und 7 Tage im Brutschrank stehen gelassen. Die Flüssigkeit wurde dann auf ca. 1 l verdünnt nach Essigsäurezusatz koaguliert und auf 300 ccm eingeeengt. In der einen Hälfte wurden die freien Purinbasen mit Silbernitrat, Magnesiamixtur und Ammoniak ausgefällt. Hieraus konnten 0,04 g Xanthin und 0,01 g Adeninpikrat isoliert werden. Im ganzen waren also 0,08 g Xanthin und 0,02 g Adeninpikrat vorhanden. Harnsäure, Guanin und Hypoxanthin konnten nicht festgestellt werden.

Das Filtrat hiervon wurde mit Salzsäure schwach angesäuert und in der Siedehitze mit Schwefelwasserstoff vom Silber befreit. Die H_2S freie Lösung gab folgende Reaktionen:

Mit Silbernitrat und Ammoniak trat keine Fällung ein, dagegen entstand bei längerem Kochen mit Kupfersulfat und Natriumbisulfid in essigsaurer Lösung ein flockiger, weißer, dann braun werdender Niederschlag. Es waren also gebundene Purinbasen vorhanden. Echte Nucleinsäure war jedoch nicht vorhanden, da mit Kupfersulfat und Bleiacetat in essigsaurer Lösung kein Niederschlag entstand. Dagegen entstand mit Bleiacetat und Ammoniak ein reichlicher Niederschlag. Es scheinen demnach die gebundenen Purinbasen in nucleotid- oder nucleosidartiger Bindung vorhanden gewesen sein. Diese Flüssigkeit wurde 5 Stunden mit 3% Salzsäure am Rückflußkühler gekocht; aus dem Silberniederschlag wurden 0,01 g Xanthin, 0,03 g Magnesiumammonphosphat und 0,03 g Adeninpicrat isoliert. Im ganzen waren also 0,02 g Xanthin und 0,06 g Adeninpicrat vorhanden. Harnsäure, Guanin und Hypoxanthin fehlten auch hier.

Die andere Hälfte der entweißten Flüssigkeit wurde stark eingengt und bis zum Verschwinden der Chlorreaktion in der Außenflüssigkeit dialysiert. Es wurden — für die ganze Menge berechnet — folgende Mengen Purinstickstoff gefunden: im Dialysat 24,6 mg freier und 5,6 mg gebundener Purinstickstoff, im Inhalt des Dialysierschlauches 2,4 mg gebundener Purinstickstoff. Es handelt sich also auch hier um langsam dialysierende Körper, die zum größeren Teil Adenin in ihrem Molekül enthalten.

Daß unter pathologischen Bedingungen auch noch andere Purinbasen im Blut vorkommen, ist schon seit längerer Zeit bekannt. Es ist insbesondere von Jaksch nachgewiesen worden, daß bei Pneumonie, Nephritis und Anämien neben der Harnsäure Hypoxanthin vorkommt. Diese Befunde wären mit den neueren, verfeinerten Methoden nachzuprüfen.

Eine weitere Aufgabe, die von uns mit Hilfe unserer Methodik in Angriff genommen wird, ist es nachzuweisen, in welcher Form die Purinkörper vom Magendarmkanal resorbiert in der Blutbahn erscheinen und von der Leber und den übrigen Organen aufgenommen werden.

Literaturverzeichnis.

1. Baß, R., Kongr. f. innere Med. 1913.
2. Ehrmann und Wolff, Münch. med. Wochenschr. **61**. 1913.
3. Baß, R., Münch. med. Wochenschr. **60**. 1913.
4. Schiller, E., und K. Wiener, Diese Zeitschrift **3**, 6.
5. Schittenhelm A., und K. Wiener, Diese Zeitschrift **3**, 6.