

2. Internationales Donausymposium über

# Diabetes mellitus

**Budapest, 24. - 26. Juni 1971**

Herausgeber  
I. Magyar u. A. Beringer

SEPARATUM



Verlag der Wiener Medizinischen Akademie

## Qualitative und quantitative Untersuchungen über die Porphyrinausscheidung im Harn der Diabetiker

H. Czitober, H. Deutinger-Skrube, W. Reiterer

Aus der Internen Abteilung und der Chemischen Abteilung des Paracelsus-Institutes in Bad Hall und der I. Medizinischen Universitätsklinik in Wien, Österreich

Die bisherigen Ergebnisse über das Ausmaß der Uroporphyrin- (Up) und Koproporphyrin- (Kp) Ausscheidung bei Diabetikern und Gesunden erscheinen auf Grund der eingesetzten unzureichenden Methoden, die auf einer Trennung in verschiedenen Lösungsmittel beruhen, von fraglichem Wert. Es interessierte daher mit verbesserten Methoden der qualitativen und quantitativen Dünnschichtchromatographie (DC) die Ausscheidung der Up (Octacarboxylporphyrin) und Kp (Tetracarboxylporphyrin) bzw. der sogenannten intermediären Porphyrine wie Hepta-, Hexa- und Pentacarboxylporphyrin zu überprüfen; dies insbesondere im Hinblick auf die Dauer der diabetischen Stoffwechselstörung und die Art der durchgeführten Therapie. Im Speziellen war abzuklären, ob beim Diabetiker, wie bisher angenommen, eine verstärkte sekundäre Koproporphyrinurie bestehe.

Zur Untersuchung gelangten je 100 ml Harn aus dem 24-Stunden-Sammelurin der Diabetiker und Kontrollpersonen am Beginn und Ende einer vierwöchigen Badekur. Für die qualitativen Untersuchungen erfolgte die Aufarbeitung nach Angaben von Chu et al. (1958), für die quantitativen Bestimmungen verwendeten wir eine Modifikation nach Doss (1969). Bei beiden Verfahren werden die Rohporphyrine als stabile Methylester gewonnen, in Chloroform gelöst und zur qualitativen und quantitativen Trennung auf DC-Fertigplatten Merck F 254 aufgetragen. Die eindimensionale DC erfolgte mit einem Gemisch von Benzol-Essigsäureäthylester-Methanol im Verhältnis 85 : 13,5 : 1,5 nach einstündiger Kammersättigung für die Dauer von 45 Minuten. Von den linear, entsprechend der Anzahl ihrer Carboxylgruppen im Molekül aufgetrennten, und im UV-Licht direkt darstellbaren Porphyrinen wurden die Up und Kp isoliert und nach viermaliger Waschung mittels 2 ml Chloroform-Methanolgemisch 1 : 1 aus dem Kieselsäuregel eluiert, mit Stickstoff getrocknet und als Kupferchelate spektrophotometrisch bei Wellenlängen von  $\text{nm}=399$  bzw.  $\text{nm}=405$  entsprechend ihren Absorptionsmaxima gemessen.

Insgesamt wurden 56 Diabetiker, davon 35 Männer und 21 Frauen, im Alter zwischen 50 und 80 Jahren, sowie 23 gesunde Kontrollpersonen im Alter von 25–70 Jahren untersucht. 17 Diabetiker wurden lediglich diätetisch behandelt, 30 Kranke erhielten orale Antidiabetika, davon 20 nur Sulfonylharnstoffderivate und 5 Patienten Biguanide; 5 Patienten nahmen Sulfonylharnstoff- und Biguanidderivate ein. 9 der untersuchten Diabetiker waren mit Insulin eingestellt, davon nahmen 3 zusätzlich Biguanide ein.

Bei qualitativer Prüfung schieden 34 von 56 Diabetikern unabhängig von der Erkrankungsdauer und der Therapie der diabetischen Stoffwechselstörung

lediglich Up und Kp im Harn aus, wie dies auch physiologischerweise bei stoffwechselgesunden Kontrollpersonen nachgewiesen werden konnte.

Von 8 Diabetikern wurden überdies die intermediären Porphyrine Hepta- und/oder Pentacarboxylporphyrin in geringen Mengen bis Spuren ausgeschieden, welche bei den gesunden Kontrollen dieser Untersuchungsreihe nicht beobachtet wurden.

Bei 7 der 56 Diabetiker fanden wir des weiteren eine Fraktion mit auffallend intensiv rotvioletter Eigenfarbe und einem Rf-Wert im Bereich der Hexacarboxylporphyrine (Abb. 1).

Diese chemisch unbekanntete Fraktion war unabhängig von der Erkrankungsdauer, der antidiabetischen Therapie und der zusätzlich verordneten Kurmittel und Medikamente wie Digitalis, Antihypertensiva, Saluretica und Vasodilantien nachzuweisen. Möglicherweise handelt es sich hierbei um einen Metall-Porphyrinkomplex ähnlich dem Waldenström-Porphyrin. Bei den Kontrollfällen war diese Fraktion niemals zu beobachten.

Die Porphyrinausscheidung im Harn konnte bei 43 Diabetikern quantitativ untersucht werden. Dabei wurde für Koproporphyrin (Kp) ein Mittelwert von  $24,5 \pm 15,9 \mu\text{g/l}$  und für Uroporphyrin ein mittlerer Wert von  $15,6 \pm 13,3 \mu\text{g/l}$  Harn errechnet.

Bei den Kontrollpersonen fand sich eine Kp-Ausscheidung von 1,3–71,0  $\mu\text{g/l}$  Harn, mit einem Mittelwert von 17,3  $\mu\text{g/l}$ , und ein Up-Gehalt zwischen 0–19,0  $\mu\text{g/l}$ , im Mittel 4,7  $\mu\text{g/l}$ .

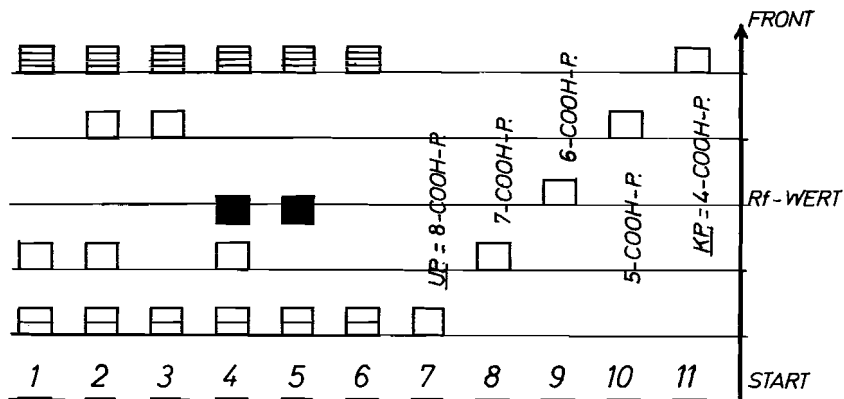
Bei den Kontrollpersonen verhielt sich demnach die Uroporphyrin- zur Koproporphyrin-Ausscheidung wie 1 : 3,7; bei den Diabetikern fanden wir mit 1,0 : 1,6 ein Verhältnis, welches auf eine Störung der physiologischen Uro- und Koproporphyrin-Ausscheidung hinweist.

Gliedert man die Gruppe der Diabetiker entsprechend ihrer verschiedenartigen antidiabetischen Therapie, so erkennt man, daß die Behandlung ohne Einfluß auf die Uro- und Koproporphyrinausscheidung blieb, wie dies die Tabelle zeigt (Tab. 1).

Diabetiker und Kontrollpersonen schieden im Mittel nahezu gleiche Mengen an Koproporphyrinen im Harn aus, hingegen fanden wir bei den Diabetikern eine auf das 2,6fache erhöhte Uroporphyrinausscheidung gegenüber den Kontrollfällen ( $p < 0,001$ ).

### **Zusammenfassung**

Die Porphyrine im Harn wurden bei 56 Diabetikern und 23 gesunden Kontrollpersonen nach dünn-schichtchromatographischer Trennung qualitativ und quantitativ bestimmt. 34 Diabetiker schieden bei qualitativer Prüfung lediglich Uro- und Koproporphyrin aus; in 8 Fällen waren die intermediären Porphyrine Heptacarboxyl- und/oder Pentacarboxylporphyrin, in 7 Fällen eine bisher nicht identifizierte Fraktion nachweisbar. Die quantitative Analyse ergab eine Erhöhung der Uroporphyrinausscheidung auf das 2,5fache, wogegen der Koproporphyringehalt im Harn der Diabetiker gegenüber den Kontrollpersonen nur geringfügig erhöht war:



1-5 ERGEBNISSE bei DIABETIKERN    6 KONTROLLPERSON  
7-11 KONTROLLSUBSTANZEN

Abb. 1

		Kopro-P.	Uro-P.
<b>KONTROLLEN</b>	$\bar{x} \pm s$	17.3 ± 20.4	4.7 ± 6.4
N = 23	Meßbereich	1.3 - 71.0 µg/l	0 - 19.0
<b>DIABETIKER</b>	$\bar{x} \pm s$	24.5 ± 15.9	15.6 ± 13.3
N = 43	Mb.	0 - 63.4	0 - 60.0
<i>diätet. Therapie</i>	$\bar{x} \pm s$	22.2 ± 11.7	15.7 ± 12.3
N = 14	Mb.	3.7 - 47.4	0 - 37.6
<i>orale Antidiab.</i>	$\bar{x} \pm s$	24.4 ± 24.4	15.7 ± 15.8
N = 21	Mb.	0 - 60.0	0 - 58.7
<i>Insulin</i>	$\bar{x} \pm s$	22.9 ± 10.9	14.5 ± 8.7
N = 8	Mb.	7.2 - 42.2	0 - 25.8

(Tab. 1).

### Literatur

- Chu, T. C., Chu, E. J. H.: *Analyt. Chem.* 30, 1678, 1958  
 Doss, M.: *Z. Klin. Chem. u. Klin. Biochem.* 7, 148, 1969  
 Formanek, I., Leodolter, I.: *Wien. Med. Wschr.*, 119, 153, 1969