

Einflüsse purinreicher Ernährung auf Gewichtsentwicklung, Kataboliten im Blutplasma und den Harnsäuretransport von Erythrozyten – eine Modellstudie an Hunden

D. Giesecke, P. Gallenmüller, W. Tiemeyer und J. Groppe

Institut für Physiologie, Physiologische Chemie und Ernährungsphysiologie, Universität München

Zusammenfassung: In einer Verträglichkeitsstudie erhielten 36 junge Hunde über 52 Wochen eine purinreiche oder purinarme Diät mit durchschnittlich 6 bzw. 80 mg Purin-N/MJ pro Tag bei gruppengleicher Aufnahme („paired feeding“). Die Hochpurin-Diät führte zu einer signifikanten Verminderung der Gewichtsentwicklung um –23 % (Beagles) bzw. –38 % (Dalmatiner) und der Futterverwertung (–29 bzw. –42 %) sowie zu einer signifikanten Erhöhung der Nüchternwerte von Allantoin, Harnsäure und Uracil im Blutplasma. Während der Versuchsdauer machte sich eine metabolische Adaptation an die Hochpurin-Diät mit signifikanter Erniedrigung von Harnsäure, Uracil und teils auch Allantoin im Plasma bemerkbar. Die Hochpurin-Diät bewirkte eine signifikante Zunahme der Km (2,6fach) und Vmax (1,6fach) des Harnsäuretransports durch die Erythrozytenmembran. Die Ergebnisse belegen nachteilige Effekte purinreicher Ernährung während der Jugendentwicklung.

Summary: In a nutritional tolerance study 36 young dogs were fed over 52 weeks high or low purine diets at an average paired feeding intake of 0.6 and 80 mg purine-N/MJ per day. The high purine diet resulted in a significant decrease of growth rate by –23 % (Beagles) and –38 % (Dalmatians) and of feed efficiency (–29 and –42 %). The fasting levels of allantoin, uric acid and uracil in blood plasma were significantly increased. During the experiment a metabolic adaptation to the high purine diet decreased the plasma concentrations of uric acid, uracil and in part of allantoin. The high purine diet effected a significant increase of Km (2.5-fold) and of Vmax (1.6-fold) of uric transport through the erythrocyte membrane. The results documented disadvantageous effects of high purine nutrition during juvenile development.

Schlüsselwörter: purinreiche Nahrung, Wachstum, Metaboliten, Harnsäuretransport, Hund

Key words: purine-rich diet, growth, metabolites, uric acid transport, dog

Einleitung

Wie aus dem Ernährungsbericht 1988 der Deutschen Gesellschaft für Ernährung hervorgeht, hat der Verzehr von Purinen von 1965/66 bis 1985/88

um 35 % zugenommen. Das ist deutlich mehr als bei anderen Nahrungsbestandteilen mit Problemcharakter wie Cholesterin (+29 %), Fett (+26 %), Zucker (+20 %) und Alkohol (+15 %). Schon 1973 hatten Untersuchungen an einem Normalkollektiv der süddeutschen Bevölkerung (15) eine Zunahme der Harnsäurekonzentration im Plasma von 24 % gegenüber 1962 ergeben. Am Purinverzehr sind vor allem Fleisch (insbesondere Innereien), Fisch, Getreideprodukte und Bier beteiligt.

Aus der berechneten Purinaufnahme kann nur näherungsweise auf die metabolische Verfügbarkeit und die Belastung mit Nahrungspurinen geschlossen werden. Die Verteilung auf RNA-Purine, schwer verfügbare DNA-Purine sowie leicht absorbierbare Purinnucleoside und freie Basen nimmt darauf Einfluß (3, 10, 14), ferner die Zubereitung purinhaltiger Nahrung (4). Nach Versuchen *in vitro* am Jejunum von Ratte und Maus (22, 23) werden Purine bereits während der Absorption aus dem Dünndarm weitgehend in Harnsäure transformiert. Endogen gebildete Harnsäure wird entgegen früheren Vorstellungen nicht in den Dünndarm sekretiert (2). Isotopenversuche am Menschen (19, 20) führten ebenfalls zu dem Schluß, daß Nahrungspurine bei der Absorption sehr weitgehend zu Harnsäure oxydiert und über die Nieren bzw. extrarenal eliminiert werden. Demgegenüber hatten Untersuchungen am Schwein (25) und an der Ratte (12) ergeben, daß RNA-N zu 30 % bzw. rund 50 % retiniert wird, was eine Umsetzung zu Harnsäure bei der Absorption aus dem Darm ausschließt. Möglicherweise haben dabei mikrobielle Transformationen von Purinen im Magen eine Rolle gespielt.

Um die Wirkung hoher Puringaben in der Nahrung im Tiermodell zu untersuchen, ist der Hund besser geeignet als Schwein oder Nager (9): Diese beherbergen in ihrem zusammengesetzten Magen eine reichhaltige Bakterienflora, die Nucleotide sehr schnell abzubauen vermag. Demgegenüber siedelt sich im Magen von Mensch und Hund keine Mikroflora an. Außerdem dürfte der Hund als Karnivore dem purinreich ernährten Menschen eher vergleichbar sein als das bei granivoren Arten der Fall ist, denn gut 60 % des Purinverzehrs stammen aus dem Fleisch. Hinsichtlich des Purinstoffwechsels trifft die Vergleichbarkeit in besonderer Weise für den Dalmatinerhund zu, der rassebedingt Purine nur teilweise bis zum Allantoin abbaut und rund 50–65 % als Harnsäure ausscheidet (1, 8).

In der Verträglichkeitsstudie, über die hier in Auszügen berichtet wird, erhielten Hunde über 52 Wochen pro Tier eine mittlere Tagesmenge an Purinen, die dem 0,6- bzw. fast 8fachen des mittleren täglichen Pro-Kopf-Verzehrs an Purinen der Bevölkerung des Bundesgebietes entsprach (6). Damit bot sich eine günstige Gelegenheit, den Einfluß von Nahrungspurinen auf Gewichtsentwicklung, Plasmakataboliten und – fußend auf früheren Ansätzen (33) – den Harnsäuretransport durch die Erythrozytenmembran ohne Überlagerung durch „humane Hyperurikämie“ zu untersuchen.

Material und Methoden

Versuchstiere

Die Versuche wurden an 36 weiblichen Hunden durchgeführt, die den Rassen Beagle ($n = 20$) und Dalmatiner (16) zugehörten. Die von anerkannten Züchtern

erworbenen Tiere waren zu Beginn des Hauptversuchs durchschnittlich 117 Tage (Beagle) bzw. 125 Tage (Dalmatiner) alt. Sie wurden auf Versuchs- und Kontrollgruppen so verteilt, daß 2 Gruppen mit je 10 Beagles bzw. 2 Gruppen mit je 8 Dalmatinern annähernd gleiche Mittelwerte von Lebendmasse, Lebensalter und ausgewählten Blutwerten aufwiesen. Wurfgeschwister wurden gleichmäßig auf Versuchs- und Kontrollgruppe verteilt. Einstellungsuntersuchung, Impfungen und Gewöhnung an die Haltungs- und Fütterungsbedingungen erfolgten in einer Vorperiode von 38 Tagen.

Fütterung

Die Tiere erhielten über 52 Wochen eine purinreiche Versuchsdiät bzw. eine purinarme Kontrolldiät in pelletierter Form (5 mm Durchmesser) über Futterautomaten nach einem „Paired-feeding“-System: Den Kontrollgruppen wurde die Futtermenge vorgelegt, welche die Versuchsgруппen am Tag zuvor ad libitum verzehrt hatten. Waren bei den Kontrollgruppen Futterrückwaagen zu verzeichnen, wurde umgekehrt verfahren. Damit waren gleiche Futteraufnahmen gewährleistet. Wasser stand zur freien Aufnahme zur Verfügung.

Tab. 1. Zusammensetzung der Diäten.

Komponenten	Purinreiche Diät g/kg	Purinarme Diät g/kg
Casein (Säure-C.)	—	250,0
SCP Probion ¹⁾	390,0	—
Weizenquellmehl	173,0	267,6
Haferflocken	170,0	170,0
Haferschalengrieß	50,0	50,0
Weizenkeime	25,0	25,0
Grünmehl	20,0	20,0
Blutmehl	20,0	20,0
Tierkörpermehl	10,0	10,0
Rindertalg	25,0	40,0
Fischöl	30,0	30,0
Sojaöl	10,0	10,0
Propylenglykol	30,0	30,0
DL-Methionin	1,5	1,5
Ca-Carbonat	35,5	12,0
Ca-Phosphat, dibas.	—	45,8
K-Phosphat, dibas.	—	7,8
Viehsalz	5,0	5,3
Magnesiumoxid	1,0	1,0
Vitaminvormischung ²⁾	2,0	2,0
Spurenelementvormischung ³⁾	2,0	2,0

¹⁾ Single Cell Protein Probion (Hoechst, Frankfurt).

²⁾ Vitaminvormischung enthält in 2 g (= pro kg Diät) mg: Retinol 3,0; Cholecalciferol 0,022; DL- α -Tocopherolacetat 24,0; Menadion 0,8; Thiamin 3,6; Riboflavin 4,8; Pyridoxin 2,0; Cobalamin 0,02; Biotin 0,06; Folsäure 0,12; Pantothenäure-Ca 12,0; Nicotinsäure 36,0; Cholin 300,0; Ascorbinsäure 60,0.

³⁾ Spurenelementvormischung enthält in 2 g (= pro kg Diät) mg: Fe (als Fumarat) 200; Zn (als Acetat \times 2 H₂O) 160; Mn (als Sulfat \times H₂O) 160; Cu (als Acetat \times H₂O) 24; J (als KJ) 5; Co (als Sulfat \times 7 H₂O) 2; Se (als Na-Selenit \times 5 H₂O) 1; F (als NaF) 10; Mg (als Oxid) 140.

Die Zusammensetzung der Diäten ist in Tabelle 1 wiedergegeben. Kriterien der Schmackhaftigkeit spielten nach früheren Erfahrungen bei der Auswahl und Zusammenstellung der Komponenten eine große Rolle. Die Diäten wiesen einen weitgehend übereinstimmenden Gehalt an Energie (20 MJ/kg), verdaulichem Protein (250 g/kg) und Rohfaser (21 g/kg), ferner an Ca und P (16,5 bzw. 11,5 g/kg) sowie an K und Na (4,6 bzw. 2,5 g/kg) auf. Die Zusammensetzung wurde während der 52 Wochen Versuchsdauer viermal anhand von Rohnährstoffanalysen kontrolliert. Besonders ist darauf hinzuweisen, daß die purinreiche Diät gegenüber der Kontrolldiät keinen nennenswerten Unterschied in der Aminosäurenzusammensetzung aufwies. Auffällig war lediglich ein geringerer Gehalt an Prolin (1,34 % gegenüber 3,18 %) sowie ein höherer Gehalt an Glycin (1,77/0,82 %) und Alanin (2,18/1,09 %).

Bestimmung der Purin- und Pyrimidinverbindungen und der Metaboliten

Der Gehalt dieser Verbindungen in den Diäten wurde nach enzymatischer Fraktionierung mittels Reversed-phase HPLC bestimmt (30). Zur Analyse im Blutplasma wurden Blutproben in der 7., 13., 19., 26., 39., 45. und 52. Woche nach Punktions der Unterarmvene in Na-Heparinat-Röhrchen aufgefangen und die gewonnenen Plasmaproben bis zur Analyse bei -18°C aufbewahrt. Im enteiweißten Plasma erfolgte die Analyse mittels Reversed-phase HPLC (31). Allantoin wurde mit dem gleichen Verfahren unter anderen Bedingungen gesondert gemessen (29).

Präparation der Erythrozyten

Zur Messung des Harnsäuretransports wurden die aus Nüchternblutproben abgetrennten Erythrozyten (s. o.) zweimal in Krebs-Ringer-Phosphatpuffer (33) mit einem Gehalt von 16,5 mmol Glucose/l gewaschen im Puffer resuspendiert und auf die normale Zelldichte eingestellt. Das pH-Optimum für Hunde-Erythrozyten betrug pH 7,3. Als Vitalitätskriterium diente der Trypanblau-Anschluß (21).

Messung des Harnsäuretransports

Der Transport von Harnsäure in die Erythrozyten wurde mittels der Zero-trans-Methode (Eilan u. Stein, 1974) unter Verwendung von ($2\text{-}^{14}\text{C}$) Harnsäure (Amersham-Buchler, Braunschweig) und der Zentrifugations-Filtrationsmethode bestimmt (18).

In 100 μl der Perchlorsäurephase erfolgte die Messung der ^{14}C -Aktivität (Tricarb 3385, Packard, Frankfurt). Die Geschwindigkeit der Urataufnahme wird als Zunahmerate der intrazellulären Harnsäurekonzentration pro Minute angegeben ($\mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). Der Extrazellulärraum der Erythrozyten wurde mit Inulinlösung (Inulin- ^{14}C -Carbonsäure, Amersham-Buchler, Braunschweig) bestimmt (34). Aus der Differenz zwischen Extrazellulärraum (^{14}C -Inulin) und Gesamtverteilungsraum ($^{3}\text{H}_2\text{O}$) ergab sich der Intrazellulärraum der Erythrozyten (24) der Tiere auf purinreicher und purinarmer Diät zu 414 ± 73 bzw. $446 \pm 70 \text{ ml/l}$ Suspension bei je 45 Messungen. Die Berechnung der Michaeliskonstante (Km) und der Maximalgeschwindigkeit des Transports (Vmax) erfolgten nach (17).

Statistische Methoden

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte mit Standardabweichungen ($\bar{x} \pm s$) wiedergegeben. Die Berechnung der Regressionen und Korrelationskoeffizienten (Pearson), der statistischen Gruppenunterschiede nach dem U-Test sowie von Unterschieden innerhalb der Gruppen nach dem Wilcoxon-Test für Paardifferenzen erfolgten nach (26). Die Kinetikdaten wurden auf einer Rechenanlage (Commodore cbm 3032) berechnet.

Ergebnisse

Die purinreiche Diät (Tab. 2) war vor allem durch ihren hohen Gehalt an Ribonucleinsäuren und Desoxyribonucleinsäuren gekennzeichnet. Freie Nucleoside lagen doppelt so hoch, freie Basen etwas niedriger als in der purinarmen Kontrolldiät. Durch die Rationsgestaltung und das „paired feeding“ konnte in den jeweiligen Vergleichsgruppen eine übereinstimmende Nährstoffaufnahme erreicht werden. Trotzdem kam es zu beträchtlichen Unterschieden in der Gewichtsentwicklung (Tab. 3). So bewirkte die purinreiche Diät bei der Beagle- wie bei der Dalmatinergruppe gegenüber purinärmer Ernährung eine um 23 bzw. 38 % verminderte Zunahme des Körpergewichts. In der Futterverwertung, deren Ermittlung wegen

Tab. 2. Purin- und Pyrimidinverbindungen in den Diäten.

Verbindungen	Purinreiche Diät g/kg	Purinarme Diät mmol/kg	Basen s. unten
Ribonucleinsäuren	27,0	2,3	a
Desoxyribonucleinsäuren	9,6	0,6	b
Nucleoside	2,0	1,0	c
Freie Basen, Oxyurine	0,6	1,0	d
Purine	53,8	4,1	
Pyrimidine	50,0	3,4	

Basenzusammensetzung in mol%, purinarme Diät in Klammern

- a) A 16 (25), G 34 (50), U 21 (25), C 29 (25)
- b) A 24 (10), G 27 (10), T 24 (10), C 27 (70)
- c) Ado 37, Guo 25, Ino 13, Urd 25 (100)
- d) U 25 (33), Hyp 25 (33), Xan 25 (33), Urat 25

Tab. 3. Einfluß purinreicher Ernährung auf die Gewichtsentwicklung und die Futterverwertung.

	Beagle		Dalmatiner	
	purinreich	purinarm	purinreich	purinarm
Tierzahl	10	9	6	8
Futterverzehr ^a	390	390	446	455
g/Tier und Tag	± 48	± 51	± 52	± 51
Purinaufnahme ^a	20,6	1,6	24,4	1,8
mmol/Tier und Tag	± 2,8	± 0,2	± 2,9	± 0,2
Gewichtszunahme ^b	6,7*	8,7*	6,5*	10,4*
kg/Tier	± 1,8	± 0,8	± 2,8	± 4,1
Futterverwertung ^b	82*	116*	75*	130*
g Zunahme/kg Futter				

^a Woche 1–51, ^b Woche 1–20 * p < 0,05

des im späteren Versuchsverlauf zurückgehenden Gewichtszuwachses auf die ersten 20 Versuchswochen beschränkt wurde, ergab sich für die Hochpurin-Gruppen ebenfalls ein auffälliger Rückstand (-29 bzw. -32 %). Dementsprechend unterschieden sich auch die Endgewichte der Tiere bei Versuchsabschluß. So erreichten die Beagle in Kontroll- und Versuchsgruppe im Mittel 16,1 bzw. 14,7 kg, die Dalmatiner 20,3 bzw. 16,7 kg.

Wie aus Tabelle 4 hervorgeht, wirkte sich die rund 13fach höhere Purinaufnahme im Mittel aller über 52 Versuchswochen verteilten Messungen im Blutplasma vor allem auf die Konzentration der Endprodukte Allantoin und Harnsäure aus – bei Dalmatinern rassebedingt insgesamt stärker als bei Beagles –, außerdem auch auf die Uracilkonzentration, die um 154 bzw. 60 % zunahm. Die Xanthingehalte waren bei purinreicher Ernährung ebenfalls erhöht (44 bzw. 29 %), allerdings nur bei der Dalmatinergruppe statistisch signifikant. Tendenzielle Zunahmen weisen Guanosin, Inosin und Cytosin auf.

Unterschiede in den Plasmakonzentrationen von Harnsäure und Allantoin bei den Hochpurin-Gruppen konnten auf Differenzen in der Purinaufnahme zurückgeführt werden. Die Gehalte von Harnsäure + Allantoin stiegen mit der Purinaufnahme exponentiell an von 115 µmol/l bei purin-

Tab. 4. Purine, Pyrimidine und Metaboliten im Blutplasma bei purinreicher und purinarmer Ernährung – Jahresmittelwerte¹⁾.

	Beagle purinreich (10) ²⁾	Beagle purinarm (9)	Dalmatiner purinreich (6)	Dalmatiner purinarm (8)
Konzentration im Plasma (µmol/l)				
Allantoin	158,7 ^a ± 41,1	103,6 ^b ± 19,8	134,8 ^c ± 33,8	52,1 ^d ± 11,8
Harnsäure	31,7 ^a ± 19,6	20,6 ^b ± 7,4	135,0 ^c ± 58,4	57,0 ^d ± 11,5
Guanosin	21,6 ± 6,9	19,3 ± 7,8	21,4 ± 7,3	18,7 ± 6,3
Xanthin	11,1 ± 7,8	8,6 ± 5,4	15,3 ^e ± 8,5	10,6 ^f ± 5,5
Uracil	6,9 ^{ac} ± 5,3	4,3 ^b ± 1,5	14,0 ^{cf} ± 9,1	5,5 ^d ± 1,5
Inosin	4,6 ± 4,4	4,2 ± 3,1	4,7 ± 3,4	3,9 ± 3,3
Hypoxanthin	2,0 ± 2,0	2,2 ± 2,1	2,9 ± 2,3	2,1 ± 1,9
Cytosin	0,9 ± 1,4	0	2,5 ± 2,7	0

¹⁾ Mittelwerte ($\pm s$) aus 7 Werten/Tier, 7.–52. Woche

²⁾ Tierzahl

^{a-f} Werte mit verschiedenen Buchstaben in derselben Zeile sind signifikant verschieden a-d ($p < 0,01$); e-f ($p < 0,05$).

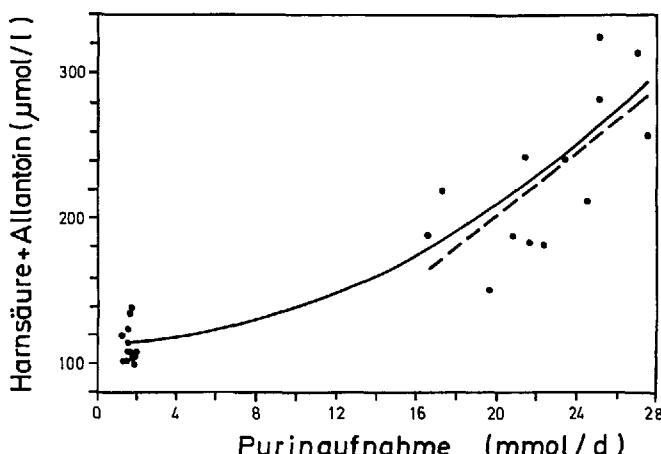


Abb. 1. Einfluß der Purinaufnahme auf die Konzentration von Harnsäure + Allantoin im Plasma $y = 114,08 + 0,068 x + 0,235 x^2$. Im Teilbereich von 16–28 mmol Purine/d besteht die lineare Beziehung (gestrichelt) $y = 14,013 + 10,812 x$; $r = 0,693$ $p \leq 0,01$ ($n = 13$).

ärmer Diät bis über 300 μmol bei einem Verzehr von 28 mmol Purinen/d (Abb. 1). Für den Bereich von 16–28 mmol Purine pro Tag wurde näherungsweise eine lineare Teilregression berechnet, die einen Korrelationskoeffizienten von $r = 0,653$ ($p < 0,01$) aufwies. Die Konzentration von Uracil im Plasma war nicht mit der Aufnahme von Pyrimidinverbindungen im Futter korreliert, wohl aber mit der Harnsäurekonzentration im Plasma. Die Beziehung folgte einer Exponentialfunktion (vgl. Abb. 2) mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = 0,898$. Der signifikante Anstieg der Ura-

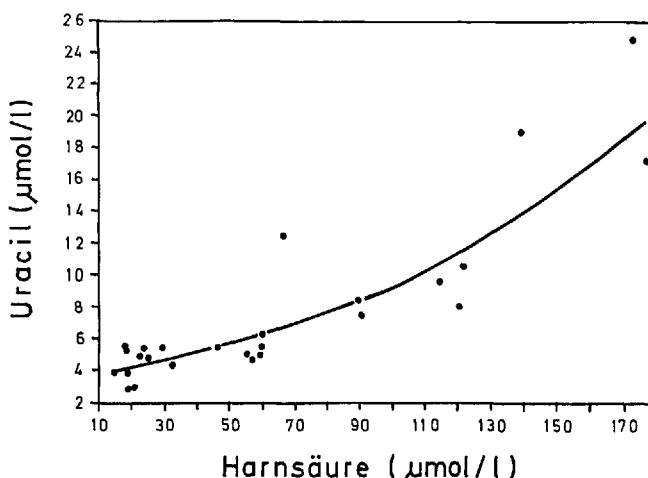


Abb. 2. Beziehung zwischen den Plasmakonzentrationen von Harnsäure und Uracil $y = 3,477 e^{0,0098x}$; $r = 0,898$ $p = 0,001$.

cilkonzentration im Plasma bei purinreicher Fütterung (Tab. 4) dürfte mit diesem Zusammenhang zu erklären sein.

Um mögliche Langzeiteffekte einer hohen Purinaufnahme deutlich zu machen, wurden unter Berücksichtigung einer mehrwöchigen Anpassungsphase die mittleren Konzentrationen der Plasmakataboliten in der 7.-19. und der 39.-52. Woche innerhalb der jeweiligen Gruppen miteinander verglichen. Dabei traten auffällige Veränderungen, insbesondere bei den Gruppen mit Hochpurindiät, zutage (Tab. 5 und 6): Bei einer Abnahme des Purinverzehrs von 13 % fielen die Spiegel von Harnsäure, teils auch von Allantoin und vor allem von Uracil wesentlich stärker ab. Die Zunahmen von Xanthin und partiell auch von Guanosin waren offenbar nicht – jedenfalls nicht direkt – ernährungsabhängig. Die entsprechenden Konzentrationen bei purinreicher Diät lagen anfangs niedriger oder nur wenig höher als bei purinarmer Diät. Demgegenüber lag der Erniedrigung von Harnsäure, Allantoin und Uracil offenbar eine langfristige Stoffwechseladaptation zugrunde.

Tab. 5. Langzeiteffekte auf Plasmametaboliten bei Beaglehunde.

Messungen	Purinreiche Diät			Purinarme Diät		
	Versuchswoche 7-19	39-52	Differenz %	Versuchswoche 7-19	39-52	Differenz %
Purinaufnahme						
mmol/d	22,0	19,1	-13	1,7	1,6	-6
Konzentrationen im Blutplasma (µmol/l)						
Allantoin	254,9**	179,8	-30	111,9**	90,5	-19
Harnsäure	36,2**	26,7	-26	21,2	21,6	+ 2
Guanosin	18,4**	23,6	+28	21,0	20,6	- 2
Xanthin	7,7**	12,3	+60	8,2**	10,3	+26
Uracil	7,9**	4,5	-43	5,2**	3,5	-33

** p < 0,01

Tab. 6. Langzeiteffekte auf Plasmametaboliten bei Dalmatinerhunden.

Messungen	Purinreiche Diät			Purinarme Diät		
	Versuchswoche 7-19	39-52	Differenz %	Versuchswoche 7-19	39-52	Differenz %
Purinaufnahme						
mmol/d	26,6	23,2	-13	2,0	1,7	-15
Konzentrationen im Blutplasma (µmol/l)						
Allantoin	144,9	122,1	-16	55,8*	48,1*	-24
Harnsäure	153,2*	109,1	-29	58,6	59,1	+ 1
Guanosin	14,5**	20,4	+41	21,9	20,8	- 5
Xanthin	12,5	15,3	+22	10,2**	12,5	+22
Uracil	16,8**	8,3	-51	5,9**	5,1	-14

* p < 0,05

** p < 0,01

Tab. 7. Einfluß der Ernährung auf den Harnsäuretransport der Erythrozytenmembran.

Transportparameter	Berechnung nach	purinreich (8) ^a	purinarm (9) ^a
Km (mmol · l ⁻¹)	Hofstee	9,8 ± 3,3**	3,7 ± 2,3**
	Eadie-Hofstee	10,1 ± 3,6**	3,9 ± 2,3**
Vmax (μmol · l ⁻¹ · min ⁻¹)	Hofstee	484 ± 176**	286 ± 86**
	Eadie-Hofstee	497 ± 190**	296 ± 89**

^a) Tierzahl (Dalmatiner + Beagles)

** p < 0,01

Der Einfluß purinreicher und purinärmer Ernährung auf den Harnsäuretransport durch die Erythrozytenmembran ist in Tabelle 7 anhand kinetischer Kriterien wiedergegeben. Dieses sind die Michaeliskonstante (Km), welche die für eine halbmaximale Transportrate erforderliche Substratkonzentration angibt, und die Maximalgeschwindigkeit des Transports (Vmax). Diese ist auf das Volumen des Intrazellulärraumes der Erythrozyten bezogen. Wie die Messungen ergaben, führte die purinreiche Diät zu einem Anstieg der Km auf das 2,6fache, was einer um diesen Faktor herabgesetzten Affinität des Transportsystems zum Substrat entspricht. Gleichzeitig war eine Zunahme der Vmax auf das 1,7fache zu verzeichnen, d. h. der Transportkapazität bei maximaler Sättigung des Transportsystems.

Diskussion

Die Bedingungen des vorliegenden Modellversuchs waren auf sehr hohe, langfristige Purinaufnahmen angelegt. Die im Mittel verabreichten Höchstmengen von 1600 mg Purin-N/d liegen in der gleichen Größenordnung wie hohe Gaben von 750–1500 mg Purin-N bei Versuchspersonen (16). Mit diesen nur einmaligen Gaben ließ sich ein positiver Effekt auf die Orotsäuresynthese nachweisen. Eine bessere Vergleichbarkeit der eigenen Dosierung mit der durchschnittlichen Purinaufnahme der Bundesbevölkerung wird durch Bezug auf die Energieaufnahme erreicht. Dann ergeben sich rund 6 bzw. 80 mg Purin-N/MJ pro Tag bei purinarm und purinreich ernährten Hunden gegenüber 14 mg Purin-N/MJ pro Tag als durchschnittliche Tagesaufnahme pro Kopf der Bundesbevölkerung – bei den Hunden auf Hochpurindiät ein rund 6fach höherer Verzehr.

Futterverwertung und Gewichtsentwicklung wurden bei purinreicher Fütterung offenbar in gleichem Maße herabgesetzt, was auf einen Zusammenhang hinweist. Bei Dalmatinern war der Effekt wegen der bekannten Probleme im Harnsäurestoffwechsel ausgeprägter. Bei Hunden dieser Rasse führte die freie Aufnahme solcher purinreicher Diäten zu einer signifikanten Verzehrsdepression (10). Dieser Nachteil wurde hier durch „paired feeding“ vermieden. Wie Untersuchungen an Ratten zeigten (35), bewirkt von einzeln verabreichten Purinen allein Adenin (22 mg Purin-N/d) eine signifikante Erniedrigung der Futteraufnahme und der Lebendmassezunahme, nicht hingegen Adenosin oder Guanin (27 bzw. 55 mg Purin-N/d). Allerdings beschränkten sich diese Beobachtungen auf 6 Tage. Die eigenen Befunde lassen wegen der stärkeren Reaktion der

Dalmatiner eher auf einen Effekt der Harnsäure schließen. Wie die noch 16 h nach der letzten Mahlzeit persistierenden hohen Plasmaspiegel von Allantoin und Harnsäure zeigen, kam es nicht nur zu einer kurzfristigen postprandialen Anflutung von Purinen, sondern zu einer permanenten metabolischen Belastung. Höchstwerte des Harnsäurespiegels bei Verabreichung einer Diät mit gleichem Puringehalt lagen bei Dalmatinern 5 h nach Futteraufnahme um 180 mmol/l Plasma (8). Bei normalem Puringehalt in der Nahrung werden Harnsäuregehalte im Plasma etwa wie bei Primaten (27) erreicht.

Die erhöhten Uracilwerte bei hoher Purinaufnahme dürften eine Erklärung darin finden, daß Uracil und Harnsäure an den Membranen der Leberzellen (32) wie auch der Erythrozyten (33) um dasselbe Transportsystem konkurrieren, weil der uratspezifische Carrier fehlt (11). Die Beziehung in Abbildung 2 und die starke Abnahme des Uracilspiegels im Plasma zusammen mit dem Uratspiegel nach langzeitiger Adaptation an hohe Puringaben (Tab. 5 u. 6) weisen ebenfalls auf einen derartigen Zusammenhang hin. Guanosin und Xanthin scheinen sich ernährungsunabhängig zu verändern. Beim Xanthin mag die im fortgeschrittenen Alter verminderde Bewegungsaktivität der Tiere entsprechend Beobachtungen an Versuchspersonen in Ruhe und bei Arbeitsbelastung (28) eine Rolle gespielt haben.

Besonderes Interesse verdient der Langzeiteffekt hoher Purinaufnahmen auf Parameter des Harnsäure-Transports durch die Erythrozytenmembran. Frühere Messungen an Erythrozyten von Dalmatinern und Beagles bei normaler Fütterung (33) hatten für den Harnsäuretransport eine mittlere Km von 6,6 mmol und eine Vmax von $389 \mu\text{mol} \cdot \text{l}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ergeben, also Werte, die zwischen den bei geringer und hoher Purinaufnahme erhaltenen liegen. Nach neueren Befunden (5) weist die Erythrozytenmembran von 30 d alten Säuglingen je nach Nucleotidgehalt der Nahrung deutliche Unterschiede im relativen Gehalt an $\omega 6$ - und $\omega 3$ -Fettsäuren mit mehr als 18 C-Atomen auf. Derartige Einflüsse mögen auch die in den eigenen Untersuchungen gefundenen Unterschiede der Parameter des Harnsäuretransports in den Erythrozyten bewirkt haben.

Insgesamt ist festzustellen, daß diese wie auch frühere Untersuchungen mit purinreichen Diäten an Hunden keine toxischen Effekte ergaben und die Nährstoffversorgung der Versuchs- und Kontrollgruppen in diesem Langzeitversuch weitgehend gleich war. Demzufolge wird die starke Wachstumsdepression der purinreich gefütterten Gruppe dem hohen Gehalt an Nucleinsäuren und insbesondere der dadurch bedingten hohen Purinaufnahme zugeschrieben. Somit kann eine längerfristig hohe Purinaufnahme mit der Nahrung insbesondere im Wachstumsalter zu nachteiligen Wirkungen führen, selbst wenn die Harnsäurekonzentration im Blutplasma die für den Menschen bekannten kritischen Werte noch weit unterschreitet.

Literatur

1. Benedict SR (1916) Uric acid in its relation to metabolism. Harvey lect 11:346
2. Bronk JR, Shaw MI (1986) The transport of uric acid across mouse small intestine in vitro. J Physiol 378:229

3. Colling M, Wolfram G (1987a) Bestimmung von purinhaltigen Verbindungen und Purinbasen in Lebensmitteln. Z Lebensm Unters Forsch 185:288
4. Colling M, Wolfram G (1987b) Zum Einfluß des Garens auf den Puringehalt von Lebensmitteln. Z Ernährungswiss 26:214
5. De Lucchi C, Pita ML, Faus MJ, Molina JA, Mauy R, Gil A (1987) Effects of dietary nucleotides on the fatty acid composition of erythrocyte membrane lipids in term infants. J Pediatr, Gastroenterol and Nutr 6:568
6. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (1988) Ernährungsbericht 1989. Dt Ges f Ernährung eV, Frankfurt/M
7. Eilam Y, Stein WD (1974) Kinetic studies of transport across red blood cell membranes. Meth Membr Biol 2:283
8. Gaebler S, Maier J, Tiemeyer W, Giesecke D (1981) Über den Einfluß von Diäten mit definiertem Nucleinsäuren- und Puringehalt auf den Harnsäurespiegel im Blutplasma von Dalmatiner-Hunden. Zbl Vet Med A 28:494
9. Giesecke D (1986) Species differences relevant to nutrition and metabolism research. In: Dietze G, Grünert A, Kleinleger G, Wolfram G (eds) Clinical nutrition and metabolic research. Karger, Basel, S 311–328
10. Giesecke D, Gaebler S, Tiemeyer W (1982) Purine availability and metabolism in dogs fed single-cell protein or RNA. J Nutr 112:1822
11. Giesecke D, Kraft W, Tiemeyer W (1985) Warum Dalmatiner Harnsäure ausscheiden. Ursachen und Folgen einer klassischen Stoffwechselanomalie. Tierärztl Prax 13:331
12. Greife HA, Gerhardy H, Grauer W, Molnar S (1984a) Untersuchungen an wachsenden Ratten zum nutritiven Wert alimentärer Ribonucleinsäure und ihrer Nucleoside bei defizitärer Versorgung mit nicht essentiellem Aminosäuren-N. 2. Einfluß von Hefe-RNS auf die Zusammensetzung des Körpermassezuwachses und den N-Stoffwechsel. Zbl Vet Med A, 31:454
13. Greife HA, Höper D, Molnar S (1984b) Untersuchungen an wachsenden Ratten zum nutritiven Wert alimentärer Ribonucleinsäure und ihrer Nucleoside bei defizitärer Versorgung mit nicht essentiellem Aminosäuren-N. 3. Einfluß der Purinnucleoside Adenosin und Guanosin auf die Zusammensetzung des Körpermassezuwachses und den N-Stoffwechsel. Zbl Vet Med A, 31:467
14. Griebsch A, Kaiser W (1976) Einfluß exogener Purine auf den Harnsäurestoffwechsel. In: Zöllner N, Gröbner W (Hrsg). Gicht, Springer-Verlag, Berlin, S 123–138
15. Griebsch A, Zöllner N (1973) Normalwerte der Plasmaharnsäure in Süddeutschland. Vergleich mit Bestimmungen vor zehn Jahren. Z Klin Chem Klin Biochem 11:346
16. Gröbner W, Zöllner N (1983) Der Einfluß von Nahrungspurinen und -pyrimidinen auf die Pyrimidinsynthese des Menschen. Klin Wochenschr 61:1191
17. Hofstee BHJ (1959) Non-inverted versus inverted plots in enzyme kinetics. Nature 184:1296
18. Klingenberg M, Pfaff E (1967) Means of terminating reactions. In: Estabrook RW, Pullman ME (eds) Methods in enzymology Vol X, Acad Press, New York, pp 680–685
19. Löffler W, Gröbner W, Medina R, Zöllner N (1982) Influence of dietary purines on pool size, turnover, and excretion of uric acid during balance conditions. Isotope studies using ¹⁵N-uric acid. Res Exp Med (Berl) 181:113
20. Löffler W, Zöllner N (1982) Bestimmung der endogenen Harnsäuresynthese unter oraler Purinzufuhr mittels ¹³C-Harnsäure und ¹⁵N-Glycin. Verh Dt Ges f innere Medizin 88:708
21. Natt MP, Herrick CA (1952) A new blood diluent for counting the erythrocytes and leucocytes of the chick. Poultry Sci 31:735

22. Parson DS, Shaw MI (1983a) Application of high performance liquid chromatography to study transport and metabolism of nucleic acid derivatives by rat jejunum in vitro: endogenous washout. *Quart J Exp Physiol* 68:39
23. Parson DS, Shaw MI (1983b) Use of high performance liquid chromatography to study absorption and metabolism of purines by rat jejunum in vitro. *Quart J Exp Physiol* 68:53
24. Reeves JP (1975) Stimulation of 3-O-methylglucose transport by anaerobiosis in rat thymocytes. *J Biol Chem* 250:9413
25. Roth FX, Kirchgeßner M (1978) N-Verwertung alimentärer Ribonucleinsäure beim Ferkel. *Z Tierphysiol, Tierernährg u Futtermittelkde* 40:315
26. Sachs L (1972) Statistische Auswertungsmethoden. 3 Aufl. Springer-Verlag, Berlin
27. Schreiber G (1984) Purinmetabolite im Serum verschiedener Primaten. Inaug-Diss med vet, Univ München
28. Sutton JR, Toens CJ, Ward GR, Fox IH (1980) Purine metabolism during strenuous muscular exercise in man. *Metabolism* 29:254
29. Tiemeyer W, Giesecke D (1982) Quantitative determination of allantoin in biological fluids by reversed-phase high-pressure liquid chromatography. *Anal Biochem* 123:11
30. Tiemeyer W, Erbersdobler H, Giesecke D (1981a) Charakterisierung der Nucleinsäurenfraktion und Aminosäurenmuster in Einzellerproteinen als potentielle Nahrungsmittel. *Z Lebensm Unters Forsch* 173:301
31. Tiemeyer W, Gaebler S, Giesecke D (1981b) HPLC-Analytik von Nucleinsäuren in Nahrungsmitteln sowie von Nucleinsäuremetaboliten in Stoffwechseluntersuchungen. *Landw Forsch Sonderh* 38:441
32. Tiemeyer W, Giesecke D (1986) unveröffentlicht
33. Tiemeyer W, Hoferer K, Giesecke D (1986) Uric acid uptake in erythrocytes of Beagle and Dalmatian dogs. *Comp Biochem Physiol* 85A:417
34. Umbreit WW, Burris RH, Stauffer JF (1972) Manometric and biochemical techniques. 5th ed Burgess Publ Co, Minneapolis, p 146
35. Wohlkneiter RM, Marz R, Graff JC, Plagemann PGW (1976) The application of rapid kinetic techniques to the transport of thymidine and 3-O-methylglucose into mammalian cells in suspension culture. *J Cell Physiol* 89:605
36. Yokozawa T, Oura H, Okada T (1982) Metabolic effects of dietary purine in rats. *J Nutr Sci Vitaminol* 28:519

Eingegangen 8. März 1990

Für die Verfasser:

Prof. Dr. D. Giesecke, Institut für Tierphysiologie, Veterinärstraße 13, 8000 München 22