Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 105 (1963)

Heft: 10

Artikel: Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

Autor: Gerber, Heinz

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-592140

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 13.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweizer Archiv für Tierheilkunde

Herausgegeben von der Gesellschaft Schweizerischer Tierärzte

Band 105 · Heft 10 · Oktober 1963

Aus der veterinärmedizinischen Klinik der Universität Bern
(Prof. Dr. W. Steck)

Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

Von Heinz Gerber

Inhaltsübersicht

1. Einleitung
2. Allgemeine Gesichtspunkte zur Methodik
3. Einheiten
4. Abkürzungen
5. Einteilung der Serumenzyme
   a) plasmaspezifische Enzyme
   b) plasmaunspezifische Enzyme
      Exkretfermente
      organspezifische Fermente
      ubiquitäre Fermente
6. Abriß der heutigen Kenntnisse von Biochemie und Biologie der Serumenzyme
   a) Synthese
   b) Abbau
   c) Elimination aus dem Serum
   d) Mechanismen des Fermentaustritts aus den Zellen
   e) Physik der Serumenzyme
   f) Bestimmung des Ursprungs der Serumenzyme
      Heterogenität der Enzyme
      Enzymmuster
   Zusammenfassung
7. Literatur

I. Allgemeine Einführung[1]

1. Einleitung

In der Humanmedizin werden Aktivitätsbestimmungen einzelner Serumenzyme seit ungefähr fünfzig Jahren diagnostisch verwertet. Weite Verbreitung und größere Bedeutung erlangte die Enzymologie in der klinischen

[1] In einem II. und III. Teil soll über die klinische Anwendung und über eigene Untersuchungen von Serumenzymen berichtet werden.

Diagnostik aber erst mit der Mitteilung von LaDue, Wroblewski und Karmen [191], daß die Serumaktivität der Glutamat-Oxalacetat-Transaminase bei Myokardinfarkten erhöht sei. Seither wurde durch methodische Modifikationen, durch die Bestimmung neuer Enzyme und durch die diagnostische Verwertung bestimmter biochemischer Eigenschaften der Fermente eine Verbesserung der Signifikanz und Spezifität der Resultate angestrebt. Wiewohl unbestritten feststeht, daß die Enzymologie sich einen festen Platz in der klinischen Diagnostik menschlicher Krankheiten errungen hat, läßt sich doch beim Studium der Literatur unschwer sehen, daß auch dieses diagnostische Hilfsmittel nicht immer zu befriedigen vermag. Die Verwendung von Serumenzymbestimmungen in der Veterinärmedizin befindet sich im Anfangsstadium ihrer Entwicklung, so daß es schwerhält, ihren Wert zu beurteilen. Nachdem aber verschiedene Veröffentlichungen zu diesen Problemen erschienen sind, die auf rein empirisch gewonnenen Grundlagen zum Teil weitgehende diagnostische Folgerungen enthalten, scheint es angezeigt, über den heutigen Stand der Kenntnisse zu orientieren und auch vor einem verfrühten und unangebrachten Enthusiasmus [363] zu warnen.

Die verarbeitete Literatur ist am Schluß der einzelnen Teile zusammengestellt. Einen Anspruch auf Vollständigkeit erheben die Literaturübersichten nicht; wir haben uns bemüht, Publikationen aus der Humanmedizin zu berücksichtigen, die als Wegweiser für entsprechende Arbeiten beim Tier dienen könnten, und wir suchten vor allem das zugängliche veterinärmedizinische Schrifttum einigermaßen zu erfassen.

2. Allgemeine Gesichtspunkte zur Methodik

Enzyme sind Katalysatoren biochemischer Reaktionen. Ihre Konzentration in biologischen Medien wird für die klinische Routine ausgedrückt in Aktivitätseinheiten, wobei angenommen wird, daß Menge und Aktivität eines Enzyms unter bestimmten Bedingungen sich proportional verhalten. Diese Annahme ist einigermaßen zutreffend unter folgenden Voraussetzungen:

Die Messung von Enzymaktivitäten soll, wenn die Natur der betreffenden Reaktion das erlaubt, erfolgen bei Substratsättigung, optimalem pH, konstanter Temperatur von 25°C und bei optimaler Konzentration der benötigten Kofaktoren. Unter diesen Umständen sind Anfangsgeschwindigkeit und Maximalgeschwindigkeit des Reaktionsablaufs gleichzusetzen. In der Anfangsphase der Reaktion darf die Hemmung durch Substratabnahme, durch Anhäufung von Reaktionsprodukten und durch Inaktivierung der Enzyme vernachlässigt werden. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist dann von der Substratkonzentration unabhängig (Reaktion nullter Ordnung) und der Enzymkonzentration einfach proportional ($\pm$ = Enzymaktivität, siehe dazu [303]). Im allgemeinen wird aus diesen Gründen die Messung der Anfangsgeschwindigkeit bei Substratsättigung für alle optischen Bestimmungsverfahren als Methode der Wahl angesehen [152]. Man muß sich aber ver-

gegenwärtigen, daß die beschriebenen Meßbedingungen völlig unphysiologisch sind [142] und Schlüsse auf kausale Zusammenhänge zwischen Laborbefund und organischen Vorgängen nur sehr vorsichtig gezogen werden dürfen.

Der in der Klinik übliche Begriff der Enzymaktivität ist nicht identisch mit der eigentlichen, spezifischen Aktivität eines definierten Enzyms. Die spezifische Aktivität von Reinenzymen ist gleich der Aktivität pro Gewichtseinheit Enzym. Die spezifische Aktivität von Enzymen aus Organextrakten ist gleich der Aktivität pro Gewichtseinheit löslichen Proteins. Auf die Berechnung der spezifischen Aktivität kann in der Klinik verzichtet werden; sie hat keine praktische Bedeutung erlangt.

Die Mehrzahl der Methoden zur Messung von Enzymaktivitäten läßt sich auf den optischen Test nach Warburg [319, 321] zurückführen, durch den alle Enzyme, die direkt oder indirekt mit Pyridinnukleotid reagieren, erfaßt werden können. Indirekt reagierende Enzyme machen die Einbeziehung eines zweiten oder eventuell mehrerer Enzymhilfssysteme bekannter Aktivität nötig (zusammengesetzter optischer Test). Die Methoden, die nach dem Prinzip des optischen Tests arbeiten, analysieren die Funktion der Enzyme, indem sie die quantitative Bestimmung entweder des Substratabbaus oder der Bildung eines Reaktionsprodukts mit optischen Verfahren ermöglichen (Spektrophotometrie, Fluorometrie; ungenauer sind kolorimetrische Modifikationen). Die Sicherheit der Analyse wird durch die Substratspezifität der Enzyme gewährleistet.

Die experimentellen Ergebnisse von Warburg und seinen Mitarbeitern [320–323] wurden von anderen Forschern ausgebaut und bestätigt [288] und dienten allen späteren Arbeiten über die diagnostische Bedeutung von Serumaktivitätsbestimmungen als methodische Basis. Es sei hier erwähnt, daß Warburg und Christian schon 1943 den Anstieg von Serumaktivitäten zellulärer Enzyme mit einem Zellschaden in Zusammenhang gebracht haben ([322, 323], siehe auch [289]).

Eingehendere Beschreibungen der Methodik sind zu finden in [1, 33, 45, 48, 55, 59, 60, 65, 73, 103, 152, 169, 172, 173, 261, 264, 294, 306, 346, 347 u. a.].

3. Einheiten

Die vielen unterschiedlichen Einheiten für Enzymaktivitäten, die unter abweichenden Meßbedingungen gewonnen wurden, erschwerten oder verunmöglichten Vergleiche zwischen den Resultaten der einzelnen Autoren. Die Festlegung einer internationalen Einheit ist geeignet, die Methodik in zulässigen Grenzen zu vereinheitlichen (Standardbedingungen siehe oben) und Vergleiche zu erleichtern. Unumgängliche Abweichungen in den Meßbedingungen müssen angegeben werden. Man ermittelt die Anzahl Mikromol (μM) Substrat im Liter, die in einer Minute umgesetzt werden. Es gilt als Einheit:

$$U = 1\ \mu M\ /\ min\ /\ 1000\ ml$$

(Literatur bei [32, 77, 120, 152, 174, 256, 265]).

Zur Angabe von Aktivitätseinheiten wird der Buchstabe U verwendet, da E der Bezeichnung der Extinktion zu reservieren ist [265].

Der Quotient $Q = \frac{\text{gemessener Wert}}{\text{oberer normaler Grenzwert}}$ wurde als für die Klinik geeignet propagiert [32]. Danach wäre $Q < 1$ als normal, $Q > 1$ als pathologisch anzusehen. Die Auswertung absoluter Werte ist jedoch vorzuziehen: Der Quotient hat nur für plasmaunspezifische Enzyme Gültigkeit. Der Abfall von Aktivitäten gewisser Serumenzyme (alkalische Phosphatase) kann etwa diagnostisch verwertet werden, der Quotient wird dann, wie für plasmaspezifische Enzyme, bei bestimmten Krankheiten < 1.

Die einheitliche Dimensionierung der Aktivität aller Serumenzyme erlaubt die Berechnung von Quotienten aus den Aktivitäten zweier Enzyme oder den Vergleich mehrerer Enzymaktivitäten miteinander. Die gefundenen Relationen sind oft für bestimmte Krankheitsbilder charakteristisch [87, 152].

Es ist zu hoffen, daß auch die Veterinärmedizin die internationale Einheit zur Bezeichnung von Serumenzymaktivitäten verwenden wird. Fast jeder Autor verwendet andere Einheiten. Direkte Vergleiche sind nicht möglich und die notwendigen Umrechnungen wegen der verschiedenen Meßbedingungen oft nichtssagend.

4. Abkürzungen

ADH Alkoholdehydrogenase
ALD Fruktose-1,6-diphosphat-aldolase
ATP Adenosintriphosphat
AP Alkalische Phosphatase
BKS Blutkörperchensenkung
BSP Bromsulphalein
CHE Cholinesterase
GBDH Glutamatdehydrogenase
GDT Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT Glutamat-Pyruvat-Transaminase
ICDH Isozitronensäuredehydrogenase
KK Kreatinkinase (auch CPK)
LAP Leuzinaminopeptidase
LDH Laktatdehydrogenase
MDH Malatdehydrogenase
NAD–$NADH_2$ oxydiertes bzw. reduziertes Nikotinamid-adenin-dinukleotid
NADP—$NADPH_2$ oxydiertes bzw. reduziertes Nikotinamid-adenin-dinukleotid-phosphat. Ersetzt den alten Ausdruck DPN = Diphosphopyridinnukleotid
OCT Ornithin-Carbamyl-Transferase
PFA 1-Phosphofruktoaldolase
RES reticulo-endotheliales System
SDH Sorbitdehydrogenase
S... vor Abkürzungen bedeutet Serum...

Enzyme, die in dieser Liste nicht aufgeführt sind, kommen im Text selten vor und sind dort ausgeschrieben.

Deutsche Autoren haben etwa für die LDH die verwirrende Abkürzung MDH (Milchsäuredehydrogenase) verwendet und für die MDH (Malatdehydrogenase) entsprechend der deutschen Bezeichnung AeDH (Äpfelsäuredehydrogenase). Dieser mißliche Umstand muß beim Studium der Literatur besonders aus den Anfängen der klinischen Enzymologie berücksichtigt werden. Andere Abweichungen, die hie und da anzutreffen sind, können kaum zu Mißverständnissen führen (siehe auch [152]).

5. Einteilung der Serumenzyme

Die hier wiedergegebene Einteilung der Serumenzyme scheint uns den Bedürfnissen der Klinik besser zu entsprechen als eine Systematik nach biochemischen Gesichtspunkten. Sie beruht auf einem Vorschlag von Bücher [57, 152].

a) Plasmaspezifische Enzyme sind funktionelle Bestandteile des Blutes, die vorwiegend in der Leber synthetisiert und aktiv sezerniert werden. In

diese Gruppe gehören neben den Gerinnungsfermenten und Gerinnungsfaktoren [184 u. a.] verschiedene Esterasen und eventuell weitere Enzyme, deren biologische Funktionen nur zum Teil bekannt sind.

Nach neueren Untersuchungen ist es wahrscheinlich, daß Prokonvertin/Prothrombin auch im RES gebildet werden kann ([292], siehe auch [236]). Bei Lebererkrankungen erfolgt ein Abfall der Serumaktivität der plasmaspezifischen Enzyme, der sich u. a. in einer Verminderung der Gerinnungsvalenz bzw. in einer verlängerten Prothrombinzeit (auch Thromboplastinzeit genannt) nach Quick [253, 254, 229, 230] äußern kann. Die oft unbefriedigende Empfindlichkeit der Gerinnungsvalenzbestimmung zum Nachweis von Lebererkrankungen dürfte ihren Grund zum Teil in einer partiellen Prothrombinsynthese im RES haben. Wir werden bei der Besprechung der Lebererkrankungen näher auf das Verhalten der plasmaspezifischen Enzyme eintreten. In der Veterinärmedizin sind Untersuchungsergebnisse über Gerinnungsfermente und über die Serumcholinesterase in größerer Zahl publiziert worden (siehe II. Teil), während nur vereinzelte Arbeiten über Caeruloplasmin [46, 311] und einzelne Esterasen [18, 284] zugänglich waren.

b) Plasmaunspezifische Enzyme erfüllen im Blut keine biologischen Funktionen. Bei Erkrankungen ihres Herkunftsorgans ist im allgemeinen ein Anstieg ihrer Serumaktivität zu beobachten, das heißt, sie verhalten sich invers zu plasmaspezifischen Fermenten ([152, 187], siehe dazu Seite 538). Sie lassen sich unterteilen in Exkretfermente und in eigentliche zelluläre Enzyme. *Exkretfermente* werden als Bestandteile von Exkreten in den extrazellulären Raum sezerniert. Es handelt sich unter anderem um die alkalische Phosphatase der Leber (?) und des Gallengangssystems ([15, 38, 48, 173, 179, 283], siehe besonders [133], dort weitere Literatur), um die saure Phosphatase der Prostata [29, 30, 84, 132, 173, 300, 343, 344, 350], um die alpha-Amylase [17, 48, 165, 173, 259, 296, 301, 307, 341], Lipase [48, 271, 272] und die 5-Nukleotidase [284].

Die *zellulären Enzyme* lassen sich trennen in organspezifische und in ubiquitär im Organismus vorkommende Fermente [40]:

Organspezifische Fermente (Indikatorenzyme nach Richterich [362]) sind entweder nur in einem Organ durch genetische Determination lokalisiert [152] oder kommen jedenfalls in erheblicher Konzentration nur in einem bestimmten Organ vor. Das vermehrte Auftreten entsprechender Serumenzymaktivitäten erlaubt eine organspezifische Diagnose, doch sprechen die meisten organspezifischen Fermente nicht sehr empfindlich auf pathologische Vorgänge in ihrem Herkunftsorgan an. Der diagnostische Wert ihrer Bestimmung wird dadurch erheblich eingeschränkt, um so mehr als die Organspezifität oft nur relativ ist oder ungenügend gesichert erscheint.

In der veterinärmedizinischen Literatur finden sich spärliche Angaben über die Sorbitdehydrogenase [131, 196, 203], die 1-Phosphofruktoaldolase [96] und die Ornithin-Carbamyl-Transferase [244, 345], die alle beim Menschen als leberspezifisch gelten [51, 342, 362]. Die Chininoxydase scheint zur Leberdiagnostik beim Hund zu wenig empfindlich, um eine wertvolle Ergänzung anderer Leberuntersuchungsmethoden zu bilden [203]. Die Kreatinkinase gilt als gut muskelspezifisch (größere Mengen nur in Herz- und Skelettmuskulatur und im Großhirn) und wird von Richterich als Indikatorenenzym bezeichnet [362], von Hess unter die ubiquitären Enzyme einge-

reiht ([152], siehe auch [72, 100, 101, 102, 117, 118, 297, 300]). Die alkalische Phosphatase der Knochen zeigt erhöhte Serumaktivität bei gesteigerter Osteoblastentätigkeit infolge Krankheit [28, 43, 50, 119, 133, 152, 170, 176, 177, 181, 186, 299, 304] oder während des Wachstums ([52, 108, 114, 178, 223, 245, 263, 309], siehe aber [111]). Die alkalische Serumphosphatase weist nach den Befunden von Lettow bei Osteogenesis imperfecta des Hundes erniedrigte Aktivität auf [199; 62, 76, 85, 161, 262, 269, 282, 291]. Sie läßt sich ohne besondere Untersuchungsmethoden nicht von der alkalischen Phosphatase aus dem Gallengangsystem oder aus der Niere unterscheiden. (Weitere organspezifische Fermente beim Tier [115, 197, 317].)

Ubiquitäre Fermente (Hauptkettenenzyme nach Bücher [57]) katalysieren die Reaktionen des engeren Intermediärstoffwechsels (Glykolyse, Pentosephosphatzyklus, Zitronensäurezyklus und Aminosäurestoffwechsel) und sind intrazellulär lokalisiert. Der Energiestoffwechsel verläuft in allen Zellen prinzipiell gleich. Die intrazelluläre Lokalisation (im zytoplasmatischen Raum, C-Raum, siehe unten, oder gebunden an submikroskopische, zelluläre Strukturen) bedingt bei pathologischen Zellveränderungen zu einem wichtigen Teil das Verhalten der Enzyme. *Ubiquitäre Enzyme erlauben ihrer Natur gemäß keine organgerichtete Diagnose* aus Serumuntersuchungen zu stellen, solange nicht der Nachweis ihrer organischen Herkunft erbracht ist. Bei einseitigem Überwiegen der Enzymkonzentration im Zytoplasma bestimmter Zelltypen kann der Herkunftsort etwa bestimmt werden. Jedenfalls hängt die diagnostische Verwertung von Serumaktivitäten der ubiquitären Enzyme in erster Linie von der Kenntnis ihrer Herkunft ab. In der Leber macht die Proteinkomponente der ubiquitären Enzyme bis zu zwei Dritteln des Gesamteiweißgehaltes aus [152], wir dürfen aber nicht außer acht lassen, daß nicht alle Enzyme Proteincharakter haben (Ausnahme: alkalische Phosphatase aus Schweinenieren [34]). Es steht nirgends geschrieben, daß dieser Ausnahme nicht weitere folgen werden. Insgesamt sind jetzt ungefähr 600 verschiedene Enzyme beschrieben, die Gesamtzahl wird aber auf 60 000 geschätzt, entsprechend der Anzahl der einzelnen Stoffwechselreaktionen [268].

In der Tiermedizin werden ubiquitäre Fermente namentlich zur Diagnose von Leber- und Skelettmuskelschäden herangezogen. Man vermißt in einigen Publikationen eine genügende Sicherung der organischen Herkunft vermehrt auftretender Serumenzyme. Am häufigsten dienen der Diagnostik tierischer Krankheiten die beiden Transaminasen SGOT und SGPT, die ihre katalysatorischen Funktionen im Aminosäurestoffwechsel ausüben [22, 63, 64, 70, 71, 185, 225, 242, 243]. Seltener sind Untersuchungen über die SLDH (Glykolyse), SMDH und SICDH (Zitronensäurezyklus) und einige andere Enzyme [25, 36, 37, 49, 66, 67, 82, 94, 115, 116, 139, 140, 160, 163, 164, 166, 200, 201, 202, 234, 258, 293, 305, 316, 351, 355]. In dieser Arbeit werden die Beiträge zum Verhalten der Serumcarboanhydrase nicht besprochen [61, 83, 122 u. a.].

6. Abriß der heutigen Kenntnisse von Biochemie und Biologie der Serumenzyme

Um pathologische Enzymaktivitäten im Serum beurteilen zu können, ist die Kenntnis der physiologischen Mechanismen von Synthese, Abbau, Elimination und Inaktivierung der Enzyme notwendig. Besonders wichtig

ist eine möglichst klare Vorstellung vom Prinzip der Enzymentweichung [362] oder Enzymausschüttung [152], das heißt vom Mechanismus des Enzymaustritts aus den Zellen und des Übertritts in den extrazellulären Raum, speziell ins Serum. Alle Fragen zu diesen Problemen können leider fast nur auf Grund von Hypothesen beantwortet werden. Gerade das Prinzip der Enzymentweichung ist nicht geklärt. Wir stützen uns im folgenden auf die Ausführungen von Richterich [362] und Hess [152] und werden versuchen, besonders diejenigen Faktoren hervorzuheben, die die klinische Beurteilung von Serumenzymaktivitäten störend beeinflussen können.

a) Synthese: Wie andere Proteine (Ausnahme!) werden Enzyme aus Aminosäuren in den Ribosomen des endoplastischen Reticulum gebildet (dazu [167]), wobei die Aktivierung der Aminosäuren [31, 47, 182, 207, 239, 356] durch das energiereiche ATP erfolgt. Der Aufbau des Enzymmoleküls geht über vier Stufen vor sich. Die Aminosäurensequenz des Moleküls gilt als dessen Primärstruktur. Die Bildung spezifischer Sekundär-, Tertiär- und Quaternärstrukturen stellt den Abschluß der Synthese dar. Diese Strukturen sind relativ unstabil und können sich schon beim Austritt des Enzyms aus Mikrosomen ins Zytoplasma ändern [332–338].

Analog der Prothrombinsynthese aus Faktor VII in der Leberzelle [195] besteht die Möglichkeit einer Enzymsynthese durch Umbau anderer Enzyme.

Der Strukturtyp der Proteinkomponente eines Enzyms kommt in dessen verschiedenen biochemischen Eigenschaften zum Ausdruck. Es ist im Rahmen dieser Übersicht unmöglich, näher auf die biochemischen Charakteristiken der Enzyme einzugehen und die Methoden zur Identifikation auf Grund dieser Eigenschaften zu erläutern. Wir verweisen auf die betreffenden Arbeiten ([56, 86, 127, 314], bei [152] weitere Literatur) und heben als wichtiges Charakteristikum der Fermente ihre Substratspezifität hervor. Die Annahme einer gesteigerten Enzymsynthese in geschädigten Zellen als Quelle erhöhter Serumaktivitäten ist abzulehnen, da die Membranen lädierter Zellen für Eiweiß und Phosphate durchlässig werden und die Zellen alle zur Proteinsynthese benötigten Faktoren verlieren ([152], zur Synthese auch [171]).

b) Abbau: Normalerweise wird ein konstanter Enzymspiegel in der Zelle und im Serum aufrechterhalten durch andauernde Synthese, gleichzeitigen Abbau, Inaktivierung und Elimination von Fermenten (steady state, Fließgleichgewicht). Der Mechanismus des Abbaus ist ungeklärt. Man nimmt an, daß der Abbau bis zur Stufe der Aminosäuren gehe [14, 255, 318] und im Gegensatz zu den Albuminen [14] extrazellulär und intravasal erfolge [152]. Enzyme verlieren ihre Aktivität mit der Zerstörung ihrer Tertiärstruktur und werden dabei irreversibel denaturiert, was den Proteasen erst ein Angreifen zum weiteren Abbau zu ermöglichen scheint [152, 205]. Hess schließt eine reversible Denaturierung [215] als Abbaumechanismus aus, da im Serum nicht genügend Koferment und Substrat vorhanden sei, um die beim Austritt aus den Zellen dissoziierten Ferment-Substratkomplexe (Michaelis-Menten-Komplexe) wieder zu bilden. Das Enzym bleibe deshalb unstabil und

sei der irreversiblen Denaturierung ausgesetzt [152]. Die Stabilität von Enzymen ist auch abhängig vom Vorhandensein von SH-Gruppen und S–S-Brücken [152] und besonders vom Gehalt an NAD (Dehydrogenasen [240, 257]). Nicht zu vernachlässigen ist der Einfluß der Körpertemperatur [212] und von Steroiden [354].

c) Elimination: Der Elimination von Serumproteinen und damit der meisten Serumenzyme liegt ein zweiphasischer Vorgang zugrunde, wobei in der ersten Phase ein Konzentrationsausgleich im gesamten Plasmaraum stattfindet, während die zweite der Eliminierung entspricht. Injektionsversuche mit Fermenten zeigten, neben dem Nachweis der zweiphasischen Elimination, daß die Eliminationsgeschwindigkeit als Maß für die Halbwertszeit von Serumenzymen verwendet werden kann ([10, 12, 106, 226], weitere Literatur bei [152]). Die physiologische Konstanz des Serumenzymspiegels wird durch die quantitative Gleichheit der Größe von Einstrom und Elimination garantiert. Unter pathologischen Verhältnissen ist der Enzymeinstrom aus geschädigten Zellen ins Serum oft beträchtlich größer als die immer nahezu maximal ablaufende Elimination [152]. Als Folge ist ein Anstieg der Serumenzymaktivität zu beobachten. Die Mechanismen der Elimination sind unklar. Die postulierte, aktive Aufnahme von Enzymen in umliegende Zellen [34] ist bei intakter Zellmembran nicht wahrscheinlich [152]. Hauptsächlich scheint die intravasale und extravasale Enzyminaktivierung für das Verschwinden von Enzymen aus dem Plasmaraum verantwortlich zu sein [152]. Die Begriffe von Abbau und Elimination sind nicht klar getrennt (siehe auch bei Abbau). Exkretion kommt als Eliminationsmechanismus wohl nur für echte Exkretenzyme in Frage. Fermente mit einem Molekulargewicht von über 100 000 werden nur beim Vorliegen einer Proteinurie durch die Nieren ausgeschieden [10, 34, 69, 146, 175]. Die Amylase mit einem Molekulargewicht von 45 000 wird normalerweise über die Nieren aus dem Körper eliminiert [165, 341]. Die Ausscheidung durch die Galle dürfte ebenfalls nur für wenige Enzyme von Bedeutung sein [162]. Die geringen Enzymaktivitäten gewisser Enzyme in der Galle lassen sich durch intravenöse Fermentinjektionen kaum steigern [10, 106]. Es ist zu vermuten, daß die in der Galle festgestellten Enzyme aus den Gallengangszellen selber stammen. Nimmt man aber an, daß die Galle bei der Ausscheidung zellulärer Enzyme eine unbedeutende Nebenrolle spiele, so steht dieser Annahme der Befund Gutmans entgegen [133], der auch für die aus den Knochen stammende alkalische Phosphatase (von Hess unter die organspezifischen, somit zellulären Fermente eingereiht [152]), die Galle als Ausscheidungsweg ansieht. Gutman vertritt auch die überzeugende Hypothese, daß eine Erhöhung der alkalischen Serumphosphatase bei Gallengangsverschlüssen zur Hauptsache von der rückgestauten Knochenphosphatase herrühre und nicht, wie oft angenommen, von der Phosphatase aus Leber oder Gallengangszellen. Es bleibt der Befund zu erwähnen, daß Leberzellen offenbar keine oder sehr unbedeutende Mengen alkalischer Phosphatase enthal-

ten und nur in den interzellulären Gallenröhrchen alkalische Phosphatase nachzuweisen ist [123].

d) Mechanismen des Fermentübertritts aus den Zellen ins Serum. Das Prinzip der Enzymentweichung ist unbekannt. Allgemein wird die Hypothese anerkannt, daß signifikante Aktivitätserhöhungen zellulärer Enzyme im Serum auf einen Zellschaden schließen lassen [41], da lädierte Zellmembranen Enzyme in den extrazellulären Raum durchtreten lassen. Bei Permeabilitätsstörungen der Zellmembran gelangen die im Zytoplasma gelösten Enzyme (C-Raum nach Bücher [56]) ins Serum, während bei Zellnekrosen auch an submikroskopische Strukturen, insbesondere Mitochondrien (M-Raum), gebundene Enzyme den Übertritt ins Serum vollziehen können. Der Grund krankhafter Permeabilitätsstörungen ist in einem Eingriff in die oxydative Phosphorylierung, in die Glykolyse oder die ATP-Reaktionen zu suchen ([34, 53, 54, 143, 212, 289, 324–328, 357, 358]; dazu auch [44, 204]). Beim Bestehen eines Konzentrationsgefälles von Enzymen zwischen Zelle und extrazellulärem Raum, wie es für verschiedene Enzyme in ausgeprägtem Maße nachgewiesen wurde [87, 152], erlaubt die ungenügend mit Energie versorgte Membran Proteinen den Austritt in das umgebende Medium. Hess vertritt die Ansicht Zierlers, die Retention von Fermenten in der Zelle sei ein energieverbrauchender, aktiver Prozeß [152, 357, 358]. Mindestens ebenso wahrscheinlich wie die Hypothese der aktiven Retention scheint uns die Möglichkeit zu sein, daß unter physiologischen Bedingungen die Porengröße der Membran den Austritt größerer Moleküle passiv beschränkt.

Körperliche Arbeit bewirkt einen Aktivitätsanstieg gewisser Serumenzyme. Es wird gefolgert, daß die normalerweise minimale Permeabilität der Zellmembran reversibel verändert werde, was nicht immer zum Untergang der betroffenen Zelle führen müsse.

Unsicher bleibt, ob die Öffnung der Poren aktiv oder passiv vor sich geht [357]. Ohne die physiologische Undichte der Muskelzelle in Frage stellen zu wollen, denken wir doch an die Möglichkeit, daß die Bluteindickung bei Anstrengung [93, 270] eine erhöhte Fermentaktivität im Serum vorzutäuschen vermag. Jedenfalls muß bei der Beurteilung von Serumenzymbestimmungen eine physiologische Erhöhung durch Anstrengung in Betracht gezogen werden. Richterich [267] fand bei Infanterierekruten pathologische SGOT-Aktivitäten, während Soldaten mechanisierter Truppen und Zivilpersonen signifikant niedrigere Werte aufwiesen. Dieses Phänomen wird auf Mikroläsionen der Skelettmuskulatur zurückgeführt. Wenigstens teilweise dürfte auch die physiologische Permeabilitätsveränderung der Muskelzellmembran dafür verantwortlich gemacht werden. Auf Grund dieser Befunde läßt sich die Forderung erheben, daß Blutentnahmen für Serumenzymbestimmungen bei ausgeruhten Individuen durchzuführen sind.

Eine weitere mögliche Ursache physiologischer Schwankungen von Serumaktivitäten scheinen gewisse hormonale Wirkungen zu sein: nach Medi-

kation von Insulin, Cortison und ACTH wurden Abweichungen von den Normalwerten beobachtet [99, 206, 278, 353, 354, 257]. Daß physiologische Zustände erhöhte Serumaktivitäten von zellulären Enzymen hervorrufen können, erschwert deren Beurteilung in der Klinik beträchtlich; völlig unberechenbare Einflüsse sind unter pathologischen Verhältnissen zu gewärtigen durch die ungleiche Kapillarisierung und den Durchblutungsgrad erkrankter Gewebe, durch die Richtung und Stärke des Lymphstroms, ferner durch eventuelle Leukozyteninvasion, wechselnde Diffusionsverhältnisse, Anomalien im grob- oder feinanatomischen Bau der betroffenen Organe [152, 331]. Soweit die intrazelluläre Lokalisation von Enzymen durch die Histochemie, Elektronenmikroskopie und Ultrazentrifugierung geklärt scheint (Berücksichtigung der Fehlerquellen dieser Methoden! Artefakte), kann sie bei der Beurteilung pathologischer Serumaktivitäten in Rechnung gestellt werden. Es mag dann etwa möglich sein, über eine Organdiagnose hinaus, Aussagen zu machen über Veränderungen bestimmter Zelltypen oder submikroskopischer Strukturen. Für die meisten Enzyme und Organe liegen die entsprechenden Untersuchungen nicht vor: Schlüsse auf den Grad der Zelldestruktion sind, jedenfalls beim Tier, vorläufig meist völlig fehl am Platz. Die echten Exkretenzyme gelangen vorwiegend durch Rückstauung in erhöhter Konzentration ins Serum (siehe oben [24]), meistens wird die Rückstauung durch eine Stenosierung der Ausführungsgänge hervorgerufen (Gallengänge, Pankreas- und Speicheldrüsenausführungsgänge).

Die aktive Sekretion der plasmaspezifischen Fermente als spezifische Zelleistung ist als Mechanismus nicht geklärt. Der Abfall der Serumaktivität dieser Fermente bei Leberschäden wird verständlich, wenn man sich vergegenwärtigt, daß Synthese und Sekretion bei einer Zellschädigung nicht aufrechterhalten werden können [152]. (Siehe dazu auch: Hyperfermentämie als Symptom des akuten Syndroms bei vegetativer Gesamtumschaltung. II. Teil, Erkrankungen des Herzens [23, 134–138, 141, 152, 274, 278].)

e) Physik der Serumenzyme. Wir haben das kinetische Verhalten der Serumenzyme schon an einigen Stellen gestreift. Wir stellen die Ergebnisse der Forschung, die von klinischer Bedeutung sind, in gedrängter Form zusammen, ohne näher auf physikalische Probleme einzutreten (siehe u. a. [285, 302]).

Es darf verallgemeinernd angenommen werden, daß Enzyme Proteincharakter haben und daß sich Enzymeiweiß gleich verhält wie andere Proteine. Die vielen noch ungelösten Probleme der Proteinchemie beeinflussen demnach auch die klinische Enzymologie (siehe besonders [270]).

Einstrom und Eliminierung von Serumenzymen sind normalerweise einander gleich und konstant. Aus diesem Befund soll sich ein physiologischer, konstanter Enzymspiegel im Serum ergeben [152]. Man könnte wohl auch sagen, daß ein konstanter Serumspiegel eines Enzyms dort möglich ist, wo sich Einstrom und Elimination auf einem gewissen Niveau die Waage halten. Ist das nicht der Fall, so hat das Enzym entweder im Serum keinen Bestand oder wird in einem Maße angehäuft, daß zusätzliche Regulationen notwendig würden, um ein dauerndes Ansteigen der Konzentration zu verhindern (Steck [296a]).

Injektionsversuche führten zur Ermittlung der Halbwertszeit und der Eliminationsgeschwindigkeit von Serumenzymen, wobei eine zweiphasige Eliminationskurve beobachtet wurde, die sich nicht von derjenigen anderer Plasmaproteine unterscheidet. Die Halbwertszeiten sind nicht nur von Ferment zu Ferment verschieden, sondern können auch differieren wegen struktureller Unterschiede von Fermenten gleicher Substratspezifität (Argument für die Heterogenität der Enzyme, siehe dort).

Die Halbwertszeiten der Serumenzyme scheinen beträchtlich kürzer zu sein als diejenigen anderer Serumproteine. Unter klinischen Voraussetzungen erfolgt der Einstrom von Enzymen ins Serum nicht momentan, die Eliminationskurven können sich wesentlich von im Tierversuch ermittelten unterscheiden. Einzig die akute Tetrachlorkohlenstoffvergiftung hat beim Menschen ähnliche Resultate ergeben wie die Injektionsexperimente am Tier [11, 152, 227, 260].

Die SALD-Aktivität einiger Tierarten ist dem Grundumsatz proportional und folgt der Oberflächenregel [288, 152]. In dieser Beziehung scheint die SGOT, die beim Pferd die höchste Aktivität aufweist [79, 130, 156, 189, 215], eine Ausnahme zu machen.

Der Anstieg des Enzymspiegels besagt, daß die Einstromrate die maximale Elimination übersteigt (zitiert nach [152]). Aus experimentellen Befunden wird geschlossen, daß die Elimination nahezu maximal mit konstanter Geschwindigkeit abläuft [152, 187, 241]. Die Verhältnisse für plasmaspezifische Enzyme sollen im allgemeinen umgekehrt liegen [315].

f) Bestimmung des Ursprungs von Serumenzymen: Die Bestimmung des Ursprungsorgans von Serumenzymen ist von größter klinischer Bedeutung, besonders bei pathologisch veränderten Ergebnissen von Aktivitätsmessungen. Da aber die Herkunft der normalerweise im Serum vorkommenden Enzyme nicht durchwegs geklärt ist, stößt die Interpretation pathologischer Resultate auf Schwierigkeiten.

Hess [152] schreibt, daß die Bestimmung der Herkunft ubiquitär lokalisierter Enzyme problematisch, eine Identifizierung des Ursprungsorgans von plasmaspezifischen, organspezifischen und von Exkretenzymen aber immerhin möglich sei. Es ist jedoch zu betonen, daß Herkunftsbestimmungen auch für die plasmaspezifischen und vor allem für die Exkretenzyme oft nicht einfach sind, wir möchten auch für die sogenannten organspezifischen Enzyme gewisse Einwände vorbringen:

Die Befunde von Slätis lassen die Möglichkeit einer Bildung plasmaspezifischer Fermente, jedenfalls von Prokonvertin/Prothrombin, in anderen Organen als nur der Leber offen [292].

Unter den Exkretenzymen scheinen das Pepsin (Hauptzellen des menschlichen Magenfundus), die Lipase, Ribonuklease und Desoxyribonuklease (Pankreas) der Bestimmung der Herkunft physiologischer und pathologischer Serumkonzentrationen keine wesentlichen Schwierigkeiten zu bereiten. Die alpha-Amylase gilt als pankreasspezifisch; 75% der normalen Serumaktivität scheinen aber nach neueren Untersuchungen aus der Leber zu stammen [165]. Die Parotis ist an der Exkretion der Amylase, damit am normalen Gehalt des Serums an Amylase, ebenfalls beteiligt. Die Konsequenzen für die Klinik sind zu bedenken: im Prinzip müßte die Herkunft

erhöhter Amylaseaktivitäten im Serum bei jedem Fall nachgewiesen werden, bevor eine organspezifische Diagnose zu rechtfertigen wäre.

Die saure Phosphatase dient der Diagnose des Prostatakarzinoms. Eine Erklärung der Aktivität von saurer Serumphosphatase bei Frauen steht noch aus [343].

Die alkalische Phosphatase der Leber (?) und des Gallengangssystems ist nach neueren Ergebnissen [123], wie oben schon hervorgehoben wurde, eigentlich eine alkalische Phosphatase der Gallenröhrchen und scheint nach bisher unwiderlegten Folgerungen (Gutman [133]) keine wesentliche Rolle bei Aktivitätssteigerungen wegen Gallengangsverschlüssen zu spielen. Wenn man sich dieser Hypothese anzuschließen vermag, ist jeder Aktivitätsanstieg der alkalischen Serumphosphatase beim Menschen entweder auf eine vermehrte Ausschüttung der alkalischen Knochenphosphatase oder auf eine verminderte Ausscheidung derselben durch die Galle zurückzuführen. Als Ursache kommen damit einerseits Störungen der Parathyreoideafunktionen und krankhafte, osteoplastische Prozesse im Knochen (physiologisch: Wachstum) und andererseits intra- und extrahepatische Gallenstauungen in Frage. Die oft mit der Erhöhung der alkalischen Serumphosphatase in Zusammenhang gebrachte Leberschädigung ist ausschließlich sekundärer Natur und beruht auf länger dauernder Gallenabflußhemmung (Literatur siehe oben). Wenn demnach die Herkunft der alkalischen Serumphosphatase einigermaßen gesichert erscheint (nach [275]: 40 bis 49% der normalen SAP-Aktivität aus Osteoblasten, siehe aber [183]), so scheint uns diese Sicherung in gewissem Maße zu fehlen bei der Sorbitdehydrogenase: Daß die Aktivität der Serum-SDH nur bei Lebererkrankungen nachzuweisen ist, kann nicht als Beweis für eine absolute Organspezifität geltend gemacht werden. Nicht zu vernachlässigende Konzentrationen von SDH wurden von Gerlach [121] in der Prostata, in den Nieren und, weniger wichtig, in der Milz gefunden; die Leber enthält allerdings die weitaus größten Mengen.

Allgemein halten wir fest, daß die Organspezifität oft nicht absolut ist, die Herkunft der betreffenden Enzyme deshalb grundsätzlich nicht gesichert ist.

Die ubiquitären Enzyme, die normalerweise im Serum nachzuweisen sind, müssen Organen entstammen, «deren hoher morphologischer Eigenumsatz im Rahmen der physiologischen Zellmauserung eine starke Beteiligung an dem normalen Enzymmuster des Serums wahrscheinlich macht» (zitiert nach [152]). Es ist anzunehmen, daß nur Enzyme im Serum nachzuweisen sind, die beim Zelltod noch aktiv in der Zelle vorlagen [209]. Das normale Serumenzymmuster wird nach Hess vor allem hervorgerufen durch Erythrozyten, Thrombozyten, Leukozyten, intestinale Mucosazellen und eventuell Leberzellen und Osteoblasten ([152], siehe auch [5, 7, 8, 26, 27, 95, 126, 160, 208–211, 214, 221, 222, 228, 295, 316, 340, 359, 360]).

Ohne die Kenntnis der Herkunft ubiquitärer Enzyme im Serum hat deren Bestimmung nur geringen diagnostischen Wert. Durch den Nachweis heterogener Fraktionen von Fermenten gleicher Substratspezifität und

durch die Erstellung von Enzymmustern kann das Ursprungsorgan eruiert werden oder wenigstens mit einiger Wahrscheinlichkeit auf bestimmte Organe als Enzymquelle geschlossen werden.

Heterogenität der Fermente: Die Tatsache, daß sich Enzyme gleicher Substratspezifität nicht nur von Spezies zu Spezies, sondern auch innerhalb einer Spezies von Organ zu Organ (eigentlich von Zelltyp zu Zelltyp) grundsätzlich unterscheiden können [329, 361], beruht auf Unterschieden in der Aminosäurensequenz (Primärstruktur) und in der Sekundär- und Tertiärstruktur [220]. Der Nachweis dieser strukturellen Heterogenität gelingt durch verschiedene analytische Verfahren, von denen besonders die Elektrophorese in speziellen Medien Bedeutung erlangt hat [6, 101, 104, 147–149, 151–155, 213, 224, 238, 250, 251, 266, 310, 312, 313, 332, 350, 361, 362]. Die Fraktionen, die aus Enzymen gleicher Substratspezifität gewonnen werden können, werden Isozyme [219, 349] oder Isoenzyme genannt. Nach Wieland und Pfleiderer werden aber nur verschiedene Enzyme gleicher Funktion aus derselben Zellart Isoenzyme genannt, und Enzyme gleicher Funktion aber verschiedener Zellherkunft differente Enzyme [338].

Akamatsu [4] wies schon 1923 auf ein unterschiedliches Verhalten der Serumphosphatasen hin, doch sind Chemie, Kinetik und Funktion dieser Fermente zu wenig abgeklärt, um von einer Heterogenität sprechen zu dürfen ([362] im Gegensatz zu [152]). Heterogenität wurde bei verschiedenen Enzymen gefunden, insbesondere bei Dehydrogenasen. Es darf mit Sicherheit angenommen werden, daß die Enzymheterogenität biologisch präformiert ist und nicht auf methodischen Artefakten beruht [362].

Der Umstand, daß sich die heterogenen Enzyme schon in der Aminosäuresequenz unterscheiden, hat bedeutende biologische Konsequenzen (nach [362]):

– die Synthese heterogener Enzyme ist genetisch determiniert [149, 152, 248, 334, 362];

– während der Ontogenese vollzieht sich neben der morphologischen Organdifferenzierung auch eine biochemische Differenzierung [210];

– eine Beeinflussung des Heterogenitätsmusters verändert indirekt die Kinetik der großen energieliefernden Systeme (Glykolyse, Krebs-Zyklus, Atmung);

– Isoenzyme sind zellspezifische Enzyme.

Demnach ist die Artspezifität der heterogenen Fraktionen der betreffenden Enzyme als sicher anzunehmen [21, 168, 219, 231, 246, 332–338, 348, 362]. Die Rolle der LDH in der Evolution der Arten wird von Kaplan und Ciotti auf Grund der Heterogenität diskutiert [168].

Um die Heterogenität der Serumenzyme diagnostisch verwerten zu können, ist es notwendig, Organanalysen durchzuführen [13, 150, 219, 250, 334, 336]. Durch den Vergleich mit den Resultaten aus den Organuntersuchungen kann die Herkunft der heterogenen Serumenzymfraktionen mit einiger Sicherheit bestimmt werden. Es ergibt sich die Schwierigkeit, daß sich in

± homogenen Organen, wegen der Zellspezifität der heterogenen Fraktionen, deren mehrere vorliegen können, wobei ihr Ursprung aus Parenchym-, Mesenchym- oder Blutzellen oft unklar bleiben muß [362].

Beim Menschen sind folgende Befunde von besonderem Interesse: der Leber- und Skelettmuskeltyp der LDH wandert in der Elektrophorese mit der gamma-Globulinfraktion des Serumproteins [339], der Herzmuskeltyp mit der alpha$_1$-Fraktion [13, 104, 105, 148, 152, 264, 266, 361, 362]. Ein Zusammenhang von Isoenzymvermehrung mit der oft beobachteten Hypergammaglobulinämie bei Lebererkrankungen oder mit der Vermehrung von alpha-Globulinen nach Myokardinfarkten [270] konnte nicht festgestellt werden ([362], siehe auch [330]).

Die Möglichkeiten, die sich aus dem Verhalten der heterogenen Enzymfraktionen für die Differentialdiagnose ergeben, liegen auf der Hand. Eine gewisse Zurückhaltung scheint immer noch am Platz, da die Signifikanz der klinischen Resultate oft zu wünschen übrigläßt. Die LDH aus einer bestimmten Zellart läßt sich nur schwer mit den Serum-LDH-Fraktionen vergleichen, da diese aus verschiedenen Ursprungsgeweben stammen können (gamma-SLDH aus Leber oder Skelettmuskel). Die Beobachtung, daß Gewebe maligner Tumoren nur eine LDH-Fraktion aufweisen [152, 248, 249], während im menschlichen Serum vier bis fünf differente LDH-Typen normalerweise vorliegen, stimmt nach Hess mit der morphologischen Entdifferenzierung maligner Zellen überein und kann zur Abklärung der Genese von Pleura- und Peritonealergüssen beitragen [266, 268].

Auch die klinisch wichtige SGOT läßt sich in verschiedene Fraktionen trennen: beim Herzinfarkt des Menschen scheint vorwiegend die alpha$_1$-Fraktion, weniger die alpha$_2$-Fraktion, bei Hepatitis besonders die alpha$_2$- und die beta-Fraktion in erhöhter Konzentration im Serum vorzuliegen [109]. Die während der Elektrophorese kationisch sich verhaltende SGOT-Fraktion ist offenbar an Mitochondrienmembranen und -cristae gebunden und macht zu ihrer Freisetzung beträchtliche Läsionen nötig [113].

Die GOT oder Rattenleber verteilt sich zu 50 bis 70% auf die Mitochondrienfraktion, zu 20 bis 40% auf die überstehende Flüssigkeit im Zentrifugat, 7% liegen in den Mikrosomen und 2% in den Zellkernen vor (Befunde nach Ultrazentrifugierung [107]). Wenn wir voraussetzten, daß bei Wiederkäuern und Pferden vor allem die SPT in der Leber intrazellulär gebunden vorliegt, wäre das gegenüber Mensch und Hund entgegengesetzte Verhalten der SGPT der Herbivoren bei Leberschäden zu erklären. Beim Menschen ist die absolute GOT-Konzentration der Leber größer als die GPT-Konzentration. Wegen der festen Bindung an Mitochondrien wird aber die GOT bei Hepatitiden in kleinerem Prozentsatz freigesetzt als die im Zytoplasma gelöste GPT.

Die tierartlichen Unterschiede im Verhalten der LDH-Fraktionen erlauben keine Übertragung der Ergebnisse vom Menschen auf das Tier oder von einer Tierart auf die andere. Es müssen für jede Tierart gesonderte

Untersuchungen des Serums und der Organe vorliegen, bevor eine klinische Anwendung dieser Verfahren in Frage kommt. Es liegen experimentelle Befunde vom Tier vor und Einzeluntersuchungen leukämischer Rinder [67, 68, 219].

Die Bezeichnung der Isoenzyme ist nicht einheitlich, wie auch die Definition verschieden formuliert wird (siehe oben). Am vernünftigsten bezeichnet man die Fraktionen nach der Glubolinfraktion der Serumproteine mit der sie elektrophoretisch wandern (Indices in Form kleiner griechischer Buchstaben [310, 362].

Enzymmuster. Die Bestimmung der Aktivitätsverhältnisse von Gruppen ähnlicher Enzyme verschiedener Substratspezifität ergibt ein Enzymmuster oder Enzymverteilungsmuster ([9, 39, 56, 86–92, 127, 276, 277, 279, 280, 314], siehe auch bei [152]), das für bestimmte Organe charakteristisch ist. Gegen die Untersuchung von Organhomogenaten zum Zweck der Bestimmung von Enzymmustern bringt v. Fellenberg [112] folgende Einwände vor:

Es werden bei der üblichen Homogenisierung die Enzyme des C-Raumes (siehe oben [56]) erfaßt. Die submikroskopische Struktur des Zytoplasmas und die Wechselwirkungen zwischen den morphologischen Einheiten der Zelle werden vernachlässigt. Die Messung der Enzymaktivitäten ganzer Organe läßt den heterogenen, histologischen Aufbau des Organs unberücksichtigt. Die Aktivitätsbestimmung bezieht sich auf die Summe der katalytischen Eigenschaften eines Gewebes für ein bestimmtes Substrat. Die verschiedenen Substratoptima einzelner Isoenzyme bringen es mit sich, daß die maximale Aktivität eines Enzyms (LDH!) nur bei vorhergehender Fraktionierung und gesonderter Messung der Isoenzyme bestimmt werden kann (nach [112]). Es kommt dazu, daß während der Präparation nicht abzuschätzende Enzymquantitäten verlorengehen bzw. daß während der Bereitung eines Organhomogenates die Aktivität der Gewebsfermente in nicht zu erfassender Weise absinkt.

Das normale Enzymmuster im Serum (siehe oben) wird bei akuten, krankhaften Veränderungen eines Organs überlagert durch ein dem Muster des betreffenden Organs sich angleichendes Bild [152]. Die Analyse eines Serumenzymmusters erlaubt etwa diagnostisch verwertbare Aussagen, doch fallen komplizierende Faktoren schwerer ins Gewicht als bei der Beurteilung von Aktivitätssteigerungen einzelner Serumenzyme. Naheliegend ist der Einwand, daß bei akuten Krankheiten pathologische Veränderungen (besonders Permeabilitätsstörungen) kaum je längere Zeit auf das primär befallene Organ beschränkt bleiben. Die Interpretation pathologischer Enzymmuster wird erschwert durch die von Bücher ([57] zitiert nach [152]) beschriebene «Verzerrung», die im Serum ein stark vom Muster des erkrankten Organs abweichendes Bild erzeugt. An der Verzerrung können beteiligt sein: die verschiedene Austrittsgeschwindigkeit der Enzyme ins Serum je nach histologischen Veränderungen und je nach der Natur des Enzyms [144],

die Inaktivierungsgeschwindigkeit im Serum [106], Löslichkeitsunterschiede [39] und die intrazelluläre Lokalisation [152, 281]. Die intrazelluläre Lokalisation (siehe Seite 538) ist hier wohl sehr wichtig: Organhomogenate, die nur Enzyme des C-Raumes freisetzen, sind zum Vergleich mit Serumenzymmustern bei nekrotisierenden Krankheiten nicht geeignet, da bei diesen Krankheiten auch Enzyme aus dem M-Raum im Serum erscheinen. Umgekehrt ist eine intensivere Organhomogenisierung mit Freisetzung der Enzyme aus dem M-Raum nicht angezeigt, wenn Serumenzymmuster von Patienten beurteilt werden sollen, von denen angenommen werden darf, daß die Zell-Läsionen sich auf Permeabilitätsstörungen beschränken, da in diesen Fällen nur Enzyme aus dem C-Raum im Serum zu erwarten sein werden. Bei beginnender Chronizität oder bei Recidiven überwiegen in den erkrankten Organen oft Reaktionen des Mesenchyms. Dieser Umstand und die sekundäre Beteiligung anderer Organe an der Grundkrankheit vermögen ein Serumenzymmuster zu «maskieren» [57, 152, 281], mit der Folge, daß die klinische Verwertung in Frage gestellt wird. Der variierende Gehalt einzelner Organe an Blutzellen, mesenchymalen und parenchymatösen Bestandteilen [279, 280], die Zellmauserung und Enzymalterung [57, 160, 209, 221], die physiologischen Permeabilitätsveränderungen von Muskelzellen bei körperlicher Beanspruchung ([144, 145], siehe auch oben), die wechselnde Stoffwechselintensität gewisser Zelltypen [152] und das unterschiedliche Verhalten roter und weißer Muskulatur [152] werden als Faktoren zu berücksichtigen sein, die ein Muster von Serumenzymen gering- bis hochgradig beeinflussen können [110]. Eine Beurteilung pathologischer Enzymmuster von menschlichen Seren setzt die genaue Kenntnis der Organverteilungsmuster voraus, und vor allem auch Klarheit über die mannigfachen Faktoren, die das Serummuster verzerren, maskieren oder sonstwie verändern können. Niemand, der mit den heute zugänglichen Untersuchungsergebnissen vertraut ist, wird sich des Eindrucks erwehren können, daß eine klinisch-diagnostische Verwertung im Sinne einer Herkunftsbestimmung von Serumenzymen nur bei großer Erfahrung und nur in einfach gelagerten Fällen überhaupt zu vertreten ist. Die Bestimmung von Enzymverteilungsmustern mag einen gewissen Wert haben zur Überwachung von Krankheitsabläufen, bei denen Komplikationen frühzeitig erfaßt werden müssen.

In der Veterinärmedizin werden die tierartlichen Unterschiede die diagnostische Anwendung von Enzymmustern zusätzlich erschweren. Es ist bekannt, daß die Verteilung und die Konzentration der Transaminasen im Organismus der Pflanzenfresser von derjenigen beim Menschen und Carnivoren nicht unerheblich abweicht. Wenn auch Befunde vorliegen, die einen ähnlichen Fermentraster in der Leber aller Säuger vermuten lassen [2, 277], so ist doch andererseits nicht abzustreiten, daß die beim Menschen und beim Carnivoren recht gut leberspezifische GPT sich bei Lebererkrankungen der Herbivoren mehr oder weniger passiv verhält und keinen Indikator für Hepatopathien abgibt. Die Prägung der «Begriffe» Herztransaminase

und Lebertransaminase durch Zurgilgen und Ruther und ihre Anwendung ausgerechnet beim Pferd entbehrt jeder ernsthaften Grundlage [363][1].

Zusammenfassung

Wir haben versucht, die heutigen Kenntnisse von Biochemie und Biologie der Serumenzyme kurz zusammenzufassen. Grobe Simplifizierungen und die Auslassung wichtiger Befunde sollten vermieden werden, doch war eine Vereinfachung im Rahmen dieser Übersicht nicht zu umgehen. Die Grenzen und Möglichkeiten einer klinischen Enzymologie beim Tier wurden angedeutet durch Hinweise auf die Fehlerquellen in der Methodik und auf die Interpretationsschwierigkeiten bei der Verwertung der Resultate. Die Kenntnis der möglichen Fehler und falschen Schlüsse scheint uns die Voraussetzung zur Beurteilung fremder und eigener Ergebnisse zu sein. Es geht aus den behandelten Grundlagen der Enzymologie nach unserer Meinung hervor, daß die Bestimmung von Serumenzymaktivitäten nicht nur eine Bereicherung der Diagnostik darstellen kann, sondern daß hier ein Einblick in physiologische und pathogenetische Mechanismen gewonnen werden dürfte, der die diagnostische Bedeutung an Wichtigkeit oft übertreffen wird. Enzymaktivitätsschwankungen im Serum müssen als Symptome von Krankheiten aufgefaßt werden. Ihre Bestimmung ist in keiner Weise etwa einem Funktionstest irgendeines Organs gleichzusetzen.

Résumé

Nous avons essayé de résumer brièvement nos connaissances actuelles en biochimie et biologie des sérums enzymatiques. Il y a lieu d'éviter de grossières simplifications ainsi que l'omission d'examens importants, quoique une simplification n'ait pas pu être évitée dans le cadre de cette étude. Les limites et possibilités d'une enzymologie chez l'animal ont été signalées par des allusions aux sources d'erreurs de la méthodique et aux difficultés d'interprétation intervenant lors de l'appréciation des résultats obtenus. A notre avis, la connaissance d'erreurs possibles et de fausses conclusions constitue la condition préalable de l'appréciation de résultats tant étrangers que propres. Nous pensons que la définition des activités des sérums enzymatiques ne forme pas seulement un enrichissement du diagnostic, mais aussi de nos connaissances des mécanismes physiologiques et pathogénétiques. Les variations des activités enzymatiques dans le sérum doivent être considérées comme symptômes de maladies. Leur appréciation ne constitue en aucun cas un test fonctionnel de tel ou tel organe.

Riassunto

Abbiamo tentato di riassumere brevemente le odierne conoscenze di biochimica e di biologia degli enzimi del siero. Si dovrebbero evitare le semplificazioni grossolane e l'omissione di reperti importanti; tuttavia non si poteva scansare una semplificazione

---

[1] Literatur:

Pferd: [79, 130, 156, 189, 217, 173];
Wiederkäuer: [16, 35, 36, 49, 58, 74, 75, 79, 97, 98, 116, 124, 125, 129, 130, 140, 156, 163, 164, 184, 190, 193, 217, 232, 237, 287, 298, 305, 308];
Schwein: [20, 79, 130, 156, 180, 188, 194, 286];
Hund: [3, 42, 78, 79, 156–159, 189, 192, 198, 200–202, 216–218, 233, 234, 235, 241, 247, 252, 290, 351];
Katze: [81];
Geflügel: [79, 80, 128, 156].

nel quadro di questo prospetto. I confini e le possibilità di una enzimologia clinica nell animale furono indicate con acceni alle sorgenti di errore nel metodo e alle difficoltà di interpretare la valutazione dei risultati. Ci sembra che le conoscenze dei possibili errori e di false conclusioni siano la premessa per valutare risultati estranei e propri. Secondo la nostra opinione, dalle basi curative della enzimologia risulta che la determinazione di attività di enzimi sierici non può costituire solo un arricchimento della diagnosi, ma che qui si potrebbe raggiungere uno sguardo in meccanismi fisiologici e patogenetici, il quale spesso supererà il significato diagnostico. Oscillazioni nell'attività enzimatica del siero sono da considerare come sintomi morbosi. La loro determinazione non va equiparata in nessun modo a un test funzionale qualsiasi di un organo.

Summary

We have attempted to summarize briefly the present state of knowledge of the biochemistry and biology of serum enzymes. We have tried not to simplify too drastically or to omit important results, but it was impossible to avoid a certain simplification in the framework of this survey. The limits and possibilities of a clinical enzymology of animals were indicated by reference to the possible mistakes in method and the difficulties of interpreting results. An awareness of possible mistakes and false conclusions seems to us necessary for judging one's own and other people's results. The basic principles of enzymology lead us to think that the determination of serum enzyme activity not only improves diagnostic possibilities but also gives an even more important insight into the physiological and pathogenetical mechanisms. Variations in serum enzyme activity must be regarded as symptoms of disease, but their determination cannot replace the functional test of any particular organ.

Literatur

[1] Aebi H.: Kinetik im Biochem. Taschenbuch. Hrsg. H.M. Rauen, Springer, Berlin 1956. – [2] Aebi H., P. Ebnöter: Biochem. Z. *328*, 126 (1956). – [3] Agress C.M. et al.: Circulation *11*, 711 (1955). – [4] Akamatsu S.: Biochem. Z. *142*, 184 (1923). – [5] Alivisatos S.G.A., O.F. Denstedt: Science *114*, 281 (1951). – [6] Allen J.M.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 937 (1961). – [7] Altmann K.I. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 142 (1958). – [8] Altmann K.I.: Amer. J. Med. *27*, 937 (1959). – [9] Amelung D., H.D. Horn: Dtsch. Med. Wschr. *81*, 1701 (1956). – [10] Amelung D. et al.: Klin. Wschr. *36*, 963 (1958). – [11] Amelung D.: Habilitationsschrift Düsseldorf 1959, zit. nach 152. – [12] Amelung D.: Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. *318*, 219 (1960). – [13] Amelung D.: Dtsch. Med. Wschr. *86*, 731 (1961). – [14] Anker M.S.: in: The Plasma Protein. Hrsg. F.W. Putnam, NY und London 1960. – [15] Armstrong A.R. et al.: Canad. Med. Ass. J. *31*, 14 (1934). – [16] Arundel J.H.: Austr. Vet. J. *38*, 307 (1962). – [17] Asaj A., M. Kralj: Vet. Arhiv *31*, 251 (1961). – [18] Augustinsson K.B., B. Olsson: Biochem. J. *71*, 477 (1959). – [19] Augustinsson K.B., B. Olsson: Biochem. J. *71*, 484 (1959). – [20] Augustinsson K.B. et al.: Zbl. Vet. Med. *7*, 729 (1960). – [21] Augustinsson K.B.: Ann NY Acad. Sci. *94*, 844 (1961). – [22] Awapara J., B. Seale: J. Biol. Chem. *194*, 497 (1952). – [23] Baier H., E. Mühler: Klin. Wschr. *37*, 598 (1959). – [24] Baker S.P. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *101*, 464 (1959). – [25] Barker J.N., H.G. Britton: J. Physiol. *143*, 50 P (1958). – [26] Bartlett G.R.: Ann NY Acad. Sci. *75*, 110 (1958). – [27] Beck W.S.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 4 (1958). – [28] Bell D.J.: Biochem. J. *75*, 224 (1960). – [29] Bell D.J.: Biochem. J. *80*, 44 P (1961). – [30] Bensley E.H. et al.: Amer. J. Clin. Path. *26*, 247 (1956). – [31] Berg P., E.J. Ofengand: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 78 (1958). – [32] Bergmann H.: Klin. Wschr. *39*, 923 (1961). – [33] Bergmeyer H.U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Hrsg. H.U. Bergmeyer, Weinheim 1962. – [34] Binkley F.: J. Biol. Chem. *236*, 735 (1961). – [35] Blincoe C., W.B. Dye: J. Anim. Sci. *17*, 224 (1958). – [36] Blincoe C., O.W. Marble: Amer. J. Vet. Res. *21*, 866 (1960). – [37] Bloom B., Y.J. Topper: Science *124*, 962 (1956). – [38] Bodansky O., H.L. Jaffe: Proc. Soc. Exp. Biol.

Med. *31*, 1179 (1934). – [39] Bodansky O., J. Scholler: Cancer Res. *16*, 894 (1956). – [40] Bodansky O.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 380 (1958). – [41] Bodansky O.: Amer. J. Med. *27*, 861 (1959). – [42] Boddie G.F.: Diagnostic Methods in Vet. Med. 5th ed. 1962, Oliver & Boyd, Edinburgh and London. – [43] Boesch F.: Diss. med. Zürich 1947. – [44] Boettge K. et al.: Arzneimittelforschung *7*, 24 (1957). – [45] Bonting S.L., I.M. Rosenthal: Nature *185*, 686 (1960). – [46] Bosman M.S.M.: Jaarb. Inst. Onderzoek. Landbouwgewassen *83* (1961). Vet. Bull. *32*, § 1678 (1962). – [47] Boyer P.D., M.P. Stulberg: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 92 (1958). – [48] Boyer P.D. et al.: The Enzymes 2nd Ed. 8 Bde. Acad. Press, NY und London. – [49] Boyd J.W.: Res. Vet. Sci. *3*, 256 (1962). – [50] Bracht H.: Langenbecks Arch. Klin. Chir. *277*, 626 (1954), zit. 52. – [51] Brecht W., J. Künkele: Klin. Wschr. *38*, 936 (1960. – [52] Bräutigam G.: Diss. Med. Vet. Berlin FU 1957. – [53] Bruns F.H.: Europ. Symp. Klin. Enzymol. Karger, Basel 1960. – [54] Bruns F.H. et al.: Klin. Wschr. *39*, 342 (1961). – [55] Bücher Th. et al.: in Hoppe-Seyler-Thierfelder, Hdb. Physiol. u. Path. Chem. Analyse. Hrsg. K. Lang, E. Lehnartz, 10. Aufl. – [56] Bücher Th., M. Klingenberg: Angew. Chem. *70*, 552 (1958). – [57] Bücher Th. et al.: 9th Middle East Med. Ass., Beirut 1959, zit. 152. – [58] Buck W.B. et al.: Cornell Vet. *51*, 568 (1961). – [59] Cabaud P. et al.: Amer. J. Clin. Path. *26*, 203 (1956). – [60] Cabaud P. et al.: Amer. J. Clin. Path. *26*, 1101 (1956). – [61] Cain S.M., A.B. Otis: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *103*, 439 (1960). – [62] Calkins E. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *64*, 410 (1956). – [63] Cammarata P.S., P.P. Cohen: J. Biol. Chem. *187*, 439 (1950). – [64] Cammarata P.S., P.P. Cohen: Biochim. Biophys. Acta *10*, 117 (1953). – [65] Campbell D.M., D.W. Moss: Clin. Chim. Acta *6*, 307 (1961). – [66] Cantoni O. et. al.: Atti Soc. Ital. Sci. Vet. *13*, 642 (1959). – [67] Cardeilhac J.C., P.T. Cardeilhac: Amer. J. Vet. Res. *23*, 293 (1962). – [68] Carter B.G. et al.: Ann NY Acad. Sci. *94*, 1004 (1961). – [69] Chinsky M. et al.: J. Lab. Clin. Med. *47*, 108 (1956). – [70] Cohen P.P.: J. Biol. Chem. *136*, 565 (1940). – [71] Cohen P.P.: J. Biol. Chem. *136*, 585 (1940). – [72] Colombo J.P. et al.: Klin. Wschr. *40*, 37 (1962). – [73] Colowick S.P., N.D. Kaplan: Methods in Enzymology. Acad. Press NY u. London 1957. – [74] Compagnucci M.: Boll. Soc. Ital. Sper. *35*, 762 (1959). – [75] Compagnucci M.: Acta Med. Vet. Napoli *6*, 155 (1960). Vet. Bull. *30*, § 4028 (1960). – [76] Coop M.C.: J. Amer. Vet. Med. Ass. *132*, 299 (1958). – [77] Cooper J. et al.: Arch. Biochem. *74*, 306 (1958). – [78] Cornelius C.E., E. Charles: Mod. Vet. Pract. *39*, 57 (1958), zit. 129. – [79] Cornelius C.E. et al.: Cornell Vet. *49*, 116 (1959). – [80] Cornelius et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *101*, 41 (1959). – [81] Cornelius C.E., J.J. Kaneko: J. Amer. Vet. Med. Ass. *137*, 62 (1960). – [82] Cornelius C.E.: Cornell Vet. *51*, *559* (1961). – [83] Dahlqvist A.: Nature *190*, 31 (1961). – [84] Daniel D., J.J. van Zyl: Lancet *I*, 998 (1952). – [85] Decamp C.E.: Vet. Med. *55*, 63 (1960). – [86] Delbrück A. et al.: Biochem Z. *331*, 273 (1959). – [87] DeRitis F. et al.: Minerva Med. *47*, 167 (1956). – [88] DeRitis F. et al.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *32*, 639 (1956). – [89] DeRitis F. et al.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *32*, *642* (1956). – [90] DeRitis F. et al.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *32*, 1555 (1956). – [91] DeRitis F. et al.: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. *32*, 1557 (1956). – [92] DeRitis F. et al.: Rec. Progr. Med. *20*, 533 (1956). – [93] Desliens L., R. Desliens: Bull. Acad. Vét. Franç. *32*, 29 (1959). – [94] Di Domizio G.: Acta Med. Vet. Napoli *5*, 317 (1959). Vet. Bull. *30*, § 1941 (1960). – [95] Dische Z.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 129 (1958). – [96] Dolder K.: Diss. med. vet. Zürich 1959. – [97] Done J. et. al.: Res. Vet. Sci. *1*, 76 (1960), zit. 98. – [98] Done J. et. al.: Res. Vet. Sci. *3*, 161 (1962). – [99] Dreyfus J.C. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 235 (1958). – [100] Dreyfus J.C. et al.: Rev. Franç. Et. Clin. Biol. *5*, 384 (1960). – [101] Dreyfus J.C. et al.: Rev. Franç. Et. Clin. Biol. *5*, 386 (1960). – [102] Dreyfus J.C., G. Schapira: Enzymes musculaires et sériques en pathologie musculaire. In: Enzymat. Regulation in der Klin. Hrsg. A. Gigon, H. Ludwig. Karger, Basel 1961. – [103] Dubach U.C.: Schweiz. Med. Wschr. *87*, 185 (1957). – [104] Dubach U.C.: Helv. Med. Acta *28*, 469 (1961). – [105] Dubach U.C.: Schweiz. Med. Wschr. *92*, 1436 (1962). – [106] Dunn M. et al.: J. Lab. Clin. Med. *51*, 259 (1958). – [107] Eichel H.J., J. Bukovsky: Nature *191*, 243 (1961). – [108] Emmerich R., H. Scheffler: Zschr. Altersforschung *6*, 156 (1952). – [109] Emmerich R., S. Zimmermann: Klin. Wschr. *37*, 935 (1959). – [110] Engelhardt-Gölkel A. et al.: Klin. Wschr. *36*, 409 (1958). – [111] Ewy Z., K. Pater: Med. Vet. *13*, 535 (1957). – [112] Fellenberg R. v. et al.: Biochem. Z. *336*, 334 (1962). – [113] Fleisher G.A. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *103*, 228 (1960). – [114] Folley S.J., H.D. Kay: Ergebn. Enzymforschg. *5*, 159 (1936). – [115] Ford E.J.H.: J. Comp. Path. *71*, 60 (1961). – [116] Ford E.J.H., J.W. Boyd: J. Path. Bact. *83*, 39 (1962). – [117] Forster G., J. Escher: Helv. Med. Acta *28*, 513 (1961). – [118] Forster G.: Schweiz. Med. Wschr. *92*, 1422 (1962). – [119] Franseen C.C., R. McLean: Amer. J. Cancer. *24*, 299 (1935). – [120] Freeman M.E.: Clin. Chim. Acta *6*, 300 (1961). –

[121] Gerlach U.: Klin. Wschr. *37*, 93 (1959). – [122] Geroff K.: Acta Vet. Acad. Sci. Hung. *11*, 269 (1961). – [123] Gössner W.: Dtsch. Med. Wschr. *83*, 1752 (1958). – [124] Gould C.M., F.C. Grimes: Vet. Rec. *71*, 586 (1959). – [125] Gould C.M., F.C. Grimes: Vet. Rec. *72*, 338 (1960). – [126] Granick S., D. Mauzerall: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 115 (1958). – [127] Gerenstein J. P.: Cancer Res. *16*, 641 (1956). – [128] Grün E. et al.: Arch. Exp. Vet. Med. *15*, 1259 (1961). – [129] Gründer H.D.: DTW *68*, 677 (1961). – [130] Gürtler H., H. Richter Zbl. Vet. Med. *6*, 705 (1959). – [131] Gürtler H., H. Mielke: BMTW *73*, 27 (1960). – [132] Gutman E.B., A.B. Gutman: J. Biol. Chem. *136*, 201 (1940). – [133] Gutman A.B.: Amer. J. Med. *27*, 875 (1959). – [134] Hauss W.H., H.J. Leppelmann: Klin. Wschr. *35*, 65 (1957). – [135] Hauss W.H., H.J. Leppelmann: Klin. Wschr. *35*, 71 (1957). – [136] Hauss W.H. et al.: Klin. Wschr. *35*, 957 (1957). – [137] Hauss W.H. et al.: Dtsch. Med. Wschr. *83*, 1310 (1958). – [138] Hauss W.H., H.J. Leppelmann: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 250 (1958). – [139] Havassy I.: Vet. Cas. *10*, 95 (1961). Vet. Bull. *31*, § 2761 (1961). – [140] Heidrich H. J. et al.: WTM *49*, 85 (1962). – [141] Heinecker R., I. Mayer: Klin. Wschr. *35*, 340 (1957). – [142] Henley K.S. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 270 (1958). – [143] Henley K.S. et al.: Gastroenterology *36*, 1 (1959). – [144] Henley K.S. et al.: Nature *184*, 1400 (1959). – [145] Henley K.S. et al.: J. Amer. Med. Ass. *173*, 977 (1960). – [146] Hess B.: Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. *63*, 541 (1957), zit. 152. – [147] Hess B.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 292 (1958). – [148] Hess B.: Klin. Wschr. *36*, 985 (1958). – [149] Hess B., J. Walter: Klin. Wschr. *38*, 1080 (1960). – [150] Hess B., S.J. Walter: Klin. Wschr. *39*, 213 (1961). – [151] Hess B., S.J. Walter: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 890 (1961). – [152] Hess B.: Enzyme im Blutplasma. Biochemie und Klinik. Monographie. Hrsg. G. Weitzel, N. Zöllner, Thieme, Stuttgart 1962. – [153] Hill B.R.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 304 (1958). – [154] Hill B.R., E.J. Meacham: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 868 (1961). – [155] Hirschmann Sh.Z.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 960 (1961). – [156] Hoe C.M.: Vet. Rev. Annot. *6*, 1 (1960). – [157] Hoe C.M., D.G. Harvey: J. Small Anim. Pract. *2*, 22 (1961). – [158] Hoe C.M.: Vet. Rec. *73*, 154 (1961). – [159] Hoe C.M.: Nature *192*, 1045 (1961). – [160] Hof J., I. Woller: Klin. Wschr. *34*, 98 (1956). – [161] Holmes J.R., C.H.G. Price: Vet. Rec. *69*, 1047 (1957). – [162[Horn H.D., D. Amelung: Dtsch. Med. Wschr. *82*, 619 (1957). – [163] Huhn J.E.: Zbl. Vet. Med. *8*, 842 (1960). – [164] Huhn J.E.: BMTW *74*, 308 (1961). – [165] Janowitz H.D., D.A. Dreiling: Amer. J. Med. *27*, 924 (1959). – [166] Jarret I.G., O.H. Eilzell: Austr. J. Exp. Biol. Med. Sci. *36*, 433 (1958). Vet. Bull. *29*, § 2660 (1959). – [167] Jehle H.: Proc. Nat. Acad. Sci. *45*, 1360 (1959). – [168] Kaplan N.O., M.M. Ciotti: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 701 (1961). – [169] Karmen A.: J. Clin. Invest. *34*, 131 (1955). – [170] Kay H.D.: Brit. J. Exp. Path. *10*, 253 (1929). – [171] Kewitz H.: Klin. Wschr. *41*, 53 (1963). – [172] King E.J.: Clin. Chem. *3*, 507 (1957). – [173] King E.J. et al.: Amer. J. Med. *27*, 849 (1959). – [174] King E.J., D.M. Campbell: Clin. Chim. Acta *6*, 301 (1961). – [175] Klaus D.: Klin. Wschr. *36*, 207 (1958). – [176] Kolb E.: BMTW *68*, 344 (1955). – [177] Kolb E.: Naturwissenschaften *42*, 418 (1955). – [178] Kolb E.: Arch. Exp. Vet. Med. *9*, 328 (1955). – [179] Kolb E., G. Wujanz: Zbl. Vet. Med. *6*, 118 (1959). – [180] Kolb E. et al.: Arch. Exp. Vet. Med. *16*, 327 (1962). – [181] Koller F.K. et al.: Helv. Med. Acta *15*, 356 (1948). – [182] Koshlund D.E.: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 98 (1958). – [183] Kowlessar O.D. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 836 (1962). – [184] Krähenmann A.: Diss. med. vet. Zürich 1959. – [185] Krebs H.A.: Biochem. J. *54*, 83 (1953). – [186] Krook L., R.B. Barrett: Cornell Vet. *52*, 459 (1963). – [187] Kunkel H.G., S.M. Ward: J. Exp. Med. *86*, 325 (1947). – [188] Kutas F.: Mag. állator. Lapja *16*, 139 (1961). Vet. Bull. *31*, § 3407 (1961). – [189] Kutas F., F. Karsai: Acta Vet. Acad.-Sci. Hung. *11*, 277 (1961). – [190] Kuttler K.L., D.W. Marble: Amer. J. Vet. Res. *19*, 632 (1958). – [191] La Due J.S. et al.: Science *120*, 497 (1954). – [192] La Due J.S. et al.: Circulation *12*, 736 (1955). – [193] Lagacé A. et al.: Amer. J. Vet. Res. *22*, 686 (1961). – [194] Lannek N. et al.: Nature *195*, 1006 (1962). – [195] Lasch H., L. Roka: Klin. Wschr. *32*, 460 (1954). – [196] Lax T. et al.: Sborn. vys. sk. zemedelsk. Brno Ser. B *9*, 327 (1961). Vet. Bull. *32*, § 3825 (1962). – [197] Lazarus S.S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *101*, 819 (1959). – [198] Lettow E.: BMTW *73*, 25 (1960). – [199] Lettow E., K. Dämmrich: Zbl. Vet. Med. *7*, 936 (1960). – [200] Lettow E.: Zbl. Vet. Med. *8*, 353 (1961). – [201] Lettow E.: Zbl. Vet. Med. *9*, 75 (1962). – [202] Lettow E.: Zbl. Vet. Med. *9*, 109 (1962). – [203] Lettow E. et al.: Zbl. Vet. Med. *9*, 978 (1962). – [204] Lettow E., H. Katzur: BMTW *75*, 328 (1962). – [205] Linderstrøm-Lang K. et al.: in 48, Bd. I (1959). – [206] Lindner H.: Klin. Wschr. *36*, 877 (1958). – [207] Lipmann F.: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 67 (1958). – [208] Löhr G.W. et al.: Klin. Wschr. *35*, 871 (1957). – [209] Löhr G. W., H. D. Waller: Klin. Wschr. *37*, 833 (1959). – [210] Löhr G.W., H.D. Waller: Dtsch. Med. Wschr. *86*, 27 (1961). – [211] Löhr G.W., H.D. Waller:

Dtsch. Med. Wschr. *86*, 87 (1961). – [212] London M. et al.: Cancer Res. *14*, 718 (1954). – [213] Lowenthal A. et al.: Ann. NY Acad. Sci *94*, 988 (1961). – [214] Lowy B.A. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 148 (1958). – [215] Lumry R., H. Eyring: J. Physiol. Chem. *58*, 110 (1958). – [216] Malherbe W. D.: J. South Afr. Vet. Med. Ass. *30*, 113 (1959). – [217] Malherbe W. D.: J. South Afr. Vet. Med. Ass. *31*, 159 (1960). – [218] Malluci L., A. Mantovani: Atti Soc. Ital. Sci. Vet. *13*, 729 (1959). – [219] Markert C. L., F. Møller: Proc. Nat. Acad. Sci. *45*, 753 (1959). – [220] Markert C. L., E. Appella: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 678 (1961). – [221] Marks P. A. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 95 (1958). – [222] Marks P. A.: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 529 (1958). – [223] Martland M., R. Robison: Biochem. J. *21*, 665 (1927). – [224] McGeachin R. L., J.M. Reynolds: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 996 (1961). – [225] Meister A.: Science *120*, 43 (1954). – [226] Moeller J., L. Abt: Klin. Wschr. *30*, 340 (1952). – [227] Molander D. et al.: J. Lab. Clin. Med. *46*, 831 (1955). – [228] Moloney W.C.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 31 (1958). – [229] Montigel C.: Therap. Umschau *9*, 17 (1952). – [230] Montigel C., R. Pulver: Schweiz. Med. Wschr. *82*, 132 (1952). – [231] Moore B.W., P.U. Angeletti: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 659 (1961). – [232] Mortimer P.H. et al.: Nature *194*, 550 (1962). – [233] Moser K.: 27. Jahrestagung Dtsch. Ges. Kreislaufforschung, Bad Nauheim 1960. – [234] Müller F., E. Lettow: Zbl. Vet. Med. *6*, 340 (1959). – [235] Müller F.: BMTW *74*, 130 (1961). – [236] Müller U.: Diss. med. vet. Gießen 1959. – [237] Muth O.H.: J. Amer. Vet. Med. Ass. *142*, 272 (1963). – [238] Nisselbaum J.S. et al.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 970 (1961). – [239] Novelli G.D.: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 86 (1958). – [240] Nozacki M. et al.: J. Biochem. Tokio *44*, 595 (1957). – [241] Nydick I. et al.: Circulation *12*, 161 (1955). – [242] O'Kane D., I.C. Gunsalus: J. Biol. Chem. *170*, 425 (1947). – [243] O'Kane D., I.C. Gunsalus: J. Biol. Chem. *170*, 433 (1947). – [244] Orstadius K. et al.: Zbl. Vet. Med. *6*, 971 (1959). – [245] Pais H.: Diss. med. vet. Hannover 1959. – [246] Paul J., P.F. Fottrell: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 668 (1961). – [247] Pezold A.: BMTW *73*, 21 (1960). – [248] Pfleiderer G., E.D. Wachsmuth: Klin. Wschr. *38*, 1080 (1960). – [249] Pfleiderer G., E.D. Wachsmuth: Biochem. Z. *334*, 185 (1961). – [250] Plagemann P.G.W. et al.: J. Biol. Chem. *235*, 2282 (1960). – [251] Plagemann P.G.W. et al.: Biochem. Z. *334*, 37 (1961). – [252] Purchase H.G., H.B. W. Greig: J. South. Afr. Vet. Med. Ass. *31*, 251 (1960). – [253] Quick A.J. et al.: Amer. J. Med. Sci. *190*, 501 (1935). – [254] Quick A.J. et al.: Amer. J. Physiol. *200*, 609 (1961). – [255] Quinke E., W. Maurer: Biochem. Z. *329*, 392 (1957). – [256] Racker E.: Sciene *128*, 19 (1958). – [257] Racker E. et al.: J. Biol. Chem. *234*, 2510 (1959). – [258] Raggi F. et al.: Proc. Soc Exp. Biol. Med. *105*, 485 (1960). – [259] Rapp J.P.: Amer. J. Vet. Res. *23*, 343 (1962). – [260] Reichard H.: J. Lab. Clin. Med. *53*, 417 (1959). – [261] Reitman S., S. Fränkel: Amer. J. Clin. Path. *28*, 1 (1957). – [262] Renk W.: Berl. Med. *10*, 239 (1959), zit. n. 190. – [263] Richterich R.: Enzymopathologie. Enzyme in Klinik und Forschung. Springer, Berlin etc. 1958. – [264] Richterich R. et al.: Klin. Wschr. *39*, 346 (1961). – [265] Richterich R. et al.: Klin. Wschr. *39*, 987 (1961). – [266] Richterich R. et al.: Nature *191*, 508 (1961). – [267] Richterich R. et al.: Schweiz. Med. Wschr. *91*, 601 (1961). – [268] Richterich R.: 16. Österr. Ärztekongr. Therap. Umschau *20*, 33 (1963). – [269] Riser W.A.: J. Amer. Vet. Med. Ass. *128*, 609 (1956). – [270] Riva G.: Das Serumeiweißbild. 2. Aufl. Huber, Bern 1960. – [271] Rona P.: Handbuch biochem. Arbeitsmethoden. Hrsg. E. Abderhalden, Bd. 8. Urban & Schwarzenberg 1915, zit. n. 152. – [272] Rona P., L. Michaelis: Biochem. Z. *31*, 345 (1911). – [273] Sato S.A., P.A. Vallenas: Rev. Fac. Med. vet., Lima *15*, 231 (1960). – [274] Schleif H., D. Kamm: Klin. Wschr. *35*, 1083 (1957). – [275] Schlamowitz M.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 373 (1958). – [276] Schmidt E. et al.: Klin. Wschr. *35*, 842 (1957). – [277] Schmidt E. et al.: Klin. Wschr. *36*, 172 (1958). – [278] Schmidt E., F.W. Schmidt: Klin. Wschr. *37*, 784 (1959). – [279] Schmidt E. et al.: Klin. Wschr. 37, 1221 (1959). – [280] Schmidt E., F.W. Schmidt: Klin. Wschr. *38*, 957 (1960). – [281] Schmidt E., F.W. Schmidt: Europ. Symp. Klin. Enzymol. Karger, Basel 1961. – [282] Schnelle G.B.: Radiology in small animal practice. 2nd ed. North Amer. Vet. Evanston 1950. – [283] Schramm G., O. Armbruster: Z. Naturforschung 9b, 114 (1954). – [284] Schubert J.R. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *104*, 568 (1960). – [285] Schwert G.W.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 311 (1958). – [286] Seidel H. et al.: Arch. Exp. Vet. Med. *16*, 361 (1962). – [287] Setchell B.P. et al.: Austr. Vet. J. *38*, 62 (1962). – [288] Sibley J.A., A.L. Lehninger: J. Biol. Chem. *177*, 859 (1949). – [289] Sibley J.A.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 339 (1958). – [290] Siegel A., R.J. Bing: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *91*, 604 (1956). – [291] Skaggs J.W., J.A. Theobald: J. Amer. Vet. Ass. Congr. Proc. Pergamon Press 1959, zit. n. 190. – [292] Slätis P.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 10 Suppl. *33*, 83 (1958). – [293] Smith R. M., W.S.

Osborne-White: Nature *192*, 868 (1961). – [294] Sobal J. et al.: Amer. J. Clin. Path. *26*, 1477 (1956). – [295] Solomon A.K.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 175 (1958). – [296a] Steck W.: pers. Mitteilung. – [296] Stepankina M.K.: Trudy Inst. Physiol. Akad. Nauk. Kazakh SSR *2*, 57 (1959). Vet. Bull. *31*, § 1615 (1961). – [297] Stich W., A.Tsirimbas: Klin. Wschr. *40*, 115 (1962). – [298] Swingle K.F. et al.: Amer. J. Vet. Res. *20*, 75 (1959). – [299] Tanabe Y., F.H. Wilcox: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *103*, 68 (1960). – [300] Tanzer M.L., C. Gilvarg: J. Biol. Chem. *234*, 3201 (1959). – [301] Tashenov K.T.: Tr. Inst. Physiol. Akad. Nauk. Kazakh SSR *2*, 44 (1959). Vet. Bull. *31*, § 1614 (1961). – [302] Theorell H.: Science *124*, 467 (1956). – [303] Thiers R.E., B.L. Vallée: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 214 (1958). – [304] Thiéry G.: Rev. Elev. *12*, 273 (1959). – [305] Todd J.R.: Vet. Bull. *32*, 573 (1962). – [306] Tonhazy N.E. et al.: Arch. Biochem. *28*, 36 (1950). – [307] Trofimova R.M.: Tr. Inst. Physiol. Akad. Nauk. Kazakh SSR *2*, 84 (1959). Vet. Bull. *31*, § 1616 (1961). – [308] Tustin R.C. et al.: J. South. Afr. Vet. Med. Ass. *31*, 275 (1960). – [309] Unger G.: Diss. med. vet. Berlin FU 1956. – [310] Vesell E.S., A.G. Bearn: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 286 (1958). – [311] Vesell E.S. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *101*, 644 (1959). – [312] Vesell E.S., A.G. Bearn: J. Clin. Invest. *40*, 586 (1961). – [313] Vesell E.S.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 877 (1961). – [314] Vogell W. et al.: Biochem. Z. *332*, 81 (1959). – [315] Vorhaus L.J., R.M. Kark: Amer. J. Med. *14*, 707 (1953). – [316] Wagner R., R. Sparaco: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 16 (1958). – [317] Walker D.J.: Nature *184*, 1411 (1959). – [318] Walter H., F. Haurowitz: Science *128*, 140 (1958). – [319] Warburg O. et al.: Biochem Z. *282*, 157 (1935). – [320] Warburg O., W. Christian: Biochem Z. *286*, 81 (1936). – [321] Warburg O., W. Christian: Biochem. Z. *287*, 291 (1936). – [322] Warburg O., W. Christian: Biochem. Z. *314*, 149 (1943). – [323] Warburg O., W. Christian: Biochem. Z. *314*, 399 (1943). – [324] Warburg O., E. Hiepler: Z. Naturforschung 7b, 193 (1952). – [325] Warburg O. et al.: Z. Naturforschung 9b, 109 (1954). – [326] Warburg O. et al.: Z. Naturforschung 9b, 391 (1954). – [327] Warburg O.: Naturwissenschaften *41*, 485 (1954). – [328] Warburg O.: Naturwissenschaften *42*, 401 (1955). – [329] Weber G., G. Pfleiderer: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 933 (1961). – [330] Weimer H.E. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *101*, 344 (1959). – [331] White L.P.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 349 (1958). – [332] Wieland Th. et al.: Biochem. Z. *329*, 112 (1957). – [333] Wieland Th. et al.: Biochem. Z. *329*, 370 (1957). – [334] Wieland Th. et al.: Biochem. Z. *331*, 103 (1959). – [335] Wieland Th. et al.: Biochem. Z. *332*, 1 (1959). – [336] Wieland Th.: Z. Naturforschung 15b, 434 (1960). – [337] Wieland Th., G. Pfleiderer: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 691 (1961). – [338] Wieland Th., G. Pfleiderer: Angew. Chemie *74*, 261 (1962). – [339] Wieme R.J., Y.v. Maercke: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 898 (1961). – [340] Winzler R.J.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 37 (1958). – [341] Wohlgemuth J.: Biochem. Z. *9*, 1 (1908). – [342] Wolf H.P. et al.: Gastroenterologia *87*, 172 (1957). – [343] Woodard H.Q.: Amer. J. Med. *27*, 902 (1959). – [344] Wray S.: J. Clin. Path. *26*, 341 (1956). – [345] Wretlind B. et al.: Zbl. Vet. Med. *6*, 963 (1959). – [346] Wroblewski F., J.S. LaDue: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *90*, 210 (1955). – [347] Wroblewski F., P. Cabaud: Amer. J. Clin. Path. *27*, 235 (1957). – [348] Wroblewski F.: Amer. J. Med. *27*, 911 (1959). – [349] Wroblewski F. et al.: New. Engl. J. Med. *263*, 531 (1960), zit. n. 362. – [350] Wroblewski F., K. Gregory: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 912 (1961). – [351] Würzner H.: Diss. med. vet. Berlin FU 1959. – [352] Yagi K. et al.: Science *124*, 273 (1956). – [353] Yielding K.L., G.M. Tomkins: Proc. Nat. Acad. Sci. *45*, 1730 (1959). – [354] Yielding K.L., G.M.Tomkins: Proc. Nat. Acad. Sci. *46*, 1483 (1960). – [355] Young G.A. et al.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *106*, 592 (1961). – [356] Zamenik D.C. et al.: Proc. Nat. Acad. Sci. *44*, 73 (1958). – [357] Zierler K.L.: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 227 (1958). – [358] Zierler K.L.: Amer. J. Physiol. *192*, 283 (1958). – [359] Zimmermann H.J., H.C. Weinstein: J. Lab. Clin. Med. *48*, 607 (1956). – [360] Zucker M.B., J. Borelli: Ann. NY Acad. Sci. *75*, 203 (1958). – [361] Zuppinger K. et al.: Schweiz. Med. Wschr. *92*, 169 (1962). – [362] Zuppinger K. et al.: Schweiz. Med. Wschr. *92*, 198 (1962). – [363] Zurgilgen H., M.J. Ruther: Schweiz. Arch. Thk. *104*, 550 (1962).