

Beiträge zur Kenntniss der Alkaptonurie.
I. Mittheilung.
Ueber einen neuen Fall von Alkaptonurie.

Von
Heinrich Embden.

(Aus dem Laboratorium von Professor Baumann, Freiburg i. B.)
(Der Redaction zugegangen am 4. Juli 1892.)

Kraske und Baumann¹⁾, sowie Wolkow und Baumann²⁾ haben in jüngster Zeit über einen von ihnen genau beobachteten und untersuchten Fall von Alkaptonurie berichtet; die dabei erhobenen Befunde und die daran geknüpften Uebersetzungen der genannten Autoren haben über diese seltene und bis dahin unerklärte Stoffwechselanomalie ein neues Licht verbreitet.

Die früheren Autoren³⁾ hatten als charakteristischen Harnbestandtheil bei der Alkaptonurie⁴⁾ Brenzcatechin, Protocatechusäure, sowie eine Reihe nicht näher bekannter aromatischer Säuren beschrieben, unter denen nur die von Kirk entdeckte Uroleucinsäure durch Huppert mit einiger Wahr-

1) München. med. Wochenschrift, 1891, No. 1.

2) Diese Zeitschrift, Bd. XV, S. 228.

3) Siehe eine ausführliche kritische Darstellung der Literatur bei Wolkow und Baumann, S. 228 ff.

4) Wir bezeichnen nach dem Vorgange von Wolkow und Baumann mit dem von Boedeker zuerst angewandten Sammelnamen Alkapton jede im Harn gewisser Individuen dauernd vorkommende Substanz, welche demselben zwei Merkmale verleiht, ein sehr bedeutendes Reductionsvermögen und die Eigenschaft, nach Zusatz von Alkalien unter Sauerstoffabsorption sich dunkelbraun bis schwarz zu färben.

scheinlichkeit als Trioxyphenylpropionsäure näher charakterisirt werden konnte¹⁾).

Ueber die Herkunft der genannten Substanzen im Stoffwechsel der betreffenden Individuen, sowie über die Ursachen und die Bedingungen ihres Auftretens war man bis zu den jüngst publicirten Untersuchungen über Vermuthungen nicht hinausgekommen.

Durch die oben genannten Autoren wurde zum ersten Male die Natur des Alkaptons als eines eigenthümlichen, bis dahin niemals isolirten Harnbestandtheils erkannt, seine chemische Constitution ermittelt, seine Abstammung aus einem normalen Stoffwechselproduct nachgewiesen, die in Betracht kommenden Stoffwechselforgänge präcisirt und der Versuch gemacht, die Aetiologie der Alkaptonurie auf theoretischem Wege zu ergründen.

Der von Baumann und seinen Mitarbeitern beobachtete Fall ist bisher vereinzelt geblieben. Die Mittheilung eines von mir beobachteten neuen Falles von Alkaptonurie dürfte daher nicht ohne Interesse sein, zumal derselbe zu dem erstgenannten in Beziehungen steht, aus denen sich vielleicht weitere Gesichtspunkte für die Beurtheilung des Wesens der Alkaptonurie gewinnen lassen.

Ehe ich über meine Beobachtungen berichte, scheint es mir geboten, die wesentlichsten Ergebnisse der Untersuchung des Alkaptonharns von Kraske und Baumann und von Wolkow und Baumann zu recapituliren.

Dieser Fall von Alkaptonurie ist bei einem fast 70jährigen Manne, der wegen eines Prostataleidens die chirurgische Klinik zu Freiburg aufgesucht hatte, beobachtet worden. Der Kranke gab an, dass er die eigenthümliche Verfärbung seines Harns beobachtet habe, so lange er sich erinnern könne, dass er aber nie veranlasst gewesen sei, dem Verhalten seines Urins Aufmerksamkeit zu schenken, da er sich vor Beginn seines damaligen Leidens stets gesund gefühlt habe.

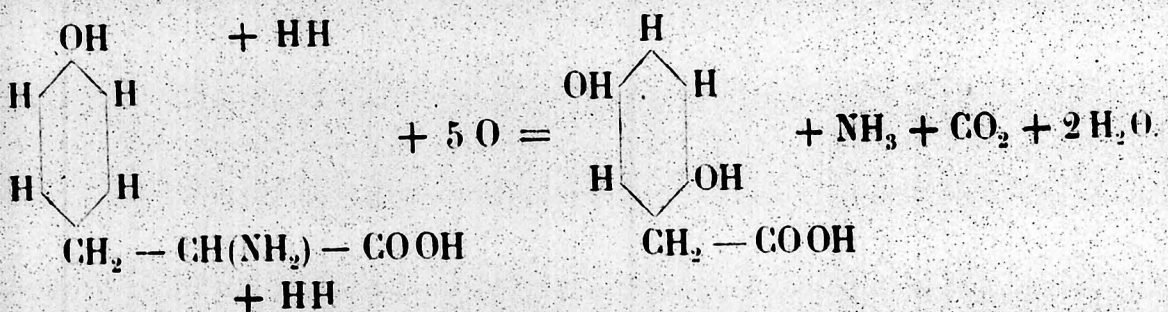
Aus dem Harn dieses Patienten isolirten die genannten Autoren eine schön krystallisirende Substanz, deren wässrige

¹⁾ Anal. des Harns, S. 153.

Lösung alle Eigenschaften des Alkaptonharns zeigte. Sie erkannten in derselben eine aromatische Säure, deren Analyse zur Aufstellung der Formel $C_8H_8O_4$ führte. Aus den Spaltungsproducten ergab sich, dass man es mit derjenigen — bisher unbekannt — Dioxyphenyllessigsäure zu thun habe, die sich vom Hydrochinon herleitet. Als erste Homologe der als Gentisinsäure bezeichneten Dioxyphenylcarbonsäure erhielt die von Wolkow und Baumann entdeckte Alkaptonsubstanz den Namen Homogentisinsäure.

Stoffwechselversuche zeigten, dass die Homogentisinsäure wie alle bis jetzt bekannten der aromatischen Reihe angehörenden Harnbestandtheile (bei Fleischnahrung) ein Derivat der Eiweisskörper ist. Höchst überraschend war jedoch der Nachweis, dass unter dessen Spaltungsproducten in den Darmkanal eingebrachtes resp. das dort gebildete Tyrosin als die unmittelbare Quelle der im Harn ausgeschiedenen Homogentisinsäure anzusehen sei.

Wolkow und Baumann haben den chemischen Vorgang bei der Bildung von Homogentisinsäure aus Tyrosin in seine einzelnen Factoren zerlegt. Sie stellen folgende Gleichung dafür auf:



Man ersieht daraus, dass der im Körper des Alkaptonmannes verlaufende anomale Vorgang, der zur Bildung der Homogentisinsäure führt, sich darstellt als eine Combination von gleichzeitig an demselben Molekül verlaufenden Reductions- und Oxydationserscheinungen; eine Combination, wie sie bekanntlich das charakteristische Merkmal der durch die Hefen bewirkten Umwandlungen ausmacht.

Das Tyrosin unterliegt also auf seinem Wege von den ersten Abschnitten des Darmkanals, in denen es gebildet wird, bis zu den Harnwegen, die den homogentisinsäurehaltigen

Harn führen, einem Process, den Wolkow und Baumann als einen Gährvorgang bezeichnet haben. Keine der zahlreichen Beobachtungen über die Umwandlung aromatischer Verbindungen durch den thierischen Stoffwechsel spricht, wie Wolkow und Baumann besonders betonen, dafür, dass die Umwandlung des Tyrosins zu Homogentisinsäure in den Geweben des Körpers erfolge. Würden durch das thierische Protoplasma im Leben solche Umsetzungen thatsächlich bewirkt, so hätte man sie bei den überaus zahlreichen Stoffwechselversuchen mit aromatischen Verbindungen, welche in den beiden letzten Jahrzehnten angestellt worden sind, unmöglich übersehen können.

Wolkow und Baumann sprechen sich auf Grund eingehender Erörterungen über das Verhalten und die Entstehung der aromatischen Substanzen im Thierkörper dafür aus, dass die Bildung der Homogentisinsäure durch einen Gährprocess, welcher der Milchsäure- oder Alkoholgährung analog verlaufe, bewirkt werde, und dass dieser Process nicht wohl im thierischen Protoplasma verlaufe, sondern durch pflanzliche Parasiten, die den Darmkanal bewohnen, zu Stande gebracht werde.

Wolkow und Baumann haben versucht, die von ihnen aufgestellte Theorie der Entstehung der Homogentisinsäure auf experimentellem Wege zu prüfen. Die in dieser Richtung unternommenen Versuche sind aber zu einem entscheidenden Abschlusse — wegen der Abreise des Patienten in seine Heimath — nicht gelangt. Sie heben deswegen in ihrer Arbeit hervor, dass die Frage nach der Berechtigung der von ihnen entwickelten Theorie den Ausgangspunkt weiterer Untersuchungen zu bilden habe.

In der Absicht, mir Material zu solchen Untersuchungen zu verschaffen, suchte ich im Sommer 1891 im Einverständniss mit Herrn Professor Baumann und Herrn Professor Kraske den Alkaptonmann in seiner Heimath auf. Bei dieser Gelegenheit wurde ich auf einen neuen Fall von Alkaptonurie aufmerksam, der nicht nur wegen der Seltenheit der in Rede stehenden Affection beachtenswerth erscheint.

Die mit unserem Patienten zusammenwohnende 60jährige Schwester desselben, Marie D., gab nämlich auf eine bezügliche Frage, zu der mich die Beobachtung von Kirk veranlasste, der Alkaptonurie bei drei Geschwistern sah, an, dass ihr Urin das gleiche abnorme Verhalten zeige, wie der ihres Bruders.

Sie theilte darüber Folgendes mit. Der ohne Beschwerden gelassene Harn zeige entweder sofort, meist aber erst nach einigem Stehen an der Luft eine bräunliche Verfärbung. Er hinterlasse in der Wäsche braune Flecken, die derselben mit einiger Hartnäckigkeit anhafteten.

Diese Eigenschaften ihres Harns hat Patientin während ihres ganzen Lebens, das sie als Magd an verschiedenen Orten des Schwarzwaldes zubrachte, ohne Unterbrechung bemerkt. Ja, aus Erzählungen ihrer Mutter weiss sie bestimmt, dass ihr Harn schon während ihres Säuglingsalters sein auffallendes Verhalten gezeigt hat. Sie berichtet, dass nach Erzählungen ihrer Mutter ihre Windeln sowie die ihres Bruders stets auffallende dunkelbraune Flecken gezeigt hätten, die auch in der Wäsche sich nicht vollständig beseitigen liessen¹⁾.

Von sonstigen anamnesticen Angaben sei noch hervorgehoben, dass Patientin bis vor 6 Jahren, wo sie eine schwere acute Krankheit (Hirnentzündung) durchmachte, stets gesund gewesen ist und schwere Arbeit verrichtet hat. Vor 4 Jahren erkrankte sie alsdann an einem acut einsetzenden Gelenkrheumatismus, der hauptsächlich die Kniegelenke befiel, die seitdem in ihrer Function schwer gestört sind.

Ich will gleich erwähnen, dass bei einer im October 1891 erfolgten Aufnahme der Patientin in die hiesige medicinische Klinik ausser den Erscheinungen eines chronischen Gelenkrheumatismus beider Kniegelenke eine Stenose der Aortenklappen und eine Insufficienz der Mitralis diagnosticirt wurden

¹⁾ Vgl. die von Ebstein und Müller (Virch. Arch., Bd. 62, S. 554) mitgetheilten, fast gleichlautenden Angaben der Mutter eines an Brenzcatechinurie leidenden Säuglings.

— Veränderungen, die wir wohl mit Recht auf den durchgemachten acuten Gelenkrheumatismus beziehen dürfen. Irgend welche Veränderungen der Harnorgane oder Störungen in deren Function waren auch objectiv nicht nachweisbar.

Aus diesen Daten ergibt sich mit Bestimmtheit die Unabhängigkeit der anomalen Urinbeschaffenheit von den pathologischen Veränderungen, die am Körper der Patientin gefunden wurden. Es wird deshalb im Folgenden nur von der Beschaffenheit des Urins die Rede sein.

Das Material für die Untersuchung desselben wurde während des Sommers 1891 im Hause der Alkaptonfrau in grossen Blechkannen gesammelt; diese wurden je am Ende einer Woche an die 2 Stunden entfernte nächste Eisenbahnstation geschafft und per Bahn nach Freiburg befördert.

Wenn der Urin hier eintraf, war er stets einer durch die Sommerhitze beförderten starken ammoniakalischen Gährung anheimgefallen und bot dann ein höchst auffallendes Aussehen dar. Seine Farbe war nämlich ein tiefes Schwarzbraun, so dass er gefaultem Pferdeharn sehr ähnlich sah.

Die Untersuchung gelegentlich an Ort und Stelle gewonnener Proben, sowie die täglich wiederholte Beobachtung des frischen Urins, zu der ich im Winter während vieler Wochen Gelegenheit hatte, zeigte, dass der frisch entleerte Harn sich von der Norm äusserlich nur durch einen eigenthümlich goldigen Farbenton unterschied und dass die Braunfärbung genau in der von den früheren Autoren beschriebenen Weise von den obersten, mit der atmosphärischen Luft in Berührung stehenden Schichten ausgehend nach abwärts fortschritt.

Durch Zusatz von Alkalien einerseits, durch Schütteln mit atmosphärischer Luft oder mit reinem Sauerstoff andererseits konnte die Braunfärbung momentan herbeigeführt werden.

Die weitere Untersuchung liess ein sehr bedeutendes Reduktionsvermögen des Harns erkennen. In Uebereinstimmung mit den Beobachtungen der früheren Autoren wurde ammoniakalische Silberlösung in der Kälte, alkalische Kupferoxydlösung beim schwachen Erwärmen reichlich reducirt.

Mit dem Nachweis der Verfärbung und der Reduktionsfähigkeit war unser Harn als Alkaptonharn gekennzeichnet. Es erübrigte die Feststellung der Natur des Alkaptons.

Zu diesem Zwecke wurde nach dem von Wolkow und Baumann angegebenen Verfahren der mit Schwefelsäure stark angesäuerte Harn mit grossen Quantitäten Aether wiederholt ausgeschüttelt, wobei, wie sich leicht zeigen liess, das Alkapton bis auf geringe, auch durch häufig wiederholtes Schütteln nicht zu extrahirende Mengen in das Aetherextract aufgenommen wurde. Nach dem Verjagen des Aethers blieb im Kolben eine syrupöse, braune, aromatisch riechende Masse zurück. Diese wurde in nicht zu geringer Menge Wasser gelöst und auf dem Wasserbade bis auf ca. 95° erhitzt, heiss mit einer concentrirten Lösung von neutralem essigsauren Blei versetzt und sogleich durch ein Faltenfilter filtrirt. Auf dem Filter blieben geringe Quantitäten eines braunen, flockigen, schmierigen oder krümeligen Niederschlages zurück, das Filtrat stellte eine klare, hochgelbe bis braune Flüssigkeit dar. In derselben schied sich beim Erkalten eine zuerst weisslich, später gelb bis braun gefärbte Krystallmasse ab, die nach 24 Stunden abfiltrirt und an der Luft getrocknet wurde. Durch Behandeln mit Schwefelwasserstoff und erneutes Fällen mit neutralem Bleiacetat liessen sich die Krystalle leicht reinigen; sie zeigten alsdann eine gelbliche Farbe, die sie in Uebereinstimmung mit den von Wolkow und Baumann gemachten Beobachtungen auch bei wiederholtem Umkrystallisiren nicht verloren.

Die Untersuchung der beschriebenen Substanz ergab, dass sie aus reinem homogentisinsäuren Blei bestand.

Der Schmelzpunkt lag bei 215° . Die Bestimmungen des Krystallwassergehaltes sowie des Bleies ergaben mit den berechneten Mengen gut übereinstimmende Resultate:

0,6438 gr. lufttrockenes Salz verloren bei 100° 0,058 gr. H_2O .

	Berechnet für	Gefunden:
	$C_{16}H_{14}O_5Pb + 3H_2O$:	
H_2O	= 9,08%	9,06%

Die bei 100° getrockneten Quantitäten der Substanz wurden für die Bleibestimmung verwandt.

0,3005 gr. wasserfreie Substanz ergaben 0,1507 gr. Bleisulfat, entsprechend 0,1029 gr. Pb.

	Berechnet für	Gefunden:
	$C_{16}H_{14}O_8, Pb:$	
Pb =	34,54 %	34,26 %

Die Untersuchung der aus dem Bleisalz durch Zersetzen mit Schwefelwasserstoff und Verdunsten der Lösung im Vacuum erhaltenen freien Säure ergab deren Identität mit der von Wolkow und Baumann beschriebenen Homogentisinsäure.

Die Säure krystallisirte in schönen prismatischen weissgelblichen Nadeln, die einmal bei Winterkälte in einer Länge von 1 cm. erhalten wurden. Der Schmelzpunkt lag bei 146—147°.

Die Säure löste sich leicht in Wasser, Alkohol und Aether. Die wässrige Lösung zeigte die bekannten Eigenschaften des Alkaptonharns.

Bei vorsichtigem Zusatz einer verdünnten Lösung von Eisenchlorid trat eine sofort wieder verschwindende, bei erneutem Zusatz des Reagens einige Male wieder auftretende und vergehende schöne Blaufärbung auf.

Diese Daten zeigen zur Genüge die Identität des bei unserer Patientin auftretenden Alkaptons mit dem bei ihrem Bruder entdeckten. Auch die quantitativen Verhältnisse der Ausscheidung, die bei anderer Gelegenheit eingehende Besprechung finden werden, unterscheiden sich nicht wesentlich von denen des Bruders.

Um die Natur der oben erwähnten aus dem Harn nicht zu extrahirenden geringen Mengen reducirender Substanz festzustellen, wurde der nach wiederholtem Schütteln mit Aether zurückbleibende stark saure Rückstand auf dem Wasserbade auf ein kleines Volum eingengt und von Neuem mit Aether geschüttelt. Es gingen jetzt neue Quantitäten des Alkaptons in den Aether über. Die gewonnene Substanz erwies sich als Homogentisinsäure.

Auf Grund dieser Erfahrung wurde der Versuch gemacht, den stark angesäuerten Harn vor dem Schütteln mit Aether einzudampfen. Das Resultat war ein durchaus befriedigendes. Vergleichende Untersuchungen, die in der Weise angestellt wurden, dass eine Hälfte einer Harnportion nicht eingedampft, die andere eingedampft mit Aether extrahirt wurde, ergaben, dass man ohne Verluste den angesäuerten Harn auf $\frac{1}{6}$ seines Volums concentriren darf. Der Vorzug dieses Verfahrens liegt bei der grossen Unbequemlichkeit der Verarbeitung grösserer Harnquantitäten auf der Hand. Wir haben im Laufe des Winters nach dem geschilderten Verfahren den während einer Woche gesammelten Urin, dessen Tagesmengen jeweils mit $\frac{1}{8}$ Volum verdünnter Schwefelsäure angesäuert wurden, mit sehr befriedigenden Ausbeuten an Homogentisinsäure verarbeitet.

Bei unseren immer wiederholten Untersuchungen vermochten wir niemals einen anderen, insbesondere einen dem alkalischen Harn durch Schütteln mit Aether zu entziehenden Körper nachzuweisen¹⁾.

Die Fäces waren bei der Frau, entsprechend den Befunden bei ihrem Bruder, soweit sie frei von beigemischtem Urin erhalten werden konnten, frei von reducirenden Substanzen.

Mit dem im Verlaufe weiterer Untersuchungen geführten Nachweise, dass auch bei unserer Patientin die Homogentisin-

¹⁾ Dagegen zeigte der Harn der Frau, so oft derselbe daraufhin untersucht wurde, ausser seinem Gehalt an Alkapton insofern noch eine weitere Anomalie, als er nur auffällig geringe Mengen von Harnsäure enthielt. Liess man den mit Salzsäure angesäuerten Harn stehen, so war eine Harnsäureausscheidung, wie sie bei normalen Urinen eintritt, überhaupt nie zu beobachten. Indess fehlte, wie sich auf andere Weise zeigen liess, die Harnsäure niemals vollständig, sondern war stets in quantitativ zu bestimmender Menge vorhanden. Die Untersuchungen über einen eventuellen Zusammenhang der Alkaptonurie mit dem Harnsäuremangel sind nicht abgeschlossen und werden in einer demnächst erscheinenden zweiten Abhandlung mitgetheilt werden. Nur so viel sei schon hier erwähnt, dass die Harnsäureabscheidung aus normalem Urin, wie sie nach dem Ansäuern desselben erfolgt, weder durch Zusatz von Alkaptonharn noch von Homogentisinsäure zu dem normalen Harn gestört wird.

säureausscheidung durch Zufuhr von Tyrosin enorm gesteigert wird, war der Beweis der völligen Identität der bei den beiden Geschwistern bestehenden Anomalien geliefert.

Ein besonderes Interesse erforderte jetzt das Verhalten des Urins der Verwandten des Geschwisterpaares.

Beide sind unverheirathet und haben keine directe Nachkommenschaft. Dagegen konnte der Urin von Seitenverwandten untersucht werden.

Die Geschwister entstammen einem ausserehelichen Verhältniss ihrer Eltern. Sie sind die einzigen daraus entsprungenen Kinder.

Sowohl die Mutter wie der Vater sind später Ehen eingegangen, aus beiden Ehen sind Kinder entsprossen.

Mir war zu eingehenderen Untersuchungen nur die einzige eheliche Tochter der Mutter unserer Geschwister, also deren Stiefschwester, erreichbar. Diese, eine verwittwete Frau M. mit mehreren, ca. 10—25jährigen, Kindern, bewohnt mit ihren beiden Stiefgeschwistern ein Haus. Es sei erwähnt, dass zur Zeit, als Frau M. geboren wurde, unsere Alkaptonpatientin noch im Hause ihrer Mutter anwesend war.

Später war sie, wie schon erwähnt, über 40 Jahre hindurch in den benachbarten Thälern bedienstet und ist erst seit einigen Jahren zu ihrer Stiefschwester gezogen. Ihr Bruder war lange Jahre in England, lebt jetzt aber seit über 20 Jahren im Hause seiner Stiefschwester, in welchem er also zur Zeit der Geburt von deren jüngeren Kindern anwesend war.

Sowohl die Stiefschwester wie deren Kinder entleeren einen vollkommen normalen Urin; auch früher haben sie an demselben niemals die charakteristischen Veränderungen des Alkaptonharns bemerkt.

Ich habe in der letzten Zeit Gelegenheit gefunden, auch von einer Tochter des Vaters unserer Patienten zu constatiren, dass dieselbe einen normalen Urin entleert. Dieselbe, die auf einem dem Wohnort ihrer Stiefgeschwister benachbarten Hofe geboren, jetzt in Freiburg als Krankenpflegerin thätig ist, gibt an, dass sie weder an sich, noch bei einem Mitglied ihrer

Familie — sie ist verheirathet und hat Kinder und Enkel — die auffallenden Erscheinungen der Alkaptonurie bemerkt habe.

Ein ebenso negatives Ergebniss hatte die Untersuchung des Urins von Bewohnern benachbarter Höfe; speciell möge erwähnt werden, dass bei einer Bewohnerin des Geburtshauses unserer Geschwister normales Verhalten des Urins constatirt werden konnte.

Das Geschwisterpaar steht also mit den beschriebenen Erscheinungen in seiner Familie und seiner Umgebung vollständig isolirt da.

Die Alkaptonpatientin fand durch das gütige Entgegenkommen von Herrn Geh.-Rath Professor Dr. Bäuml er während mehrerer Monate Aufnahme in der hiesigen Universitätsklinik, wodurch es mir ermöglicht worden ist, die Verhältnisse der Alkaptonausscheidung während längerer Zeit zu beobachten. Herrn Geheimrath Bäuml er bin ich hierfür und besonders für die mir ertheilte Erlaubniss, einige Stoffwechselversuche an der Patientin anstellen zu dürfen, zu ganz besonderem Danke verpflichtet.

Letztere wurden unternommen, um die Frage nach dem Orte der Entstehung der Homogentisinsäure weiter zu fördern. In einer folgenden Mittheilung werde ich über diese Beobachtungen eingehend berichten.
