

(Aus der Chemischen Abteilung des Pathologischen Institutes der Universität Berlin, Charité.)

Über den Kupfergehalt menschlicher Organe.

Von

Hans Kleinmann und Joachim Klinke.

(Eingegangen am 20. September 1929.)

I.

Die Untersuchungen, die sich hauptsächlich mit dem Kupfergehalt menschlicher Lebern beschäftigen, wurden in der Absicht begonnen, Beziehungen zwischen Kupfergehalt und krankhaften Veränderungen der Leber nachzugehen.

Von *Mallory*¹ ist als erstem angegeben worden, daß durch Kupferzuführung bei Kaninchen Krankheitsbilder erzielt wurden, die der menschlichen Hämochromatose nahestehen. Während aber bei der menschlichen Hämochromatose zwei verschiedene Pigmente auftreten, ein Eisenreaktion gebendes (Hämosiderin), das in fast allen Organen vorkommt, und ein nicht Eisenreaktion gebendes (Hämofuscin), das nur in der glatten Muskulatur auftritt, wird bei der experimentellen chronischen Kupfervergiftung allein Hämofuscin gefunden.

Mallory fand den Kupfergehalt von Lebern von Hämochromatosefällen nicht höher als den von Kontrollfällen, doch sind seine Werte schwankend und scheinen, zumal die Bestimmungsmethode nicht angegeben, nicht verwertbar.

Trotz der nicht völligen Gleichheit des experimentellen Krankheitsbildes mit der menschlichen Hämochromatose glaubt *Mallory* doch, diese als eine chronische Kupfervergiftung auffassen zu dürfen.

Diese Befunde erhielten neuerdings eine Stütze durch die Untersuchungen von *Schönheimer* und *Oshima*². Die Autoren untersuchten den Kupfergehalt normaler und pathologischer Organe und fanden bei 16 Fällen von Hämochromatose den Kupfergehalt der Leber etwa um das 3—4fache, zum Teil sogar um das 10—20fache ihrer Normalwerte erhöht. Sie lassen es dahingestellt, ob dieser Befund, sowie eine in Baden beobachtete Häufung der sonst so seltenen Hämochromatosefälle mit der Tatsache in Zusammenhang steht, daß die im Weinbau oder Weinvertrieb tätige Bevölkerung in andauernde Berührung mit zur Schädlingsbekämpfung dienenden Arsen-Kupferverbindungen kommt.

Die von uns in gleicher Richtung angestellten Versuche wären an sich noch nicht zu veröffentlichen, da von den bisher untersuchten Fällen krankhaft veränderter Lebern sich nur zwei Fälle als echte Hämochromatose erwiesen haben. Von diesen zeigte der Fall, der stärkere pathologische Veränderungen aufwies (s. w. u.), in Übereinstimmung mit den Angaben von *Schönheimer* und *Oshima* eine Erhöhung des Kupfergehaltes gegenüber den Normalwerten.

Bei der Prüfung nicht krankhaft veränderter Lebern aber, die zur Gewinnung eines Durchschnittswertes des Kupfergehaltes normaler Organe vorgenommen wurde, wurde ein so wesentlicher Unterschied in den Werten von Neugeborenen und Erwachsenen beobachtet, daß dieser Befund als vorläufige Mitteilung gegeben werden soll.

II.

Zur Bestimmung des Kupfers in Geweben werden in neueren Arbeiten entweder elektrolytische oder colorimetrische Methoden (als Sulfid, Ferrocyanid, Xanthat oder Rhodanid-Pyridinkomplex) angewendet. Eine Übersicht über die Methoden geben *Elvehjem* und *Lindow*³. Die von *Spacu*⁴, dann von *Biazzo*⁵ angegebene Reaktion zur Kupferbestimmung als Rhodanid-Pyridinkomplex in Chloroformlösung ist zuerst von *Schönheimer* und *Oshima*⁶ genau ausgearbeitet und beschrieben worden. Etwas später, aber unabhängig ist nahezu die gleiche Methode von *Elvehjem* und *Lindow*³ angegeben worden. Diese Methode zeigte sich bei Nachprüfung geeignet und empfindlich. Sie ließ sich jedoch durch Änderungen der Technik verfeinern. Vor allem wurde an Stelle der Chloroformlösung des gefärbten Komplexes ein höher siedendes Lösungsmittel, Brombenzol (Siedepunkt 156°), eingeführt. Hierdurch konnten Konzentrationsänderungen durch Verdunsten des Lösungsmittels bei der Messung vermieden werden. Auch wurde zur Vermessung ein empfindliches Mikrocolorimeter* angewendet.

Die von *Schönheimer* und *Oshima* angegebene Methode gestaltet sich mit unseren Modifikationen folgendermaßen:

Reagenzien.

1. Schwefelsäure, konz. pro analysi, Merck. Diese Schwefelsäure ist kupferfrei im Gegensatz zu anderen Fabrikaten, die sich als kupferhaltig erwiesen haben.
2. Salpetersäure rauchend, konz. pro analysi, Merck.
3. Ammoniumrhodanid, pro analysi, 10proz. Lösung.
4. Pyridin puriss.
5. Brombenzol. Bei 156° zu rektifizieren. Das erhaltene Präparat ist wasserklar und ohne jede Eigenfarbe.
6. Aqua dest. aus Jenaerglas zu destillieren. Gewöhnliches Aqua dest. ist kupferhaltig.
7. Kupfer-Standardlösung. 1,9635 g reines Kupfersulfat $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ werden in Aqua dest. (nach 6. destilliert) ad 100 ccm gelöst. Die Lösung enthält

* Schmidt und Haensch, Berlin, Prinzessinnenstr. 16.

5 mg Kupfer in 1 ccm. Aus dieser Lösung werden nach Bedarf Verdünnungen hergestellt.

Ein Blindversuch mit den Reagenzien allein darf keine Spur Kupfer aufweisen.

Apparate.

1. Bunsenbrenner aus Porzellan.
2. Wasserbäder mit aufgelegten und entsprechend ausgeschnittenen Zinkblechplatten zur Trocknung der Organe (in Petrischalen).
3. Zentrifugengläser von etwa 30 ccm Volumen mit eingeschliffenem Stopfen und passender Gummikappe an Stelle des Stopfens.
4. Mikrocolorimeter nach *Kleinmann*⁷ (*Schmidt* und *Haensch*, Berlin). Die Anwendung dieses Colorimeters gestattet Messungen mit 1 ccm Flüssigkeit bei 60 mm Schichthöhe mit einer Genauigkeit von nicht mehr als durchschnittlich 0,5% Meßfehler vorzunehmen.

Ausführung.

Die Untersuchungen wurden in einem abgeschlossenen Raum ausgeführt, in dem keinerlei andere chemische Untersuchungen vorgenommen wurden. Alle Kupferenteile, wie Wasserhähne usw., wurden entfernt oder, wenn dies nicht möglich war, mit Schellack überzogen.

Das Organmaterial (Leber) wurde möglichst frisch entnommen, wobei das Sektionsmesser vorher sehr sorgfältig zu reinigen und mit kupferfreiem Aqua dest. abzuspülen ist. Aus einer Organscheibe wird eine 20 g schwere Menge entnommen, von äußerlich anhaftendem Blut mit kupferfreiem Aqua dest. abgespült, in eine mit dem gleichen Wasser sorgfältig abgespülte Petrischale gebracht und möglichst fein zerkleinert. Darauf wird die Schale zur Trocknung der Substanz auf ein mit Zinkblecheinsatz versehenes Wasserbad gebracht. Nach 5—8 Stunden ist das Organmaterial trocken. Mit einem Glashäkchen werden die trockenen Substanzlamellen in einen vorher auf das sorgfältigste gereinigten Porzellanmörser überführt und darin sehr fein zerrieben.

Bei Untersuchung von Blut werden zur Entnahme Glasspritze und Kanüle einige Male mit kupferfreiem Wasser ausgespritzt. Das aus der Vene entnommene Blut wird in vorher gereinigte Petrischalen ausgegossen und darin wie oben getrocknet und weiterbehandelt.

Die zerriebene Substanz wird aus dem Mörser auf Uhrgläser gebracht und auf einem Glasgestell im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure etwa 48 Stunden bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Dann wird sie in Wägegläschchen überführt, aus denen durch Rückwägung eine genau gewogene Menge von 1—2 g in Kjeldahl-Kolben (100 ccm Vol.) gegeben wird. Zur Veraschung der Substanz wird 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure (Merck) hinzugegeben und der Kolben mit kleiner Flamme mittels Porzellanbrenner langsam erhitzt.

Nachdem die Entwicklung weißer Dämpfe beendet ist, wird tropfenweise aus einem Tropftrichter mit winkelig abgebogenem Abflußrohr konzentrierte rauchende Salpetersäure hinzugegeben. Im Laufe der Veraschung werden des weiteren noch 2 ccm H_2SO_4 und etwa 10—15 ccm konzentrierter rauchender HNO_3 zu jedem Kolben gegeben. Die vollkommene Veraschung dauert etwa $1\frac{1}{2}$ Stunden, nach welcher Zeit noch etwa 2— $2\frac{1}{2}$ ccm farbloser Flüssigkeit sich im Kolben befinden sollen. Die Schwefelsäure wird dann auf 1 ccm Volumen eingengt, wobei sich die Lösung durch ausfallende Sulfate stark trüben kann.

Die nach dem Einengen zurückbleibende farblose Flüssigkeit wird mit etwa 50 ccm Wasser in Bechergläser überführt und nach Zusatz einiger Glasperlen über dem Porzellanbrenner 10 Minuten lang gekocht. Die abgedampfte Wassermenge wird ersetzt, die ausgesunkenen unlöslichen Sulfate werden durch ein kleines,

quantitatives Filter abfiltriert, worauf das Filter sorgfältig mit kupferfreiem Wasser nachgewaschen wird.

Die vereinigten Filtrate werden zum Sieden erhitzt; dann wird etwa 10 Minuten lang Schwefelwasserstoff (3 Blasen pro Sekunde) eingeleitet. Die Lösung trübt sich dabei in wechselnder Stärke je nach dem Gehalt an Kupfer. Normale Organe bedingen gelbliche bis bräunliche, kolloidale Trübungen von Kupfersulfid, Organe mit mehr Kupfer verursachen einen bräunlich grünen oder schwärzlichen Niederschlag von Kupfersulfid. Nach Beendigung der Fällung wird der Inhalt der Bechergläser mit je 2 Tropfen einer sehr dünnen, wässrigen Bromlösung versetzt und kurz aufgekocht. Der dabei ausfallende Schwefel reißt alles CuS mit sich. Dann wird weiter 5 Minuten lang H_2S eingeleitet, worauf man die Flüssigkeit 24 Stunden stehenläßt.

Der CuS-Niederschlag wird durch Blauband-Filter (Schleicher und Schüll, 7 cm Durchmesser) abfiltriert. Solange sich im Filtrat nach Oxydation mit Salpetersäure noch Eisen mit Ammoniumrhodanid nachweisen läßt, wird das Filter mit H_2S -Wasser ausgewaschen. Erst wenn das Filtrat auch in dicker Schicht mit Ammoniumrhodanid keine Rotfärbung mehr zeigt, ist das Auswaschen des Niederschlags beendet.

Das noch feuchte Filter wird im Trichter mit einem Glashäkchen vorsichtig zusammengerollt und in ein Jenaer Reagensglas gebracht. 1 ccm konzentrierte Schwefelsäure und wenige Tropfen rauchende Salpetersäure werden hinzugesetzt. Das Filter wird vorsichtig über kleiner Flamme (Porzellanbrenner) unter ständiger Zugabe sehr kleiner Salpetersäuremengen verascht. Nach Zugabe weiterer Salpetersäure während der Veraschung wird die wasserklar gewordene Flüssigkeit unter ständiger Bewegung des Glases auf etwa 0,5 ccm Volumen über freier Flamme abgeraucht. Nach dem Erkalten werden 5 ccm Wasser zugesetzt, die zur Entfernung der Nitrosylschwefelsäure abgedampft werden. Dann wird die Lösung nach Zugabe von 5 ccm Wasser mit Ammoniak gegen Phenolphthalein neutralisiert und mit Schwefelsäure wieder gerade angesäuert.

Das Flüssigkeitsvolumen wird mit etwa der doppelten Menge Wasser in Zentrifugengläser (siehe Apparate 3) überspült und mit 3 ccm 10 proz. Ammoniumrhodanidlösung und 1 ccm Pyridin versetzt. Dabei pflegt bei normalem Organ ein zart grüner, wolkiger Niederschlag zu entstehen. Kupferreiche Organe bedingen dicke, grüne Wolken von Ammoniumrhodanid-Kupfer.

1 ccm Brombenzol wird langsam aus einer Meßpipette hinzugegeben, das Zentrifugenglas mit dem Glasstopfen verschlossen und die Mischung kurze Zeit stark geschüttelt. Hierbei entsteht eine grünlich gelbliche Emulsion, zu deren Trennung man die Flüssigkeit zentrifugiert. Nach etwa 5—10 Minuten langem Zentrifugieren bei etwa 2000 Umdrehungen, wobei die Glasstopfen auf den Zentrifugengläsern entfernt und diese mit Gummihütchen versehen werden, liegt die grün gefärbte untere Brombenzolschicht als klare Lösung vor.

Sollten sich nach dem Zentrifugieren am Grunde des Zentrifugenglases noch ungelöste, dunkelgrün gefärbte Teile des gebildeten Komplexsalzes finden, so genügt der weitere Zusatz von 1 ccm Pyridin, um alle noch ungelösten Teile in Lösung zu bringen.

Zur colorimetrischen Messung wird das *Kleinmannsche Colorimeter* (*Schmidt und Haensch, Berlin*) — hinsichtlich dessen Handhabung vgl.⁷ — benutzt. In den am oberen Ende kelchartig erweiterten Teil der Colorimeterbecher wird unmittelbar ohne Trichter ein quantitatives Filterchen von 4 cm Durchmesser gesetzt und mittels einer Capillarpipette mit genau 0,1 ccm Brombenzol sorgfältig befeuchtet. (Hierdurch filtriert später genau 1,0 ccm Brombenzollösung ab.) Dann wird mit einer selbst hergestellten capillar ausgezogenen Pipette von etwa 2 ccm

Volumen mittels eines aufgesetzten Gummihütchens das Brombenzol aus dem Zentrifugenglas aufgesogen. Ein geringes Mitnehmen wässriger Flüssigkeit aus dem Zentrifugenglas ist bedeutungslos, da in der Pipette sich das Brombenzol gegen die wässrige Schicht schnell absetzt. Das abpipettierte Brombenzol wird durch das Filterchen des Colorimetergefäßes unter Zurücklassung anhaftender Wasserspuren in das Colorimetergefäß klar filtriert.

Zum colorimetrischen Vergleiche werden Standardlösungen angewendet, deren Kupfergehalt möglichst dem der zu untersuchenden Lösung angeglichen werden soll. Die Lösung wird mit 3 ccm 10proz. Ammoniumrhodanidlösung und 1 ccm Pyridin versetzt, der entstandene Komplex in 1 ccm Brombenzol aufgenommen und genau so wie die zu untersuchende Lösung weiter behandelt. Die Lösungen sind, verschlossen aufbewahrt, haltbar. Die Messung entspricht dem üblichen colorimetrischen Prinzip.

Zur Prüfung des colorimetrischen Verhaltens der Brombenzollösung wird eine Reihe fallender Kupfermengen von 0,1—0,008 mg Cu colorimetrisch gemessen.

Tabelle 1.

Cu angewandt mg	Cu gefunden mg	Differenz mg Cu	Fehler %
0,1	0,099	—0,001	1,0
0,09	0,0907	+0,0007	0,8
0,08	0,0803	+0,0003	0,4
0,07	0,0709	+0,0009	1,3
0,06	0,0595	0,0005	0,8
0,05	0,0491	0,0009	1,8
0,04	0,0392	0,0008	2,0
0,03	0,0296	0,0004	1,3
0,02	0,0207	0,0007	3,5
0,01	0,0104	0,0004	4,0

Die durchschnittliche Abweichung betrug bei diesen Messungen 1,7%, ließ sich aber nach einiger Übung noch weit verringern.

Des weiteren wurden bekannte Kupfermengen analytisch so behandelt, als ob eine Organprobe zur Analyse vorgelegen hätte, d. h. es wurde der gesamte beschriebene Methodengang einschließlich Veraschung ausgeführt.

Tabelle 2.

Cu angewandt mg	Cu wiedergefunden mg	Differenz mg	Fehler %
0,10	0,103	+0,003	3,0
0,05	0,0499	—0,0001	0,2
0,05	0,0494	—0,0006	1,2

Die Abweichungen betragen im Durchschnitt nicht mehr als 1,5%.

Schließlich wurden die eigenen Kupferwerte zweier Lebern analysiert und die Bestimmungen wiederholt, nachdem dem Lebertrockenpulver eine Menge von je 0,1 mg Kupfer zugesetzt war.

Tabelle 3.

Nr.	Veraschte Menge Leber	Cu zugesetzt	Cu gefunden mg	Es sollten ge- funden werden mg	Verlust mg	Fehler %
1	1,225	—	0,0455	—	—	—
	2,444	0,1	0,178	0,191	0,013	6,8
2	2,606	—	0,127	—	—	—
	2,608	0,1	0,214	0,227	0,013	5,7
	1,423	0,1	0,163	0,169	0,006	3,6

Die Tabelle zeigt, daß nach Abzug des analysierten Eigengehaltes der Leber an Kupfer die zugesetzten Kupfermengen mit einem Fehler von 3,6—6,8% wiedergefunden wurden.

III.

Mit der im vorangehenden beschriebenen Methode wurden nun eine Reihe von Lebern nicht Leberkranker untersucht.

Über den Gehalt von Kupfer in Organen besteht eine große Reihe von Untersuchungen, von denen nur die Ergebnisse der neuesten Arbeiten gegenübergestellt werden sollen.

Rost und *Weitzel*⁸, die eine ausführliche Literaturzusammenstellung älterer Arbeiten geben, finden elektrolytisch Kupfer in Tierlebern (Hund, Pferd, Rind) in Mengen von 16,0—57,0, in einem Falle (Rind) 119,0 mg Cu pro Kilogramm Frischgewicht (in menschlichen Lebern 10,0—12,0 mg, d. h. umgerechnet bei ca. $\frac{2}{3}$ Wassergehalt rund 30—36 mg pro Kilogramm Trockengewicht).

*Bodanski*⁹ fand in Gehirnen von Erwachsenen pro 1000 g Frischgewicht Mengen von 3,6—6,0 mg Kupfer. Er verwandte die Methode von *Rose* und *Bodanski*¹⁰, die auf der colorimetrischen Bestimmung des blaugefärbten Cu-Ammoniakkomplexes beruht.

*White*¹¹ fand mit einer von ihm genau beschriebenen colorimetrischen Ferrocyanidmethode sowie mit einer colorimetrischen Methode der Kupferbestimmung als Sulfid in einer Reihe von Fällen Kupfermengen in der Leber von etwa 27—81 mg Kupfer pro Kilogramm Trockengewicht. Ein einzelner Fall von Sepsis wies einen Gehalt von 169 mg Cu auf. In der Niere werden im Durchschnitt 57,9, im Pankreas 55,4, in der Milz 77,8, im Herzen 36,5 und in Tumoren verschiedener Herkunft 79,7 mg Kupfer pro Kilogramm Trockengewicht angegeben. In der Kuhmilch wurden 3,5 mg pro Liter, d. h. 30,2 mg pro Kilogramm Trockengewicht gefunden. Im Harn wurden 0,015 und 0,2 mg Kupfer pro Liter beobachtet.

*Keilholz*¹², der Kupfer elektrolytisch bestimmte, gibt Mengen zwischen 1,5 und 4,1 mg Kupfer pro Kilogramm Frischgewicht in der Leber an. (Würde man diese Menge auf Trockensubstanz umrechnen bei rund

$\frac{2}{3}$ Wassergehalt, so ergäbe sich ein Kupfergehalt von 4,5—12,3 mg pro Kilogramm Trockensubstanz.) Im Herzen findet *Keilholz* 0,15—0,47 mg, im Blut 0,42—0,5 mg Kupfer pro Kilogramm Frischgewicht.

Hess, *Supplee* und *Bellis*¹³, die Kupfer colorimetrisch nach der Methode von *Supplee* und *Bellis*¹⁴ mittels Äthylxanthat bestimmten, finden in der Frauenmilch 0,4—0,61 mg Kupfer pro Liter; im Harn eines 3 Monate alten Kindes 0,06 mg Kupfer pro Liter. (Vgl. die Tatsache, daß Kinder etwa 3 mal so viel Kupfer ausscheiden mit den Ausführungen unter IV.) Ältere Kinder (2—3 Jahre) schieden 0,10 bis 0,14 mg Kupfer pro Liter aus.

*McHargue*¹⁵, der ebenfalls colorimetrisch mit Äthylxanthat arbeitete, findet in Vollmilch 2,59, in Magermilch 0,98 mg Kupfer pro Kilogramm Trockensubstanz. In einer Ochsenleber 50,0, in Pankreas 6,5, in Milz 16,6, in Blut 7,0 mg Kupfer pro Kilogramm Trockensubstanz.

Abderhalden und *Möller*¹⁶, die das Kupfer als Sulfid zur Wägung brachten, fanden in 1000 ccm Serum in 3 Fällen 1,85, 1,99 und 2,11 mg Kupfer, Zahlen, die den Werten von *Warburg* und *Krebs*¹⁷ entsprechen (die mit der sehr feinen gasanalytischen Methode von *Warburg*¹⁸ arbeiteten, die die katalytische Wirkung des Kupfers benutzt) und eine Menge von 1,7 mg Kupfer pro 1000 ccm Serum als Durchschnittswert in 12 Fällen fanden. *Warburg*¹⁹ gibt einen Wert von 1—2 mg pro 1000 ccm als Normalwert, *Krebs*²⁰, der mit der *Warburgschen* Methode arbeitete, findet den Kupferwert im Serum normaler, nüchterner Menschen, unabhängig vom Lebensalter und Geschlecht, zwischen 0,62 und 1,24 mg pro 1000 ccm schwankend, als Durchschnitt 0,91 mg. Einen gleichen Gehalt wiesen auch Sera von 26 Fällen verschiedener Erkrankungen auf, während bei Graviden (16 Fälle) die Kupfermenge gegenüber dem normalen Serum etwa auf das Doppelte erhöht (1,94 mg Kupfer pro 1000 ccm) gefunden wurde. Derartige Erhöhungen wurden auch bei verschiedenen Erkrankungen beobachtet.

Schönheimer und *Oshima*² gaben als Kupferwerte von 17 Fällen normaler Lebern Mengen zwischen 1,09—3,9 mg Kupfer pro Kilogramm Frischsubstanz an (d. h. etwa 3,27—11,7 mg Cu pro Kilogramm Trockensubstanz), während sie bei 16 Fällen von Hämachromatoseleber Werte zwischen 9,86—19,33 mg Kupfer pro Kilogramm Frischsubstanz (d. h. etwa 29,58—57,99 — im Durchschnitt 42,06 — mg Cu pro Kilogramm Trockensubstanz) und 63,29 und 32,41 mg Cu bei 2 Fällen, die unmittelbar auf Trockensubstanz bezogen wurden, beobachteten. Im Blute fanden sie in 3 Fällen 1,13, 1,21 und 1,44 mg Kupfer pro Kilogramm.

Es ist zu beachten, daß die „Normalwerte“ für Leber von *Schönheimer* und *Oshima*, abgesehen von den Werten von *Keilholz*, niedriger liegen (und ihre Grenzen enger sind) als die Werte anderer Autoren.

Elvehjem und *Lindow*³ finden in einer Ochsenleber mit der Rhodanid-Pyridin-Komplex-Methode 71 mg, mit der Xanthatmethode 66,0 mg Kupfer pro Kilogramm Trockensubstanz.

Hinsichtlich des Vorkommens des Kupfers in Gallensteinen vgl. *Meunier* und *St. Laurens*²¹, *Peel*²² sowie *Schönheimer* und *Oshima*².

Es wurden nun von uns eine Reihe von Lebern Nicht-Leberkranker mit der oben angegebenen Methode untersucht, um einen Durchschnittswert über den Kupfergehalt von Normallebern zu erhalten. Wir fanden folgende Kupfermengen.

Tabelle 4. *Kupfermengen, die in den nicht krankhaft veränderten Lebern Erwachsener gefunden wurden.*

Nummer	Alter und Geschlecht	Todesursache	Veraschte Menge Leber-trocken-pulver	Cu darin gefunden mg	mg Cu pro Gramm Trocken-substanz	mg Cu pro kg Trocken-substanz mg
1	70 Jahre ♂	Lungenembolie	1,225	0,0455	0,0371	37,1
2	30 „ ♂	Cystisches Gliom	2,606	0,127	0,0487	48,7
3	59 „ ♂	Lungensarkom	0,574	0,0133	0,0232	22,7
			1,282	0,0282	0,0221	
4	58 „ ♀	Bronchopneumonie	1,551	0,0408	0,0262	25,6
			2,283	0,0572	0,0250	
5	14 „ ♂	Phlegmone des l. Unterschenkels	1,291	0,0455	0,0361	36,7
			1,788	0,0669	0,0372	
6	42 „ ♂	Lungenemphysem	2,572	—	—	13,6
			3,041	0,0413	0,0136	
7	52 „ ♂	Herzschwäche	1,459	0,0289	0,0198	19,5
			1,920	0,0368	0,0192	
8	28 „ ♀	Lungentuberkulose	1,711	0,0698	0,0408	40,8
			2,021	—	—	
9	59 „ ♀	Nebennierengeschw.	1,689	0,0422	0,0249	24,5
			1,206	0,0290	0,0240	
10	66 „ ♂	Magencarcinom	2,474	0,0276	0,0111	11,8
			1,961	0,0246	0,0125	
11	38 „ ♀	Sarkom d. Beckens	2,760	0,0675	0,0244	24,6
			3,767	0,0685	0,0248	
12	72 „ ♂	Ca. d. lk. Schläfeng.	2,317	0,0582	0,0252	24,3
			2,943	0,0685	0,0233	

Aus dieser Tabelle geht hervor, daß die Werte zwischen 11,8 bis 48,7 mg Cu pro Kilogramm Trockengewicht schwanken, und daß im Durchschnitt 27,5 mg Cu pro Kilogramm Trockenleberpulver gefunden wurde. Die Werte stehen in guter Übereinstimmung mit den Angaben von *Rost-Weitzel* sowie von *White*, liegen aber höher als die für Normallebern angegebenen Zahlen von *Keilholz* und *Schönheimer-Oshima*.

Des weiteren wurden Blutproben Nicht-Leberkranker analysiert und folgende Kupfermengen gefunden.

Tabelle 5. *Kupfermengen im Blute Erwachsener.*

Nr.	Alter und Geschlecht	Erkrankung	Veraschte Menge Blut (trocken) g	mg Cu gefunden mg	mg Cu pro g Trockenblut	Cu pro 1000 ccm Frischblut mg
1	58 Jahre ♂	Magenkrebs	1,671	0,0142	0,00853	1,71
2	54 „ ♂	Magenkrebs	1,457	0,0102	0,00700	1,40

Diese Werte stehen in guter Übereinstimmung mit den Werten von *Schönheimer* und *Oshima* und decken sich auch ziemlich mit den Werten von *Abderhalden* und *Möller* für Serum; die Werte von *Warburg* und *Krebs* für Serum liegen etwas tiefer.

In der Herz- und Skelettmuskulatur wurden folgende Werte gefunden.

Tabelle 6. *Kupfermengen in Herz- und Skelettmuskulatur Erwachsener.*

Nummer	Alter und Geschlecht	Erkrankung	Veraschte Menge Herzmusk. (trocken) g	mg Cu gefunden mg	mg Cu pro g Trocken- substanz	pro kg Trocken- substanz mg
1	59 Jahre ♀	Magenkrebs	2,791	0,00613	Herz 0,00219	Herz 2,19
2	14 Jahre ♂	Perikarditis	2,413	0,00435	Skelettm. 0,00180	Skelettm. 1,80

Diese Werte liegen in der Größenordnung der Befunde von *Keilholz* (wenn man diese auf Trockensubstanz umrechnen würde), sind aber wesentlich kleiner als die Werte von *White*.

Schließlich wurden einige Fälle krankhaft veränderter Lebern untersucht, die bei der Sektion als Hämochromatosen aufgefaßt wurden.

Die Fälle 1 und 3, die gemäß dem Sektionsbefunde nicht als eigentliche Hämochromatosen angesprochen werden dürfen, zeigen Werte, die gegen die Norm nicht erhöht sind. Fall 2, der in die Gruppe der Hämochromatose gehört, dessen diesbezgl. anatomischen Veränderungen sich im wesentlichen aber auf den Darm beschränken, zeigt einen sehr niedrigen Cu-Wert.

Fall 4 aber, der eine zweifelsfreie Hämochromatose ist, zeigt einen gegen die Norm sehr stark erhöhten Kupfergehalt. Dieser Vergleich bezieht sich auf die von uns gefundenen Werte des Kupfergehalts normaler Lebern. Ein unmittelbarer Vergleich mit den Zahlen von *Schönheimer-Oshima* ist nicht möglich, da die von diesen Autoren als „erhöht“ angegebenen Werte (9,86—63,29 mg Cu) ungefähr in den Bereich der von uns gefundenen „Normalwerte“ (11,8—48,7 mg Cu) fallen.

Tabelle 7. Kupfermengen in krankhaft veränderten Lebern.

Nr.	Alter und Geschlecht	Sektionsbefund	g Leber ver- ascht	Cu darin gefunden mg	Cu pro g Trocken- substanz mg	Cu pro kg Trocken- substanz mg
1	42 Jahre ♂	<i>makroskop.:</i> Atypische Lebercirrhose m. starker Vergrößerung d. Leber. Braune Atrophie des Herzens <i>Mikroskop.:</i> Starke Vermehrung d. periportalen und interlobulären Bindegewebes mit Rundzelleninfiltration. Am Rande der Läppchen Eisen nachweisbar.	2,860 1,852	0,0246 0,0163	0,00860 0,00880	8,7
2	52 Jahre ♂	<i>makroskop.:</i> Großknotige Lebercirrhose mit zahlreichen regeneratiorischen Herden. Ausgedehnte Hämochromatose des Dünndarmes. <i>Mikroskop.:</i> Produktive Hepatitis mit ausgedehnter Zellinfiltration im interstitiellen Bindegewebe.	1,045 1,266	0,00407 0,00497	0,0039 0,0039	3,9
3	76 Jahre ♂	<i>makroskop.:</i> Mittelkörnige Lebercirrhose. Gerinigfüige Hämosiderose d. Milz. Braune Atrophie des Herzens. <i>Mikroskop.:</i> Vereinzelte Hämosiderose d. Kupfferschen Sternzellen	1,160 1,444	0,0209 0,0267	0,01806 0,01849	18,3
4	47 Jahre ♀	<i>makroskop.:</i> Atrophische Lebercirrhose mit fein- und mittelkörniger Höckerung d. Oberfläche. Ikterus d. Leber. Starke Hämochromatose d. Haut, bes. d. Gesichtes u. d. Brust. Starke Dünndarmhämochromatose. Hämosiderose d. Milz. <i>Mikroskop.:</i> Chronisch produktive Hepatitis, Gallengangswucherung, hochgrad. mitteltropfiger Fettablagerung in den Resten des Leberparenchyms.	1,366 1,607	0,184 0,210	0,135 0,131	133

IV.

Bei der Gewinnung von Werten über den Kupfergehalt von normalen Lebern wurde darauf geachtet, Lebern von Personen verschiedenen Alters zu analysieren. Es war beabsichtigt, einen „Durchschnittswert“ zu erhalten, und es wurde vermutet, daß mit zunehmendem Alter der Kupfergehalt der Leber entsprechend der Aufnahme des Metalles während des Lebens ansteigen würde. Als hierbei auch die Lebern von Frühgeburten bzw. von Neugeborenen und Säuglingen zur Untersuchung kamen, wurde beobachtet, daß diese einen ganz auffallend hohen Kupferwert aufwiesen.

Es wurden daher eine Reihe von Lebern von Neugeborenen und Kindern untersucht. Die Untersuchungen werden wiedergegeben in folgender Tabelle.

Tabelle 8. *Kupfermengen in Lebern Neugeborener und Säuglinge.*

Nr.	Alter und Geschlecht	Todesursache	Veraschte Menge Trockenleber g	mg Cu gefunden	mg Cu pro g Trockensubstanz	mg Cu pro kg Trockensubstanz
1	Totgeburt ♂	Kranioklasie	1,827 2,060	0,826 0,924	0,453 0,447	450,0
2	Totgeb. ♂	—	1,683 2,644	0,234 0,360	0,139 0,136	137,5
3	Totgeb. ♀	—	1,625 1,911	0,445 0,531	0,274 0,278	276,0
4	Totgeb. ♀	—	1,312 2,152	0,404 0,737	0,308 0,342	325,0
5	10 Min. ♂	Geburtstrauma	1,845 1,880	0,443 0,463	0,240 0,246	243,0
6	1 Stunde ♂	Asphyxie	1,058 1,510	0,357 0,508	0,338 0,336	337,0
7	14 Stunden ♀	Geburtstrauma	2,125 1,600	0,600 0,500	0,292 0,312	302,0
8	36 „ ♂	Asphyxie	1,373 2,051	0,356 0,522	0,260 0,255	257,5
9	1 ³ / ₄ Tage ♂	Geburtstrauma	0,832 0,566	0,329 0,228	0,396 0,403	399,5
10	2 Tage ♂	Frühgeburt, Gehirnblutung	1,606 1,907	0,483 0,570	0,306 0,299	302,5
11	3 Wochen ♂	Ikterus, Pneumonie	0,708 0,516	0,113 0,084	0,160 0,163	161,5
12	4 „ ♂	Pneumonie	1,348 2,235	0,231 0,368	0,171 0,165	168,0
13	13 „ ♀	Pneumonie, Meningitis	1,443 1,429	0,0172 0,0172	0,0119 0,0120	12,0
14	14 Monate ♀	Miliartuberkulose	1,706 1,951	0,0416 0,0470	0,0244 0,0241	24,3
15	2 Jahre ♀	Littlesche Krkht, Gehirnmißbildg.	1,065 0,995	0,02766 0,02675	0,0260 0,0268	26,4

Aus diesen Befunden geht hervor, daß Neugeborene bzw. nur wenige Tage oder Wochen alte Kinder gegenüber Erwachsenen einen wesentlich höheren Kupfergehalt der Leber besitzen. Betrachten wir die Fälle 1—12, so finden wir Kupferwerte zwischen 137,5—450 mg Kupfer pro Kilogramm Trockengewicht, wobei vermerkt werden muß, daß der verhältnismäßig niedrige Wert von 161,5 mg (Fall 11) einem schon 3 Wochen alten Kinde entspricht. Fassen wir nur die Fälle 1—10 zusammen, die Kinder bis zu einem Alter von 3 Tagen enthalten, so finden wir einen Durchschnittswert von 303 mg Kupfer pro Kilogramm Trocken-substanz. Dieser Wert stellt rund das 11fache des durchschnittlichen Normalwertes dar.

In den beiden Fällen von 3 und 4 Wochen alten Kindern finden wir Werte von 161,5 und 168,0 mg Kupfer pro Kilogramm Trocken-substanz, während bei den Fällen 15 und 16 bei Kindern zwischen 13 Wochen und 2 Jahren die Werte sich mit 12,0, 24,8 und 26,6 mg Kupfer pro Kilogramm Trockengewicht den Werten für Erwachsene annähern.

Um sicher zu sein, daß es sich bei dem hohen Cu-Gehalt der Organe tatsächlich um Organkupfer und nicht etwa um einen erhöhten Blut-kupfergehalt der stark mit Blut gefüllten Organe handelt, wurden Cu-Analysen vor und nach Durchspülung des Organes durchgeführt.

Hierzu wurde die Leber eines Neugeborenen vorsichtig im Ganzen entnommen. Dann wurde das Organ von der Arterie hepatica aus, sodann auch von den Nabelschnurgefäßen aus nach Einbinden einer Kanüle sehr sorgfältig mit kupferfreiem Wasser durchspült, bis die Spülflüssigkeit klar und ungefärbt ablief. Die gesamte Spülflüssigkeit wurde gesammelt und zur Trockne gebracht. Der Kupfergehalt des Trockenrückstandes (hauptsächlich Blutkupfer) wurde bestimmt, ebenso der Kupfergehalt des durchspülten Organes. Das Ergebnis zeigt Tab. 9.

Tabelle 9.

Todesursache	Veraschte Menge Trockenpulver der durchspülten Leber g	Gefundene Cu-Menge mg	Cu-Menge pro g Trocken- substanz mg	Cu-Menge pro kg Trocken- substanz mg
Frühgeburt ♂	0,797	0,412	0,517	516,0
Lues congenita	0,951	0,490	0,515	

Waschwasser:

Todesursache	Veraschte Menge getrockneter Durchspülungs- flüssigkeit g	Gefundene Cu-Menge mg	Cu-Menge pro g Trocken- substanz mg	Cu-Menge pro kg Trocken- substanz mg
Frühgeburt ♂	0,854	0,103	0,1206	120,6

Man sieht aus der Tabelle, daß der Cu-Gehalt der Spülflüssigkeit weit unter dem Cu-Gehalt des ausgewaschenen Lebermaterials liegt. Der Wert der Spülflüssigkeit ist weit höher als der des Blutkupfers, was sich zweifellos daraus erklärt, daß auch etwas Lebereiweiß in Lösung gegangen ist. Der Wert für das ausgewaschene Material ist höher als sonst in Lebern Neugeborener, was ja der Fall sein muß, da ja ein Material mit geringerem Cu-Gehalt durch das Waschen entfernt wurde. Hieraus folgt, daß es sich beim Kupfer in der Leber von Neugeborenen und Säuglingen tatsächlich um Organkupfer und nicht um Blutkupfer handelt.

Diese Befunde, die für menschliche Neugeborene noch nicht beobachtet waren, sind in Beziehung zu setzen zu anderen Beobachtungen, die an Tieren und Pflanzen hinsichtlich der Verteilung des Kupfers mit dem Lebensalter gemacht wurden.

Maquenne und *Demoussey*²⁰ fanden bei der Untersuchung von Vegetabilien, daß Kupfer in größter Konzentration stets in den jungen, zarten Trieben vorhanden ist.

*McHargue*¹⁷ (der auch darauf hinweist, daß Cu bei Pflanzen sich in besonders hoher Konzentration in Samenkörnern findet) konnte zeigen, daß bei einem totgeborenen Kalbe die Leber einen Kupfergehalt von 908 mg, bei einem 5 Tage alten Kalbe einen Gehalt von 400 mg pro Kilogramm Trockensubstanz aufwies, während in der Ochsenleber (wie oben angeführt) nur 50 mg Kupfer zu finden waren. Der Blutkupfergehalt des 5 Tage alten Kalbes entsprach mit 8,0 mg dem Blutkupfer des Ochsen von 7,0 mg.

*Bodanski*⁶ wies darauf hin, daß in einem Falle das Gehirn eines Fetus mit 6,8 mg mehr Kupfer aufwies als der höchste Gehalt (6,0) des Gehirnes eines Erwachsenen.

Auch die von *Krebs*¹⁹ beobachtete Erhöhung des Blutkupfergehaltes von Graviden, sowie der Befund eines verhältnismäßig hohen Kupfergehaltes der Milch sprechen für die Bedeutung des Kupfers in der ersten Lebenszeit.

Es kann somit geschlossen werden, daß das Kupfer für das intrauterine Leben, vielleicht auch für die allererste Lebenszeit von physiologischer Bedeutung ist.

Ob diese Bedeutung auf einer katalytischen Funktion des Kupfers, wie sie für Oxydationsprozesse bekannt ist, beruht, darf zurzeit nur vermutet werden.

Schrifttum.

¹ *Mallory*, J. med. Res. **42**, 461 (1920/21); vgl. auch ebenda **44**, 107 (1924) — Amer. J. Path. **1**, 118 (1925). — ² *Schönheimer* und *Oshima*, Hoppe-Seylers Z. **180**, 252 (1929). — ³ *Elvehjem* und *Lindow*, J. of biol. Chem. **81**, 435 (1928). —

- ⁴ Spacu, Chem. Ztbl. 1922 II., 737. — ⁵ Biazzo, Ann. chim. appl. **16**, 21 (1926). — ⁶ Schönheimer und Oshima, Hoppe-Seylers Z. **180**, 249 (1929). — ⁷ Kleinmann, Biochem. Z. **179**, 276 (1926). — ⁸ Rost und Weitzel, Arb. Reichsgesdh.amt **51**, 494 (1919). — ⁹ Bodanski, J. of biol. Chem. **18**, 360 (1921). — ¹⁰ Rose und Bodanski, J. of biol. Chem. **44**, 99 (1920). — ¹¹ White, Lancet **201**, Nr 14, 701 (1921). — ¹² Pharmaz. Weekbl. **58**, Nr 46, 1482 (1921). — ¹³ Hess, Supplee und Bellis, J. of biol. Chem. **57**, 725 (1923). — ¹⁴ Supplee und Bellis, J. Dairy Sci. **5**, 455 (1922). — ¹⁵ Mc. Hargue, Amer. J. Physiol. **72**, 583 (1924). — ¹⁶ Abderhalden und Möller, Hoppe-Seylers Z. **176**, 95 (1928). — ¹⁷ Warburg und Krebs, Biochem. Z. **190**, 143 (1927). — ¹⁸ Warburg, Biochem. Z. **187**, 255 (1927). — ¹⁹ Warburg, Klin. Wschr. **6**, Nr 23 (1927). — ²⁰ Krebs, Klin. Wschr. **7**, 584 (1928). — ²¹ Maquenne und Demousy, C. r. Soc. Biol. **170**, 87 (1920). — ²² Peel, Hoppe-Seylers Z. **167**, 250 (1927).
-