

**EISEN, KUPFER UND EIWEISS
AM BEISPIEL DER
LEBERKRANKHEITEN**

**MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
HAEMOCHROMATOSE UND DER
HEPATOCEREBRALEN DEGENERATION**

VON

PRIV.-DOZ. DR. J. LANGE

BONN

**MIT EINEM GELEITWORT VON
PROF. DR. PAUL MARTINI, BONN**

MIT 30, TEILS MEHRFARBIGEN ABBILDUNGEN



GEORG THIEME VERLAG · STUTTGART

EISEN, KUPFER UND EIWEISS AM BEISPIEL DER LEBERKRANKHEITEN

MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER
HAEMOCHROMATOSE UND DER
HEPATOCEREBRALEN DEGENERATION

VON

PRIV.-DOZ. DR. J. LANGE

BONN

MIT EINEM GELEITWORT VON
PROF. DR. PAUL MARTINI, BONN

MIT 30, TEILS MEHRFARBIGEN ABBILDUNGEN



19

58

GEORG THIEME VERLAG · STUTTGART

Alle Rechte, insbesondere das der Übersetzung in fremde Sprachen, vorbehalten

© Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1958

Printed in Germany. Satz und Druck: D. Lauk, Altensteig

Gedruckt mit Unterstützung des Bundesministeriums des Innern, Bonn

MEINEN LEHRERN

HERRN PROFESSOR DR. PAUL MARTINI

BONN

UND

HERRN PROFESSOR DR. HANS-HEINRICH BERG

HAMBURG

IN DANKBARER VEREHRUNG

ZUGEEIGNET

GELEITWORT

Der gesunde Organismus läßt uns seine Morphologie in vielem erkennen, aber in die vorgezeichneten und gleichmäßigen Bahnen seiner physiologischen Abläufe erlaubt er uns wenig Einblicke. Um über sie etwas zu erfahren, bedarf es des willkürlichen Eingriffs im Experiment; dieses aber ist beim Menschen nur ausnahmsweise und unter ganz besonderen Bedingungen gestattet. Dafür schafft uns beim Menschen die unwillkürliche und für den Betroffenen unwillkommene Krankheit die Gelegenheit zu Erkenntnissen, die wir sonst auf keine Weise gewinnen könnten. Erst von ihnen aus führen die weiteren rationalen Wege zu Einsichten in die Möglichkeiten, der Krankheit Einhalt zu gebieten oder sie rückläufig zu gestalten.

Das Wesen eines pathologischen Geschehens, z. B. im Stoffwechsel, kommt bei einer einzelnen Krankheit meist nur von einer Seite aus gesehen zum Ausdruck. Bei Betrachtung mehrerer Erkrankungen, die das gleiche Organ oder Organsystem betreffen, spiegelt es sich von verschiedenen Seiten aus wider und erlaubt so oft vielfältigere und vertiefere Einblicke.

Aus solchen Gedankengängen heraus hat *J. Lange* einerseits die Haemochromatose, andererseits die hepatocerebrale Degeneration benutzt, um mit ihrer Hilfe die Beziehungen von Eisen und Kupfer zum Eiweißstoffwechsel der Leber einer weiteren Klärung zuzuführen. Den beiden ist gemeinsam, daß sie sehr komplexe Krankheitsbilder formen, an denen beide Male die Leber einen besonders großen Anteil nimmt. *Lange* hat dabei neue und wichtige Erkenntnisse über die Probleme der Speicherkrankheiten der Leber gewonnen. Darüber hinaus demonstriert er in seiner Monographie aber auch in überzeugender Weise, wie zugleich mit und aus der Klärung pathologischer Abläufe wertvolle therapeutische Fortschritte gesichert werden können.

PAUL MARTINI

VORWORT

In der vorliegenden Monographie finden Untersuchungen ihren Niederschlag, die vor mehreren Jahren gemeinsam mit *K. H. Butzengeiger* an der Medizinischen Universitätsklinik Bonn über das Verhalten des Serumeisens und -kupfers bei den mit Gelbsucht einhergehenden Leber-Gallenwegskrankheiten begonnen wurden. Diese Studien konnten später durch Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft fortgeführt und erweitert werden.

Aus der Fülle der Probleme, die sich dem am Eisen- und Kupferstoffwechsel interessierten Kliniker stellen, habe ich mich auf die Beziehungen der beiden Schwermetalle zum Eiweiß beschränkt und sie am Beispiel der Leberkrankheiten zu erläutern versucht. Abgesehen von der klinischen Bedeutung dieser Fragen glaube ich, daß sich an diesem Teilsektor das, was wir heute vom Ablauf des Eisen- und Kupferstoffwechsels unter normalen und krankhaften Bedingungen wissen, recht gut zusammenfassen läßt. Seit den beiden grundlegenden Monographien von *Heilmeyer* und seiner Schule über das „Eisen und Kupfer als körpereigene Wirkstoffe“ sind rund 20 Jahre vergangen. Die seitdem erzielten Fortschritte sind erheblich und in zahlreichen Einzelarbeiten, zum Teil aber auch in umfassenderen Darstellungen publiziert worden. Letztere sind allerdings fast ausschließlich Bestandteil großer Werke und daher nur für einen relativ begrenzten Leserkreis zugänglich. Da die den Eisen- und Kupferstoffwechsel betreffenden Fragen aber doch von allgemeinerer Bedeutung sind, als es auf den ersten Blick scheinen mag, glaubte ich mich zu einer gesonderten Darstellung der eigenen Untersuchungsergebnisse berechtigt. Klinische Belange habe ich dabei bewußt in den Vordergrund gestellt und sie zum Ausgangspunkt der Betrachtungen gemacht.

Neben meinen klinischen Lehrern möchte ich meinen Bonner Kollegen, insbesondere Herrn Priv. Doz. Dr. *H. Broider*, Herrn Dr. *B. Endler*, Herrn Priv. Doz. Dr. *P. Gedigh* und Herrn Dr. *G. Oberhoffer* für ihre Mithilfe und anregenden Diskussionen danken. Mein Dank gilt weiterhin Herrn Prof. Dr. *H. Hamperl*, Bonn, für die Überlassung von Sektionsprotokollen und Herrn Dr. *Eikermann*, Köln, für die Herstellung von Versuchspräparaten. Bei der technischen Durchführung meiner Untersuchungen unterstützten mich in dankenswerter Weise vor allem *Jutta Gräfin Schwerin-Krosigk* und Fräulein *Gerda Seché*.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft habe ich für wiederholte Sachbeihilfen und Herrn Dr. med. h. c. *B. Hauff* für die Drucklegung und Ausstattung des Buches zu danken.

Bonn, September 1957

J. LANGE

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
Geleitwort	V
Vorwort	VI
<i>I. Einleitung</i>	1
<i>II. Der normale Eisenstoffwechsel und seine Beziehungen zum Eiweiß</i>	2
A. Charakteristica der Eisen-Eiweißverbindungen	2
1. Haemosiderin bzw. Siderin	2
2. Ferritin	3
3. Transferrin bzw. Siderophilin	3
B. Die Bedeutung der Eisen-Eiweißverbindungen für den Eisenstoffwechsel	5
1. Eisenresorption	6
2. Eisentransport	7
3. Eisendepots	8
4. Eisenausscheidung	9
<i>III. Der normale Kupferstoffwechsel und seine Beziehungen zum Eiweiß</i>	14
A. Kupferresorption	14
B. Kupferdepots	15
C. Kupferausscheidung	15
D. Serumkupfer	17
<i>IV. Serumeisen, -kupfer und -eiweiß bei den Leber- und Gallenwegskrankheiten</i>	19
A. Akute Krankheiten der Leber und Gallenwege	19
1. Serumeisen und Eisenbindungskapazität bei Hepatitis epidemica	19
2. Serumeisen und Eisenbindungskapazität bei Verschlußikterus	21
3. Serumkupfer bei Hepatitis und Verschlußikterus	22
B. Chronische Leberparenchymkrankheiten	23
1. Serumeisen und Eisenbindungskapazität	24
2. Serumkupfer	25
C. Urineisen und -kupfer bei Leber- und Gallenwegskrankheiten	26
D. Zusammenfassung	26
<i>V. Die Haemochromatose in ihren Beziehungen zum Eisen- und Eiweißstoffwechsel</i>	28
A. Geschichtliches und Begriffsbestimmung	28
B. Ätiologie und Pathogenese	29
1. Pathophysiologie des Eisenstoffwechsels	29
2. Genese der Organveränderungen	31
3. Familiäre Disposition	33
C. Klinik	35
1. Klinische Symptomatologie	35
2. Serumeisen und Eisenbindungskapazität	37
3. Laparoskopie und Leberbiopsie	39
4. Bluteiweißreaktionen	42

	Seite
D. Therapie	43
1. Aderlaßbehandlung	43
a) Allgemeine klinische Symptomatologie	46
b) Diabetische Stoffwechsellage	46
c) Haematologische Befunde	46
d) Leberbiopsie	47
2. Eisentzug durch Vermehrung der Urineisenausscheidung	50
3. Verminderung der enteralen Eisenresorption	51
E. Zusammenfassung	51
<i>VI. Die Hepatocerebrale Degeneration (Westphal-Strümpell-Wilson) als Eiweiß- und Kupferstoffwechselstörung</i>	<i>53</i>
A. Geschichtliches und Begriffsbestimmung	53
B. Klinik	53
1. Klinische Symptomatologie	53
2. Die funktionelle Leberstörung, Bluteiweißreaktionen	54
C. Genetik	55
D. Biochemie	56
1. Kupferresorption und -ausscheidung	57
2. Serumkupfer	58
3. Aminoacidurie	60
E. Pathogenese	61
F. Therapie	63
1. Verminderung der Kupferresorption	63
2. Verstärkung der Kupferausscheidung	63
a) 2,3 - Dimerkaprol (BAL)	63
b) β,β - Dimethylcystein (Penicillamin)	67
c) Aethylendiamintetraessigsäure (ADTE)	69
d) Eiweißzufuhr	69
e) Cortison, Prednison, ACTH	70
3. Coeruloplasmin-Substitution	70
G. Zusammenfassung	71
<i>VII. Schluß</i>	<i>73</i>
Literatur	74
Stichwörterverzeichnis	88

I. Einleitung

Obschon die Schwermetalle Eisen und Kupfer im menschlichen und tierischen Organismus nur in relativ geringen Mengen vorkommen, haben sie doch eine tiefgreifende Bedeutung für den Ablauf der Lebensvorgänge.

So führt ein *Mangel an Eisen* zu schweren Störungen der Erythropoese, während eine krankhafte *Eisenspeicherung* bei der Haemochromatose zu beobachten ist. Der *intermediäre Eisenstoffwechsel* ist im Infekt, im Eiweißmangel und bei vielen anderen pathologischen Zuständen gestört.

Weniger wissen wir über den krankhaften Kupferstoffwechsel. Im Gegensatz zum Tierreich ist eine *Kupfermangelkrankheit* beim Menschen nicht bekannt. Trotzdem ist anzunehmen, daß Kupfer beim Wachstum und auch bei der Blutbildung eine Rolle spielt. Zur *Kupferspeicherung* kommt es bei der hepatocerebralen Degeneration (*Westphal-Strümpell-Wilson*), während *intermediäre Störungen* des Kupferstoffwechsels am Infektgeschehen beteiligt zu sein scheinen.

Umfassende Arbeit von pathologisch-anatomischer, chemischer und klinischer Seite ist geleistet worden, um Einblicke in die Einzelheiten dieser Vorgänge zu erhalten. Von großer Bedeutung für unsere heutige Betrachtungsweise ist dabei die Erkenntnis geworden, daß die Schwermetalle in allen Phasen ihres Stoffwechsels unter Bildung von Metallproteiden mit bestimmten Eiweißstoffen verbunden sind. Während für das Eisen einige dieser Proteide und ihre physiologische Bedeutung einigermaßen definiert sind, steht die Erforschung der Kupferproteide noch im Anfang.

Dank der uns heute zur Verfügung stehenden Bestimmungsmethoden haben die Fragen des Eisen-, Kupfer- und Eiweißstoffwechsels in zunehmendem Maße das Interesse der Klinik gefunden und bereits zu bemerkenswerten diagnostischen und therapeutischen Ergebnissen geführt. Verbunden ist diese Entwicklung mit einer ganzen Reihe von Autoren, von denen *Heilmeyer* u. Mitarb., *K. H. Schäfer*, *Vahlquist*, *Vannotti* und *Delachaux*, *Brenner*, *Cartwright* u. Mitarb., *Wuhrmann* und *Wunderly*, *Cohn*, *Tiselius*, *Grassmann* und *Hannig* unter vielen anderen genannt seien. Mit den speziellen Fragen der Eisen- bzw. Kupfereiweißverbindungen im Blut haben sich besonders *Holmberg*, *Laurell*, *Granick*, *Brendstrup*, *Schade* und *Caroline* sowie wiederum die Arbeitskreise von *Cartwright*, *Cohn* und *Heilmeyer* beschäftigt. Weitere wichtige Einblicke konnten mit Hilfe von Indikator-Methoden gewonnen werden.

Als Hauptdepot-, Umsatz- und wahrscheinlich auch Syntheseorgan der beiden Schwermetalle und ihrer spezifischen Metallproteide fungiert die Leber, die gleichzeitig maßgeblich in den allgemeinen Eiweißstoffwechsel eingreift. Es schien daher von besonderem Interesse, den Beziehungen zwischen Schwermetall und Eiweiß bei den Leberkrankheiten nachzugehen, zumal frühere Arbeiten gezeigt hatten, daß sich hier Veränderungen von klinischer Bedeutung abspielen können. Darüberhinaus war es naheliegend, die Haemochromatose und die hepatocerebrale Degeneration in die Betrachtung einzubeziehen, sind doch hier Lebererkrankung und Störungen im Schwermetall- bzw. auch Eiweißstoffwechsel besonders eindrucksvoll miteinander verknüpft.

II. Der normale Eisenstoffwechsel und seine Beziehungen zum Eiweiß

Das Eisen hat im menschlichen Organismus eine mehrschichtige Funktion. Es stellt die zentrale Substanz des Haemoglobins und Myoglobins dar und hat weitere Aufgaben im Bereich von Enzym- und Fermentsystemen. Um diesen Aufgaben gerecht zu werden, wird das Metall vom Ort der Aufnahme auf dem Blutwege zu den Verbrauchsstätten transportiert, entweder direkt oder unter Zwischenschaltung einer vom aktuellen Bedarf in der Peripherie abhängigen Deponierung vor allem in der Leber. Dort lagert auch ein wesentlicher Teil des Reserveeisens, das eventuelle Eisenverluste ausgleichen kann. Das Körpereisen setzt sich danach aus dem Funktionseisen (Haemoglobineisen, Myoglobineisen, Fermenteisen usw.), dem Transport- und Depoteisen zusammen. Dabei kommt das Metall nicht als freies Ion sondern nur an Eiweißkörper gebunden vor. Diese Eiweißträger sind zum Teil wahrscheinlich spezifisch und spielen für den normalen Ablauf des Eisenstoffwechsels eine große Rolle. *Wuhrmann* und *Jasinski* [422] unterscheiden entsprechend Funktionsproteide (Haemoglobin, Myoglobin, Cytochrome, Katalasen), Depotproteide (Ferritin, Siderin) und Transportproteide (Transferrin bzw. Siderophilin).

A. Charakteristica der Eisen-Eiweißverbindungen

1. Haemosiderin bzw. Siderin

Das intrazellulär gelegene Haemosiderin hat infolge seiner einfachen Nachweisbarkeit im histologischen Präparat viele Jahre im Vordergrund morphologischer und auch eisenstoffwechselphysiologischer Betrachtungen gestanden.

Sein Eisengehalt ist relativ hoch (29 — 35 % nach *Asher* [7], 55 % nach *Cook* [80]). Die frühere Anschauung seiner ausschließlich haemoglobinogenen Entstehung mußte fallengelassen werden, so daß die Bezeichnung Siderin zutreffender ist. Das Eisen liegt hier als Ferrioxyhydrat vor und ist an eine organische Trägersubstanz gebunden, die Albuminatharakter hat [31]. *Asher* sprach von einem eiweißhaltigen Stroma. Mit Hilfe neuerer histochemischer Methoden ist nachgewiesen worden, daß der eisenfreie Restkörper des Siderins aus sauren Mucopolysacchariden, Lipoidkomponenten (wie bereits *Hueck* [197] angenommen hatte) und Proteinen, die die gekoppelte Tetrazoniumreaktion geben, besteht [128, 129, 130]. Der Eiweißanteil des Siderin-Restkörpers verhält sich elektrophoretisch wie ein α -Globulin und besitzt einen spezifischen isoelektrischen Punkt bei P_{11} 6.8–6.5 [182]. Siderin als Ganzes ist elektrophoretisch inaktiv [209, 210].

Prinzipiell ist das Eisen aus seiner Trägersubstanz abspaltbar, wie vor allem *Gedigg* und *Strauss* auf histochemische Weise zeigen konnten. Auch die Befunde von *Rath* und *Finch* [312], *Bogniard* und *Whipple* [35], *Wenderoth* [409, 411] u. a. sprechen dafür, daß das Siderin-Eisen als disponible Metallfraktion zu gelten hat. Ob es Siderin-Fractionen gibt, in denen das Eisen in unlöslicher Form vorliegt, ist noch umstritten. *Schwietzer* [350–352] nimmt an, daß Siderin einem Alterungsprozeß unterliege und unter Verschiebung der Relationen zwischen Eisen- und Eiweißgehalt zugunsten des Eisens am Ende Mineral-Charakter annähme und dann unlöslich würde. Bei experimentell erzeugten Siderosen wurde unter wiederholten Aderlässen

nicht das gesamte Siderin mehr zur Blutneubildung herangezogen [308]. Andererseits sind aber Fälle idiopathischer Haemochromatose beschrieben, bei denen die Siderose unter mehrjähriger Aderlaßbehandlung praktisch ganz geschwunden war [91, 92, 282, 294, 296].

Zu der Frage der Beziehungen zwischen Siderin und Ferritin (s. u.) liegen Untersuchungen von *Granick* u. Mitarb. [145, 146, 148] vor, die auf Grund analytischer Bestimmungen und magnetischer Messungen zu der Auffassung kommen, daß es sich beim Siderin um ein Polymerisationsprodukt des Ferritins handle; dieser Ansicht ist von *Behrens* und *Taubert* [21] widersprochen worden.

2. Ferritin

1937 von *Laufberger* [231] aus Pferdemilz isoliert und als Cadmiumsalz von brauner Farbe kristallin dargestellt, ist diese Eisen-Eiweißverbindung durch den Arbeitskreis von *Granick* [145, 146, 148, 149, 150] ab 1942 systematisch auch in bezug auf seine Stellung im Eisenstoffwechsel untersucht worden.

Sein Eisengehalt ist unterschiedlich (maximal 23 %). Das Metall liegt als 3-wertiges Eisen-oxyhydrat oder -hydroxyphosphat vor und ist mizellenartig in das Trägereiweiß Apoferritin eingelagert. Letzteres hat ein Molekulargewicht von 465.000 und bildet mit CdSO_4 farblose Kristalle. Allerdings gelingt sein Nachweis nur, wenn auch Ferritin vorhanden ist. Es wird daher angenommen, daß es erst ad hoc, nämlich bei Auftreten von Eisen, gebildet wird. Da die Kristallformen bei den einzelnen Tierspecies etwas voneinander abweichen, liegt die Vermutung nahe, daß die Eisen-Apoferritin-Verbindung bzw. der Apoferritin-Aufbau in gewisser Weise artspezifisch ist [45].

Funktionell wird das Apoferritin als Schutzkolloid angesehen, das die Kondensation der niedermolekularen Eisenpolybase und damit ihre Ausfällung verhindert [145–150, 157, 350]. Die Einlagerung des Eisens in das Trägereiweiß scheint an die Tätigkeit der lebenden Zelle gebunden zu sein, da es nicht gelingt, eine Eisen-Apoferritin-Bindung in vitro herzustellen [232]. Ungeklärt ist bisher noch die Bedeutung einer zweiten nicht mit CdSO_4 kristallisierbaren Eisen-Eiweiß-Verbindung, die von *Laurell* ebenfalls zum Ferritin gerechnet wird.

Neben der Speicherfunktion für Eisen sind dem Ferritin auch vasoaktive und antidiuretische Eigenschaften zuzuschreiben, wobei es unter aeroben Verhältnissen eine biologisch inaktive Form geben soll, aus der durch Reduktion die gefäßaktive Substanz entsteht [11, 266, 267, 355].

Versuche, Ferritin quantitativ zu bestimmen, haben schon *Granick* u. Mitarb. angestellt. Die von ihnen angegebene chemisch-quantitative Methode erfordert zu große Ausgangsmengen, um klinische Bedeutung zu erlangen. Eine semiquantitative Methode der Auszählung der Kristalle im mit CdSO_4 behandelten Gefrierschnitt gibt nur relative Werte und ist mit einer ziemlich großen Fehlerbreite belastet [209]. Eine neue quantitative Methode der Ferritinbestimmung geht von homogenisiertem Organbrei aus, der nach entsprechender Präparation der Papier-elektrophorese unterworfen wird [209]. Ferritin wandert dabei anodisch mit der Geschwindigkeit der α -Globuline.

3. Transferrin bzw. Siderophilin

Beim Transferrin [185] bzw. Siderophilin [333, 334] handelt es sich um das Transportvehikel des Serumeisens. Nachdem früher eine Eisen-Albuminverbindung im Serum angenommen worden war [377, 378, 388], haben neuere Untersuchungen er-

geben, daß das Serumeisen an ein spezifisches Protein gebunden ist, das sich elektrophoretisch wie ein β_1 -Globulin verhält.

Bei der Äthanolfraktionierung in Kälte nach *Cohn* findet sich das eisenbindende Protein in der Fraktion IV-7, 2, die zu 90–95% gereinigt gewonnen werden konnte (Lit. bei *Sträßle* [369]). Es hat ein Molekulargewicht von etwa 90 000 und seinen isoelektrischen Punkt bei P_{II} 5,8–5,9. Seine Gesamtmenge im Serum beträgt 0,25 g% = 3% des Plasmaeiweißes. Bei Eisensättigung enthält 1 mg Trägerprotein 1,25 γ Fe^{III} , wobei jedes Eiweißmolekül 2 Atome dreiwertigen Eisens binden kann [373]. In Verbindung mit Fe^{III} besitzt es eine 10-mal größere Löslichkeit als in eisenfreiem Zustand, während Cu, das es ebenfalls komplex zu binden vermag, die Löslichkeit nicht ändert. Die charakteristischen Absorptionsbanden liegen für den Fe^{III} -Komplex bei 435 $m\mu$, für den Cu^{II} -Komplex bei 460 $m\mu$. Auch durch elektrophoretische Untersuchungen in Verbindung mit der Autoradiographie konnte bewiesen werden, daß das Serumeisen normalerweise ausschließlich an dieses spezifische β_1 -Globulin gebunden ist [191, 333, 334, 399, 421]. Die Menge an Trägerprotein, das normalerweise nur zu $\frac{1}{3}$ mit Eisen gesättigt ist, begrenzt damit die Fähigkeit des Serums zum Transport von Eisenionen. Wenn diese maximale Bindungskapazität überschritten wird, bleibt das restliche Eisen in ionisiertem Zustand und verbindet sich nicht mit anderen Bluteiweißfraktionen.

Die Bestimmung der Eisenbindungskapazität des Serums, die als Maß der Konzentration an Trägereiweiß gelten kann, ist auf physikalischem, chemischem und autoradiographisch-elektrophoretischem Wege möglich [191, 232, 333, 399, 418, 419]. Die von den verschiedenen Autoren erhaltenen Werte stimmen dabei recht gut überein (Tab. 1).

Tabelle 1 Die normale Eisenbindungskapazität des Serums.

Autor	Methode	Zahl der Fälle	Mittelw. d. max. Fe-Bindungs-Kapazität γ %	Biologischer Streubereich Min./Max. γ %
Laurell	Laurell	100	315	245—400
Brendstrup	Laurell	40	310 \pm 28	
Davies, Levin und Oberholzer	Mikrometh. mod. n. Laurell	40	312	204—423
Cartwright und Wintrobe	Schade u. Car.	30	359 \pm 30.9	306—429
Ventura und Klopfer	Schade u. Car.	25	328	241—430
Rath und Finch	Schade u. Car.	30	300	224—432
Gisinger	modifiz. n. Schade u. Car.	45	347	272—386
Horst und Schäfer	Horst u. Schäfer	6	?	246—266
Konitzer und Mitarb.	Schade u. Car.	75	296	258—334
Lange	Laurell	60	299 \pm 29.8	244—360

Die eigenen Ergebnisse wurden mit der Methode von *Laurell* (mod. von *Brendstrup* [46]) gewonnen. Diese beruht auf dem Prinzip, daß freies Eisen direkt mit o-Phenanthrolinhydrochlorid reagiert, während an Eiweiß gebundenes Eisen erst nach saurer Hydrolyse und Eiweißfällung eine Verbindung mit dem Nachweis-Reagens eingeht. Die maximale Bindungskapazität ist bei diesem Verfahren die Differenz

zwischen der Gesamtmenge an Eisen (Serumeisen + Eisenzusatz) und der direkt reagierenden Fraktion. Der methodische Fehler beträgt nach *Brendstrup* $\pm 2,2\%$.

Man geht dabei in folgender Weise vor:

1. Reagentien:

1. 10 %ige HCl p. a.
2. 20 %ige CCl_3COOH .
3. 15–20 %ige wäßrige Ammoniaklösung.
4. n/2 HCl p. a.
5. 1 %ige p-Dinitriphenollösung in absol. Alkohol.
6. 167 mg %ige $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ -Lösung.
7. Ferroammonsulfat-Standard-Lösung (700 mg Mohr'sches Salz + 1 ml konz. HCl/1000 ml Aq. redest.).
8. 6 %ige Ascorbinsäurelösung.
9. 4 %ige Hydrochinonlösung.
10. 1 %ige o-Phenanthrolinlösung in 10 %igem Alkohol.
11. 2 %ige o-Phenanthrolinlösung in 10 %igem Alkohol.

2. Arbeitsgang: Zu 1 ml Serum werden 0,075 ml Fe-Ascorbinsäurelösung (Mischung zu gleichen Teilen von 7 und 8) gegeben. Nach 5' Zusatz von 0,025 ml o-Phenanthrolin (11) und 0,9 ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (6). 1 Stunde stehen lassen. 1 ml der Mischung wird in einem 25-ml-Erlenmeyer-Kölbchen mit 0,5 ml 10 % HCl (1) tropfenweise versetzt und unter öfterem Umschütteln wiederum 10' stehengelassen. Anschließend Zusatz von 1 ml 20 % CCl_3COOH (2), umschütteln, 10' stehen lassen, zentrifugieren. 1 ml des Überstandes wird in einen 2,5 ml-Meßkolben pipettiert, mit p-Dinitrophenol (5) als Indikator versetzt und mit Ammoniak (3) bis zum Umschlag in gelb alkalisiert. Gegentitration mit n/2 HCl (4) bis zur Farblosigkeit. Zusatz von je 1 Tropfen Hydrochinon (9) und o-Phenanthrolin (10). Nach 10' mit Aq. redest. bis zur Marke auffüllen und gut mischen. Bestimmung der Extinktion im Beckman-Spektralphotometer bei 500 m μ und 10 mm Schichtdicke.

Die maximale Fe-Bindungskapazität in $\gamma\%$ errechnet sich aus dem Produkt: Extinktion x Endvolumen x Absorptionskonstante x Verdünnung.

Wegen der relativ geringen Stabilität des Eisen-Globulinats gegenüber P_{II} -Veränderungen [46, 232, 419] ist nur frisches oder eingefrorenes Serum verwendbar. Weiterhin ist der Zusatz von $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ auf ein Minimum zu begrenzen, da sonst zu niedrige Werte erhalten werden [46].

An 60 normalen Versuchspersonen wurde ohne signifikante Geschlechtsdifferenz ein Mittelwert von $299 \pm 29,8 \gamma\%$ mit einem biologischen Streubereich von 244–360 $\gamma\%$ ermittelt (Tab. 1).

Die Methode von *Schade* und *Caroline*, bei der die unter Eisenzusatz zum Serum intensiver werdende lachsrote Farbe des Transferrin-Komplexes photometrisch gemessen wird, ist weniger geeignet, wenn stärker eigengefärbte, z. B. ikterische Sera untersucht werden sollen.

Das Eisentransport-Proteid Transferrin ist jedenfalls auf Grund der bisher vorliegenden Untersuchungsergebnisse recht gut charakterisierbar, wobei die Möglichkeit, die maximale Eisenbindungskapazität eines Serums auf relativ einfache Weise zu bestimmen, auch für die Klinik der Eisenstoffwechselstörungen Bedeutung erlangt hat.

B. Die Bedeutung der Eisen-Eiweißverbindungen für den Eisenstoffwechsel

Die Fragen der Resorption, des Transportes und der Depotbildung werden im folgenden vor allem im Hinblick auf die spezielle Problematik erörtert. Auf die Monographien von *Vanotti* und *Delachaux* [392], *K. H. Schäfer* [335] sowie *Jasinski*

und *Roth* [198] sei verwiesen. Weiterhin haben *Hemmeler* [176], *Büchmann* [58], *Goldeck* und *Remy* [142, 143], *Thedering jr.* [377, 378] sowie *Pribilla* [308, 396] dieses Gebiet eingehender bearbeitet. Dem histochemisch nachweisbaren Eisen und seiner Stellung im Fe-Stoffwechsel haben *M. B. Schmidt* [341], *Rechenberger* und *Schäirer* [317, 318, 336], *Maßhoff* [261, 262] u. a. ausgedehnte Untersuchungen gewidmet.

1. Eisenresorption

Die Annahme von *Lintzel* [245], daß die Eisenaufnahme unter normalen und Eisenmangelbedingungen ganz wesentlich von dem Eisenbedarf bestimmt wird, und daß der Regulationsmechanismus an den Ort der Resorption zu verlegen ist, hat breite Anerkennung gefunden. Ein Überangebot von Eisen führt zu einer Hemmung der Eisenresorption. Dieses Ergebnis früherer Untersucher haben *Stewart* u. Mitarb. [365, 366] neuerdings bestätigt, indem sie eine deutlich kleinere Resorptionsquote von Fe^{59} feststellten, wenn vorher stabiles Eisen gegeben worden war. Wie man sich den Mechanismus dieser Bedarfssteuerung der Eisenresorption vorzustellen hat, ist bisher allerdings keineswegs befriedigend geklärt. Aus ihren Befunden von der engen Beziehung zwischen Ferritingehalt der Mucosazelle des Darmes und Resorptionsquote hat *Granick* [146, 147] seine Hypothese vom sog. Mucosablock hergeleitet. Es soll danach eine Resorptionssperre auftreten, wenn die Darmzelle mit Ferritin gesättigt ist, während der Abstrom von Eisen aus der Darmzelle in den Organismus dem Bedarf parallel gehe. Eine wichtige Stütze dieser Theorie ist die Beobachtung gewesen, daß der Sperrmechanismus im Eiweißmangel, bei dem eine unzureichende Ferritinsynthese durchaus denkbar ist, eine Enthemmung erfährt. Ein Überangebot an Eisen führt im Eiweißmangel zur Lebersiderose [134, 135, 160, 212]. Vermehrte Eiseneinlagerung in die Leber im Gefolge eines klinischen Eiweißmangelschadens ist ebenfalls mehrfach beschrieben worden [57, 202, 247]. Auf die Bedeutung dieser Frage in der Pathogenese der Haemochromatose wird noch einzugehen sein.

Störungen des angeblich dem Bedarf angepaßten Resorptionsmechanismus sind aber auch aus anderer Ursache bekannt. *Kinney*, *Hegsted* und *Finch* [212] haben einen zusätzlichen Phosphormangel, *Spoendlin* [359] einen Vitaminmangel, *Cartwright*, *Wintrobe* und *Humphreys* [72] ein Fehlen von Adermin bzw. Pyridoxin als ursächliche Störungsmomente angeschuldigt. Weiterhin kommt es bei nicht durch Eisenmangel bedingten Anaemien zu inadäquater Eisenresorption, was der Theorie von der Bedarfssteuerung widerspricht [97, 160, 366, 416, 427]. Zudem haben schon *Granick* und *Michaelis* [150] gezeigt, daß bei der Haemochromatose, dem Prototyp ungehemmter Eisenresorption, Ferritin in der Darmzelle vorhanden ist. Der sog. Ferritinblock ist daher wahrscheinlich nur ein Teilmechanismus der Einfuhrregulation. *Granick* und *Michaelis* halten eine Verschiebung von Redoxpotentialen als Ursache einer inadäquaten Resorption für möglich. Diese würde entweder in einer Praevalanz reduktiv wirkender Enzyme oder in einer Herabsetzung oxydativer Vorgänge bestehen, so daß Fe^{II} -Ionen ungehindert die Darmzelle passieren und keine Bindung mit Apoferritin eingehen, wozu offensichtlich Dreiwertigkeit notwendig ist. Ähnlich könnte sich eine Herabsetzung des O_2 -Partialdruckes im Gefolge von Anaemien auswirken.

Zu erwähnen sind in diesem Zusammenhang die Tierexperimente von *Reissmann* u. Mitarb. [321, 322], die durch orale Gaben von 200 mg Fe^{II} /kg Körpergewicht beim

Hund tödliche Eisenintoxikationen, wie sie gelegentlich auch beim Menschen beschrieben sind, hervorrufen konnten. Den Versuchen ist zu entnehmen, daß eine Überflutung des enteralen Sperrmechanismus auch durch abundante Eisengaben hervorgerufen werden kann. Möglicherweise wird infolge des hohen Konzentrationsgefälles die Darmzelle zur Aufnahme von Eisen „gezwungen“, das sie nicht an Apoferritin binden kann und daher passieren lassen muß. Wenn auch die Darmschleimhaut der vergifteten Tiere histologisch intakt schien, konnten funktionelle Störungen des Resorptionsmechanismus naturgemäß nicht ausgeschlossen werden.

Danach ist die Mucosazelle des Darmes unter normalen Bedingungen zwar in der Lage, die Eisenresorption so zu steuern, daß Eisenüberladungen vermieden werden. Der zugrundeliegende Mechanismus kann jedoch durch eine ganze Reihe von Faktoren gestört werden und ist außerdem in seinen Einzelheiten bislang noch nicht übersehbar. Es ist jedenfalls wahrscheinlich, daß der sog. Mucosablock nur ein Teilstück im Gesamtgeschehen der Regulation der Eiseneinfuhr darstellt. Immerhin scheint die Eisen-Eiweißverbindung Ferritin an der Resorptionsaufgabe wesentlich beteiligt zu sein. Inwieweit zentralnervöse Faktoren evtl. Einfluß auf die Eisenaufnahme haben, wissen wir nicht.

2. Eisentransport

Zwischen Resorptions-, Bedarfs- und Verbrauchsstätten fungiert das im Transferrin gebundene Serumeisen. Es stellt die Transporteisenfraktion schlechthin dar.

Methodisch wird bei der Serumeisenbestimmung in Deutschland meist nach *Heilmeyer* und *Plötner* [179] vorgegangen, wobei wir anstelle der Filtration durch entsprechend präparierte Papierfilter nach der Eiweißfällung scharf zentrifugieren und außerdem nicht mehr das Stufenphotometer sondern das Spektralphotometer von Beckman benutzen [63,64]. Bei 60 normalen Versuchspersonen beiderlei Geschlechts betrug das Serumeisen dabei im Mittel $105 \pm 25,6 \gamma\%$.

Die maximale Eisenbindungskapazität des Serums ist bei ausgeglichener Stoffwechselsituation also nur zu etwa $\frac{1}{3}$ beansprucht, sodaß adaptive Schwankungen des Serumeisens nach oben oder nach unten ohne Schwierigkeiten möglich sind und dem System die notwendige Elastizität innewohnt.

Die sog. latente Eisenbindungsfähigkeit (max. Fe-Bindungskapazität-Serumeisen) beläuft sich mithin auf $194,5 \pm 34,9 \gamma\%$. Beim weiblichen Geschlecht ist sie infolge des meist niedrigeren Serumeisens etwas größer als beim männlichen.

Im allgemeinen besteht zwar zwischen Serum- und Gewebeseisen eine direkte Proportionalität, so daß eine Erniedrigung des Serumeisens eine Verminderung des Eisenbestandes der Gewebe und umgekehrt anzeigt. In der Pathologie des Eisenstoffwechsels gibt es aber auch intermediäre Eisenverschiebungen mit einem gegenteiligen Verhalten, z. B. beim Infekt [171, 172, 335] und der akuten Hepatitis.

Daß in der Relation zwischen Serumeisen und latenter Eisenbindungsfähigkeit des Serums ein die Resorptionsgröße beeinflussendes regulatives Prinzip zu sehen sei [232], ist umstritten. Nach *Laurell* hat ein Ansteigen dieses Quotienten (relativer Eisenüberschuß) eine Eisendeponierung und Einfuhrverminderung zur Folge, während der umgekehrte Vorgang einen Eisenmangel anzeigt und eine Entspeicherung und Vermehrung der Resorption bedingt. Ein Austausch der Eisenionen zwischen

Serum und Gewebe dürfte zwar prinzipiell und reversibel möglich sein, über den Mechanismus dieses Vorganges wissen wir aber vorerst nur wenig.

Mit den Verhältnissen beim echten Eisenmangel stimmt die *Laurell'sche* Theorie zwar gut überein. Ähnlich der *Granick'schen* These vom Mucosablock versagt sie aber bei den nicht durch Eisenmangel bedingten Anaemien (Infekt, Haemolyse), bei denen trotz herabgesetzter latenter Fe-Bindungskapazität die Resorption nicht entsprechend gehemmt wird. Bei der experimentellen Phenylhydrazin-Anaemie wurde sogar eine verstärkte Utilisation von oral gegebenem Fe⁵⁹ gefunden [201, 366]. Ebenso ließ die künstliche Absättigung des eisenbindenden Proteins durch fraktionierte Gaben von Eisengelatine die enterale Aufnahme von Fe⁵⁹ beim gesunden Hund unbeeinflusst [427].

Wenn damit für diese spezielle Frage auch noch gewisse Unklarheiten bestehen, so hat doch die Kenntnis des Transportmechanismus wesentliche Fortschritte gemacht. Diese betreffen vor allem die enge Beziehung zwischen Metall und Trägerprotein – ein Faktum, das bei der Erforschung des Eisenstoffwechsels zunehmend Berücksichtigung findet.

3. Eisendepots

Die vorwiegend in der Leber gespeicherte Depoteisenfraktion beläuft sich auf etwa 2–3 g. Sie vergrößert sich mit steigendem Lebensalter und weist eine Geschlechtsdifferenz zugunsten des Mannes auf [317, 336]. Im Verhältnis zum Ferritin als leicht disponibler Metallfraktion spielt das Siderin normalerweise eine untergeordnete Rolle. Es gilt als Depotsubstanz 2. Ordnung. Nach *Wintrobe* [416] ist diesen beiden Speicherformen eine weitere Eisenreserve von etwa 130 mg vorgeschaltet, die als „labile iron pool“ bezeichnet wird. Eine Inanspruchnahme der Depots ist bei ausgeglichenem Eisenstoffwechsel nicht notwendig. Der Eisenbedarf der Erythropoese wird aus dem Haemoglobinabbau gedeckt, die physiologischen Eisenverluste werden durch Resorption von Nahrungseisen ausgeglichen. Das Depot-eisen stellt also eine echte Reserve dar, die dank der schnellen Mobilisierbarkeit, in erster Linie des Ferritins, akute Eisenverluste in kurzer Zeit ausgleichen kann. Andererseits haben neuere, sehr interessante tierexperimentelle Untersuchungen über die Biosynthese des Ferritins anhand der Einbaurate von C¹⁴-markiertem Glycin gezeigt, daß das Ferritin der Leber durch orale und vor allem intraperitoneale Eisengaben außerordentlich schnell auf das 3- bzw. 11fache gesteigert werden kann [220]. In vitro-Versuche über die Ferritin-Synthese unter Einfluß von Eisen sind zu weniger eindeutigen Resultaten gekommen.

Das Absinken des Serumeisenspiegels im Eisenmangel scheint der adaequate Reiz für die Mobilisierung von Depoteisen zu sein, dessen Verminderung, wahrscheinlich in Verbindung mit anderen Regulationsmechanismen, verstärkte Resorption aus dem Darm zur Folge hat. Der regulative Einfluß des Gewebeeisenspiegels auf die Resorption tritt aber wiederum nur unter Normalbedingungen und im Eisenmangel klar zutage. Liegt eine Störung des intermediären Eisenstoffwechsels mit Vermehrung des Depoteisens vor, kommt es trotz des hohen Eisengehaltes der Gewebe zu einer inadaequaten Resorption von Eisen aus dem Darm. Die Einlagerung solchen überschüssigen Eisens erfolgt zunächst als Ferritin, später als Siderin. Offensichtlich sind die Gewebe, insonderheit die Leber, nur bis zu einer gewissen Grenze zur Eisen-

speicherung in Form von Ferritin in der Lage. Entweder kann Apoferritin nur in beschränktem Umfang gebildet werden, oder aber der zelluläre Raum begrenzt die Speicherkapazität für Ferritin, so daß die Einlagerung in der konzentrierteren Siderin-Form erfolgt. Daß die Apoferritinsynthese mit der Eisenanflutung nicht Schritt hält, ist nach den genannten Untersuchungen von *Korey* und *Levine* [220] zwar weniger wahrscheinlich, aber unter krankhaften Bedingungen (Eiweißaufbaustörung im Infekt und auch bei Leberkrankheiten) nicht ausgeschlossen.

Die Eisendepotfraktionen Ferritin und Siderin fügen sich damit in die Dynamik des Gesamteisenstoffwechsels ein. Aus dem distinkten histochemischen Nachweis des Siderins darf keinesfalls der Schluß gezogen werden, daß es sich hierbei um eine unveränderlich festliegende Substanz handelt, die am Stoffwechselgeschehen nicht mehr beteiligt ist. In Deutschland hat vor allem *Wenderoth* [409, 410, 412] auf diese Tatsache hingewiesen und zu den Auffassungen von *Schwietzer* [351, 352] über die Unlösbarkeit des Siderins kritisch Stellung genommen.

4. Eisenausscheidung

Als Exkretionsorgane für Eisen kommen Leber, Darm, Haut bzw. Schweißdrüsen und die Nieren in Betracht. Die Frage, ob und auf welchem Wege eine Eisenausscheidung erfolgt, hat lange Zeit eine sehr unterschiedliche Beantwortung erfahren.

So schwanken die in älteren Arbeiten gemachten Angaben über den Eisengehalt der Galle von 0,5–10 mg/die [106, 179, 341]. Das gleiche gilt für die Eisenausscheidung im Darm, wobei zwischen evtl. ausgeschiedenem und nicht resorbiertem Eisen meist nicht unterschieden worden ist. Sehr hohe Eisenverluste mit dem Schweiß (6,5 mg/die) haben *Mitchell* und *Hamilton* [275] gefunden – ein Ergebnis, das *Erdmann-Müller* u. Mitarb. [108] mit einer Modifikation der *Heilmeyer*'schen Methode nicht bestätigen konnten.

Erst der Einsatz radioaktiven Eisens hat hier Klarheit geschaffen. *Hawkins* und *Hahn* [165] sahen nur 3% des bei experimenteller Haemolyse freiwerdenden Eisens den Körper auf dem Leber-Galle-Weg verlassen. Nach intravenöser Injektion von Fe^{59} konnten eine ganze Reihe von Autoren im Stuhl ebenfalls nur Spuren von Eisen finden [98, 155].

Es wird angenommen, daß es sich dabei nicht um eine aktive Exkretion handelt, sondern um Eisenverluste durch beigemischte Erythrocyten und Leukocyten sowie abschilfernde Darm-epithelien, die sehr kurzlebig sind und einer hohen Umsatzrate unterliegen [236]. Ähnlich ist es mit der Eisenausscheidung durch die Haut bzw. Schweißdrüsen. Die Ergebnisse von *Mitchell* und *Hamilton* haben also auch einer Nachprüfung mit Indikator-Methoden nicht standgehalten [1, 98, 199, 364]. Die geringen Eisenmengen, die *Erdmann-Müller* u. Mitarb. [108] im Schweiß nachgewiesen haben, entstammten zum überwiegenden Teil abgeschilferten Deck-epithelien.

Auch die Frage, ob die Nieren zu einer aktiven Eisenexkretion befähigt sind, wird heute von den meisten Autoren, wenigstens soweit es Ruhebedingungen angeht, verneint. Früheren Arbeiten sind allerdings Urineisenwerte von 1–15 mg/die zu entnehmen [179], weitere Lit. bei *Tepe* und *Tögemann* [376]. Wenn neuerdings mit der Methode der trockenen Harnveraschung im Porzellantiegel Normalwerte von 0,5–1,5 mg Fe/die gefunden wurden [278, 374–376], so steht dieses Ereignis im Widerspruch zu den Untersuchungen von *Cartwright* u. Mitarb. (48 $\gamma\text{Fe}/\text{die}$ [70]), von *Plötner* und *Petzel* (6 $\gamma\%$ = 64 $\gamma\text{Fe}/\text{die}$ [298, 299]) und den eigenen Resultaten. Bei der feuchten Harnveraschung mit Schwefel- und Perchlorsäure im Reagenzglas über offener Flamme fanden sich bei 50 gesunden Versuchspersonen im Mittel 4,4 $\gamma\%$ = 35 $\gamma\text{Fe}/\text{die}$. Die Einzelwerte schwankten dabei unter Bevorzugung der niedrigen Werte von 0–15 $\gamma\%$ bzw. 0–136 $\gamma\text{Fe}/\text{die}$ [226]. Nach Gabe von Fe^{59} ließen sich ebenfalls nur geringe Eisenmengen im Urin nachweisen [98, 155].