

# Enzymaktivitätsbestimmungen im Kindesalter

## III. Serum Leucin-Amino-peptidase beim nephrotischen Syndrom

Von

G. Szász

Heim Pál Kinderkrankenhaus (Direktor: Dr. J. SÁRKÁNY), Budapest

(Eingegangen am 9. November 1962)

Die ersten Mitteilungen über die diagnostische Verwertung der Serum-Leucin-Amino-peptidase (LAP) wurden mit großem Interesse aufgenommen. Es schien, daß dieses Verfahren die Frühdiagnose des Pankreaskarzinoms ermöglichen würde [5, 23]. In den letzten Jahren hat es sich indessen gezeigt, daß die LAP nicht als spezifischer Indikator des Pankreaskarzinoms betrachtet werden könne: auch bei zahlreichen, verhältnismäßig benignen Erkrankungen beobachtete man extrem hohe Aktivität, und zugleich wurden Pankreaskarzinomfälle ohne erhöhte LAP-Aktivität beschrieben [1, 3, 7, 9, 11, 15, 16, 17, 21, 27].

Über den diagnostischen und insbesondere den differentialdiagnostischen Wert der LAP finden wir in der Literatur bis in die jüngste Zeit geteilte Meinungen, indessen sind sich die Autoren in einer Frage mehr oder minder einig: im allgemeinen muß die gesteigerte LAP-Aktivität auf eine Störung bzw. Erkrankung des Hepatobiliär-Pankreassystems zurückgeführt werden.

Bei den Erkrankungen des Hepatobiliär-Pankreassystems besteht nur minimale Korrelation zwischen der Transaminase- und LAP-Aktivität im Serum [3], ebenso wie bei normalem Material und bei den Hyperenzymämie nicht verursachenden Erkrankungen [30]. Die Ursache des abweichenden Verhaltens ist wahrscheinlich in den gesteigerte Enzymaktivität herbeiführenden Pathomechanismen sowie in der unterschiedlichen Lokalisation der Enzyme innerhalb der Organe zu suchen. Durch die gemeinsame Bestimmung der beiden Enzyme wird somit die Zahl der bei den Erkrankungen des hepatobiliären Systems, insbesondere bei den chronischen Formen ziemlich häufigen pseudonegativen Ergebnisse bedeutend herabgesetzt. Gleichzeitig konnte, vor allem bei den mit Cholestase einhergehenden Krankheitsbildern, eine Korrelation zwischen der LAP- und der alkalischen Phosphatase-Aktivität (APh) nachgewiesen werden [3, 17].

Bei verschiedenen Nierenkrankheiten vorgenommene LAP-Bestimmun-

Teilweise vorgetragen am VII. Internationalen Kongreß für Innere Medizin, München 1962.

gen werden von mehreren Verfassern erwähnt [9, 11, 16, 17]; beim Nephrose-Syndrom jedoch lediglich in einem Fall [1]. Die LAP-Aktivität zeigte bei Nierenkrankheiten fast ausnahmslos Werte innerhalb der normalen Grenzen, obwohl die Niere sehr viel LAP enthält, mehr als das Pankreas, ja auch als die Leber [8].

Nach den Ergebnissen histochemischer Untersuchungen ist die sehr intensive intrarenale LAP-Aktivität fast ausschließlich auf die Tubuli lokalisiert, während die Glomeruli und andere Nierensegmente praktisch keine Aktivität aufweisen [18]. Eben deshalb schließt die bei Erkrankungen der Glomeruli wahrgenommene normale LAP-Aktivität die etwaige aktivitätssteigernde Wirkung des Nephrose-Syndroms keineswegs aus.

Angesichts dieser Verhältnisse schien es lohnend, die LAP-Aktivität im Serum beim Nephrose-Syndrom zu studieren, d. h. einerseits zu untersuchen, ob die degenerative Erkrankung der Nierentubuli eine Veränderung der Serumaktivität nach sich zieht, andererseits zur Ergänzung unserer früheren Transaminase-Untersuchungen [29] weitere Angaben über die Beteiligung der Leber am Zustandekommen der Hyperfermentämie zu gewinnen.

Auf unsere LAP-Untersuchungen im Serum von nephrotischen Kindern haben wir in einer früheren Mitteilung bereits hingewiesen [28]. In vorliegender Arbeit wollen wir die im Serum nephrotischer Kinder kontinuierlich durchgeführten LAP-Bestimmungen ausführlich besprechen, ebenso die in

letzter Zeit vorgenommenen APh-Untersuchungen, und die festgestellten Werte mit den Ergebnissen unserer bereits früher beschriebenen Transaminase-Untersuchungen vergleichen.

#### UNTERSUCHUNGSMATERIAL UND METHODEN\*

Die Untersuchungen wurden an 32 nephrotischen Kindern ausgeführt. In den letzten 20 Monaten haben wir die LAP-Aktivität bei diesen Kindern in insgesamt 234 Fällen untersucht; die Zahl der auf ein Kind entfallenden Untersuchungen zeigt Abb. 1. Mit Ausnahme eines einzigen Falles wurde zugleich mit den einzelnen LAP-Bestimmungen auch der GOT- sowie bei 29 Kindern in insgesamt 69 Fällen auch der GPT-Wert ermittelt. Ergänzungsweise stellten wir in letzter Zeit bei 27 Kindern in insgesamt 67 Fällen auch die APh-Aktivität fest.

Die angewendete Therapie und die Altersverteilung der Kinder besprechen wir ausführlich in der vorigen Mitteilung, in der auch die zugleich mit den Enzymbestimmungen durchgeführten anderen Laboratoriumsuntersuchungen eingehend beschrieben wurden [29].

Bei der Bestimmung der LAP-Aktivität benutzten wir L-leucyl- $\beta$ -naphthylamid-hydrochlorid\*\* als Substrat. Das unter der hydrolysierenden Wirkung des Enzyms freigesetzte  $\beta$ -Naphthylamin wurde nach der Methode von BRATTON—MARSHALL diazotiert [2], das entstandene Diazoniumsalz ließen wir mit N-(1-naphthyl)-äthylendiamin-dihydrochlorid (Fluka, Buchs, Schweiz) reagieren, und die Färbung

\* Folgende Abkürzungen werden benutzt: Leucin-Aminopeptidase = LAP; alkalische Phosphatase = APh; Glutaminsäure-Oxalessigsäure-Transaminase = GOT; Glutaminsäure-Brenztraubensäure-Transaminase = GPT.

\*\* Für die Überlassung danken wir der Fa. DAJAC Laboratories, The Borden Chemical Co., Philadelphia, auch an dieser Stelle.

des gebildeten Azo-Farbstoffs (p-Aminoazo-Verbindung) bestimmten wir kolorimetrisch. Als 1 E wurde diejenige Aktivität von 1 ml Serum angenommen, bei der in 60 Minuten bei 37° C und der gegebenen Substratkonzentration 2,0 µg β-Naphthylamin zustande kommen.

Die APh-Bestimmung erfolgte nach KING—AMSTRONG [14], die GOT- und GPT-Bestimmung nach REITMAN und FRANKEL [20].

### ERGEBNISSE

Den physiologischen Wertbereich der LAP-Aktivität haben wir bereits ausführlich besprochen [31]. In guter Annäherung erwiesen sich die LAP-Werte als lognormal, weshalb die statistische Analyse der Ergebnisse mit ihren Logarithmen erfolgte. Bei den über 1 Jahr alten Kindern beträgt die durchschnittliche Aktivität (Mediane) 135 E. Als physiologisch betrachten wir die Werte innerhalb der 10%igen Grenzen (107—170), als pathologisch die Werte außerhalb der 5%igen Grenzen (100—180 E). Die Werte zwischen den beiden Grenzen bilden einen Übergang zwischen normal und pathologisch, weshalb diese zweckmäßigerweise mit Vorbehalt aufzunehmen sind. In den Abbildungen zeigt den Normalwertbereich ein dunkler Streifen an, während den Übergangswerten zwei den Normalwertbereich umfassende hellere dünne Streifen entsprechen.

Die APh-Aktivität bei Kindern betrachtet man bis zu 20—25 King-Armstrong-E im allgemeinen als normal [13, 19]; auf Grund langjähriger Beobachtungen haben wir 25 E als obere Grenze angenommen.

Sämtliche unsererseits an nephrotischen Kindern vorgenommenen 234 LAP-Untersuchungen sind in Abb. 1 zusammengefaßt. Ebenso wie unsere GOT-Ergebnisse [29] sind nur annähernd 25—30% der LAP-Werte gesteigert, und kaum 2—3% zeigten verminderte Aktivität.

Gesteigerte Aktivität beobachteten wir bei 19 der 32 Kinder. Im Verlauf der mehrmals wiederholten Bestimmungen (7 oder mehr Untersuchungen) sahen wir indessen permanent pathologische Werte lediglich bei 3 Kindern. Unter den in einem weiteren Fall (Nr. 17) ausgeführten 13 Bestimmungen fiel nur eine normal aus. Ausschließlich gesteigerte Aktivität fanden wir noch bei 3 Kindern, bei welchen sich bislang nur die Möglichkeit zu je einer Untersuchung bot; bei den restlichen 12 Fällen kamen sowohl normale wie pathologische Werte vor. Die Aktivitätssteigerung war im allgemeinen mäßig; die pathologischen Werte schwankten überwiegend zwischen 170 und 250 E; höhere Werte stellten wir nur bei 3 Kindern anlässlich der insgesamt 11 Bestimmungen fest.

Bisher schien es, als ob unsere LAP-Ergebnisse mit den Resultaten der früher mitgeteilten GOT-Untersuchungen fast genau übereinstimmten. Das Bild ändert sich indessen, wenn wir die Ergebnisse der zu gleicher Zeit vorgenommenen LAP- und GOT-Bestimmungen vergleichen. Die LAP- und die zugehörigen GOT-Werte veranschaulicht Abb. 2; an der Ordinate sind die LAP-, an der Abszisse die GOT-Werte angegeben,

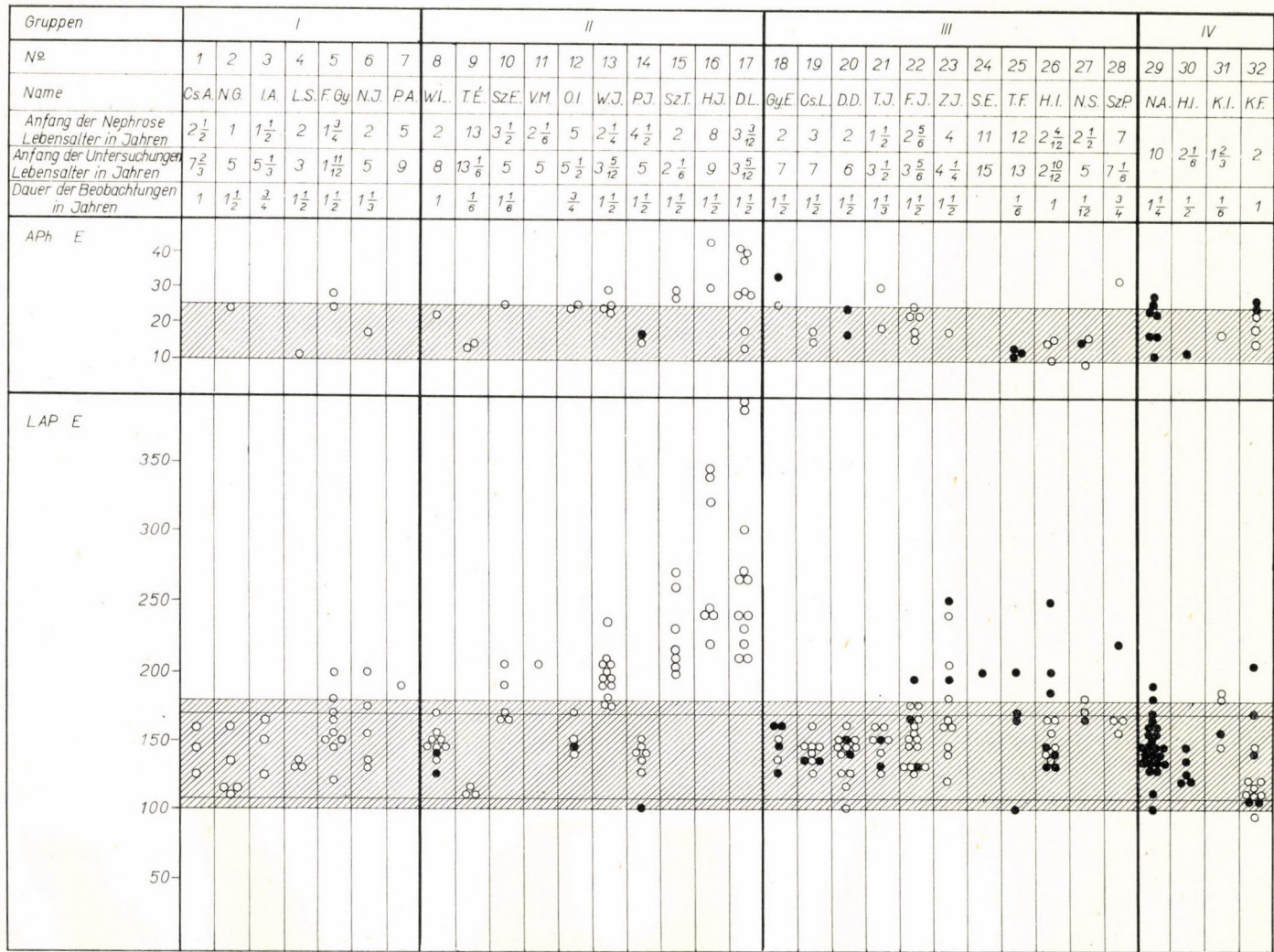


ABB. 1. ○ Untersuchung bei eiweißfreiem Harn oder mäßiger Proteinurie ● Untersuchung bei schwerer Proteinurie

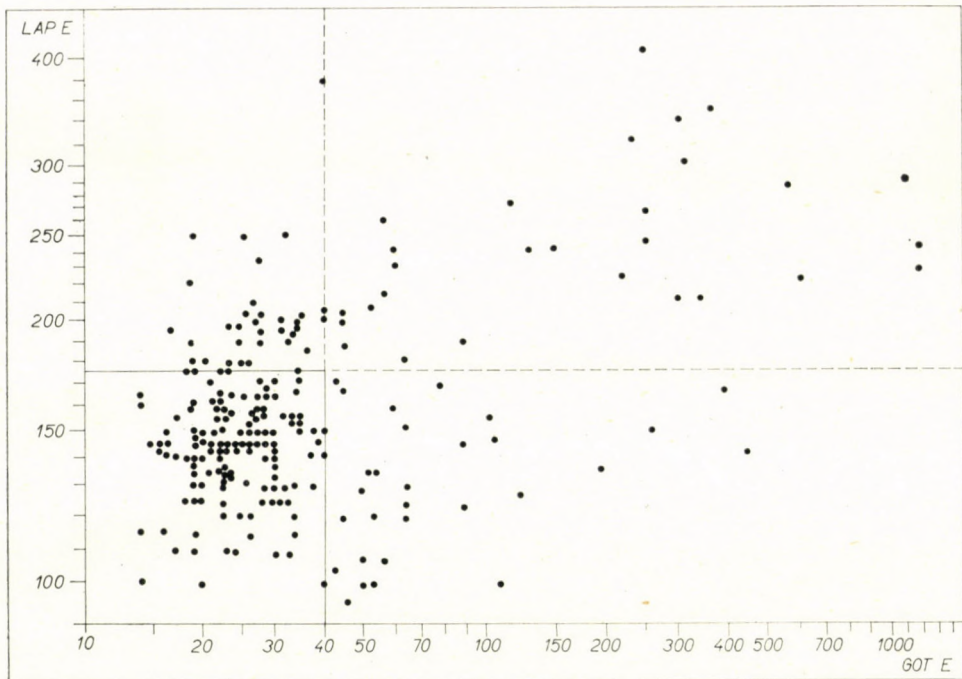


ABB. 2

beide an der logarithmischen Skala, jedoch mit jeweils anderem Maßstab. Die dunkle Zone zeigt die für beide Enzyme normalen Werte an.

Gesondert zeigten etwa  $\frac{2}{3}$  der Resultate dieser beiden Enzymuntersuchungen normale Aktivität, bei gleichzeitiger Bestimmung war jedoch die Aktivität beider Enzyme nur bei annähernd 55% der Untersuchungen physiologisch. Gemeinsame Erhöhung trat in 15% der Fälle zutage; in weiteren jeweils 15% der Fälle war nur die Aktivität des einen Enzyms gesteigert und die des entsprechenden anderen innerhalb der normalen Grenzen geblieben.

Erhöhte APh-Aktivität fanden wir nur bei 12 von 27 Kindern; infolge der konsequent gestiegenen Aktivität

in den einzelnen Fällen beobachteten wir aber dennoch bei 35—40% sämtlicher Untersuchungen ( $n=67$ ) pathologische Werte (Abb. 1).

Die APh- und die zugehörigen LAP- bzw. GOT-Werte sind in Abb. 3 bzw. 4 enthalten. In diesen bedeuten die mit unterschiedlicher Bezeichnung versehenen Punkte diejenigen Untersuchungen, in denen die Aktivität des in der betreffenden Abbildung nicht vorkommenden dritten Enzyms pathologisch ausfiel.

Bei  $\frac{2}{3}$  der pathologischen APh-Werte war die Aktivität mindestens des einen oder die der beiden anderen Enzyme gleichfalls erhöht. Zugleich aber ist die APh-Aktivität bei 15—20% sämtlicher APh-Untersuchungen innerhalb der normalen Grenzen ge-

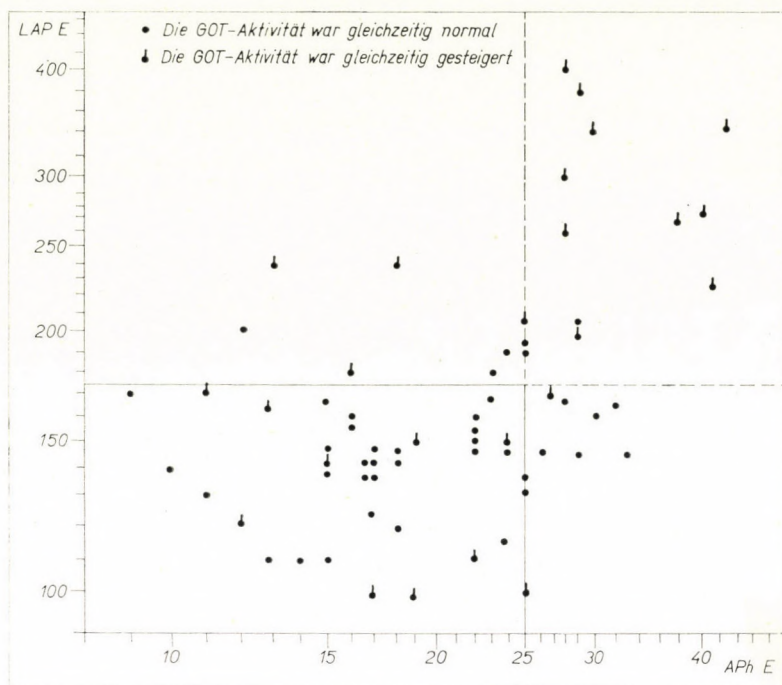


ABB. 3

blieben, während von den anderen beiden Enzymen die Aktivität beider oder nur des einen zugenommen hatte.

Die Zusammenhänge zwischen der Aktivität der einzelnen Enzyme wurden auch durch Korrelationsberechnungen ausgewertet:\* während zwischen der GOT- und GPT-Aktivität eine sehr enge Korrelation besteht, unterscheiden sich zwar die Korrelationskoeffizienten der anderen Enzyme signifikant von Null, doch ist ihr Wert wesentlich niedriger. (S. Tabelle I.) Auch daraus geht hervor, daß sich die GOT- und die GPT-Aktivität unter den Versuchsbedin-

gungen fast parallel verändert, während die Aktivität der anderen Enzyme vom Krankheitsverlauf weniger ähnlich beeinflusst wird.

Allgemeingültige Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der Enzymuntersuchungen und den klinischen Beobachtungen vermochten wir nicht festzustellen, weshalb wir gezwungen sind, die einzelnen Fälle gesondert zu besprechen. Auf Grund gewisser Analogien teilten wir das Untersuchungsmaterial in 4 Gruppen ein, die wir einzeln erörtern. In Abb. 1 sind die Gruppen durch dickere senkrechte Linien voneinander getrennt; die leeren Ringe entsprechen den Ergebnissen des zur Zeit eiweißfreien Harns oder mäßiger Proteinurie, die dunklen Ringe dagegen derjenigen bei

\* Herrn Dr. I. JUVAN CZ und Herrn P. CSÁKI danken wir für die freundliche Unterstützung bei den Berechnungen.

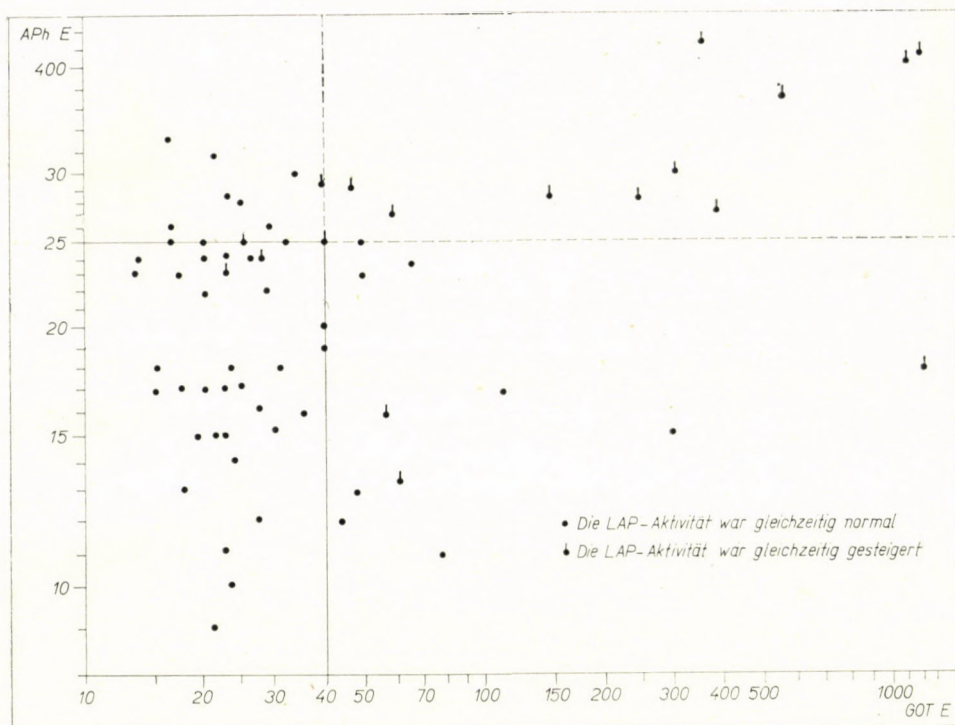


ABB. 4

schwerer Proteinurie bzw. den Ergebnissen der bei diesen Zuständen ausgeführten LAP-Untersuchungen.

Die LAP-Untersuchungen wurden 10 Monate nach den GOT-Bestimmungen begonnen, und die Materialsammlung für vorliegende Mitteilung schlossen wir 6 Wochen nach der Niederschrift der vorigen Arbeit ab. Infol-

gedessen sind nur 31 Kinder in den beiden Mitteilungen identisch, und mehrere Kinder mußten wegen einer Veränderung im klinischen Zustand in eine andere Gruppe eingeteilt werden. Notwendigerweise hat sich somit im Vergleich zur vorigen Mitteilung auch die Nummer der einzelnen Kinder geändert.

TABELLE

Zusammenhänge zwischen der Aktivität der einzelnen Enzyme

	GOT—GPT	GOT—LAP	APh—LAP	APh—GOT
n	41	232	69	69
r	0,96	0,44	0,50	0,34
p	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,01

Bei den 7 Kindern der *I. Gruppe* (Fälle Nr. 1—7) handelte es sich ausnahmslos um sehr gutartige, leichte Fälle oder um solche, die im Verlauf der langen Behandlung symptomfrei geworden sind. Ihre gemeinsamen Merkmale waren seit Untersuchungsbeginn ein guter Allgemeinzustand, proteinfreier Harn und — von kleineren Schwankungen abgesehen —

gewöhnlich hohen Serumalbuminwert (4,8 und 5,0 g%), beim letzteren bei zunehmendem gamma-Globulinwert (1,1 → 1,8 g%). In beiden Fällen war die GOT-Aktivität permanent normal. Beim Fall Nr. 7 war das Kind zur Zeit der einzigen hohen LAP-Wert ergebenden Untersuchung bereits seit 2 Jahren symptomfrei (gleichzeitig GOT = 85 E).

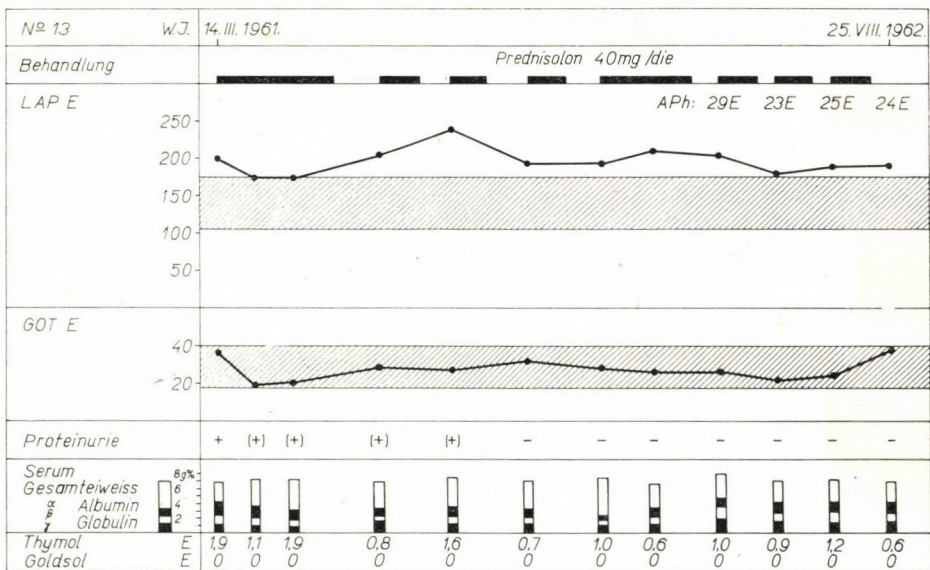


ABB. 5

normale blutchemische Ergebnisse; Prednisolon wurde ihnen seit mindestens 12 Monaten nicht verabreicht.

Bei den Fällen Nr. 1—4 war — ausser der einmal beobachteten gesteigerten GOT-Aktivität (63 E) im Fall Nr. 4 — die Aktivität sämtlicher untersuchten Enzyme normal. Bei den Fällen Nr. 5 und 6 war die LAP-Aktivität jeweils zweimal erhöht, beim ersteren neben einem un-

Bei den 10 Fällen der *II. Gruppe* (Nr. 8—17) beobachteten wir während der Dauer unserer Untersuchungen größtenteils infolge der unregelmäßigen Prednisolon-Medikation ausnahmslos periodisch oder ständig mehr oder minder starke Proteinurien und dementsprechend schwankende blutchemische Resultate.

Bei den Kindern Nr. 8 und 9 war die Aktivität sämtlicher Enzyme normal. Die LAP- und GOT-Werte der



Fälle Nr. 10 und 11 verteilten sich auf den pathologischen und physiologischen Bereich. Bei dem Kind Nr. 12 blieb die LAP-Aktivität innerhalb der normalen Grenzen, während die Transaminasewerte größtenteils pathologisch waren.

Das Kind Nr. 13 bekam unregelmäßig Prednisolon, war aber klinisch dennoch in gutem Zustand; die zu

Aph-Werte waren normal, die Transaminase-Aktivität war jedoch ständig erhöht, die gamma-Globulinwerte zeigten steigende Tendenz (0,7 → 1,5 g %). Bei der letzten Untersuchung stellten wir ein leichtes Rezidiv fest, die tägliche Eiweißausscheidung betrug mehr als 1 g, die LAP-Aktivität war unter die untere Grenze des Normalwertes gesunken, und ebenso

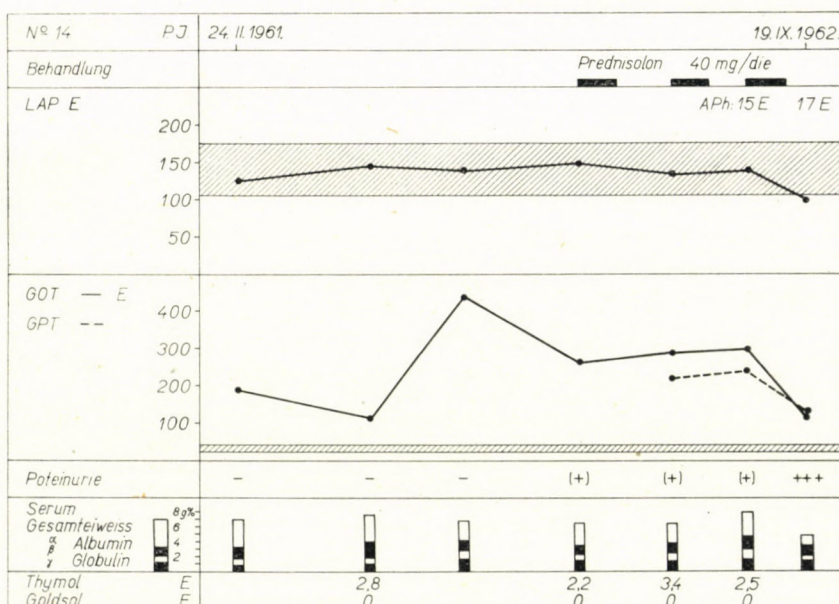


ABB. 6

Beginn der Untersuchungen beobachtete schwache Proteinurie verschwand nach und nach. Die LAP- und größtenteils auch die APh-Aktivität war ständig pathologisch, dagegen waren die Transaminasewerte ausnahmslos normal (Abb. 5).

Das Kind Nr. 14 nahm das Medikament unregelmäßig, ungeachtet dessen beobachteten wir Proteinurie erst in letzter Zeit; die LAP- und

hatte die Transaminase-Aktivität wesentlich nachgelassen (Abb. 6).

Beim Fall Nr. 15 enthielt der Harn trotz regelmäßiger Medikation fast dauernd Eiweiß, und die Aktivität sämtlicher Enzyme war permanent pathologisch; der gamma-Globulinwert war von 0,6 g % auf 1,5 g % gestiegen.

Das Kind Nr. 16 bekam infolge ungeordneter Familienverhältnisse

kaum das Medikament und wurde unzureichend ernährt. Die Blutuntersuchungsergebnisse schwankten, der gamma-Globulinwert zwischen 1,0—1,2 g%; der Harn enthielt ständig Eiweiß, die Aktivität sämtlicher Enzyme war bei allen Untersuchungen wesentlich erhöht (Abb. 7).

Ikterus. Ergebnis der histologischen Untersuchung der anlässlich der Operation (omento-renaler Shunt, Splenektomie) gewonnenen Leber- und Nieren-Exzidate: Portalzirrhose (chronische Inflammation mit lebhafter zellulärer Proliferation) mit darauf beruhender tyraminämischer

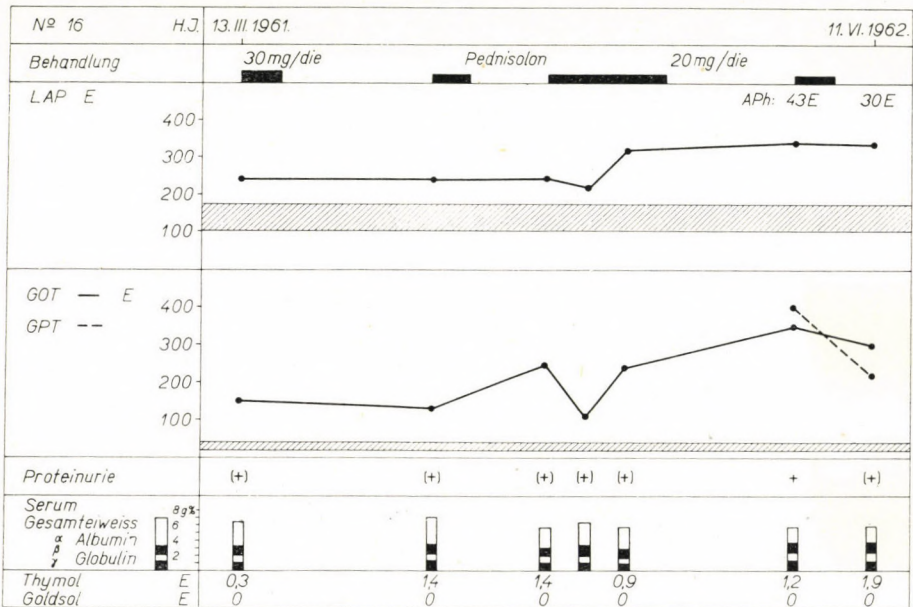


ABB. 7

Bei dem Fall Nr. 17 hatte die Proteinurie eigentlich schon vor Beginn der LAP-Untersuchungen aufgehört, die Hepatosplenomegalie war aber schon vorher vorhanden gewesen. Die anfangs mäßig pathologische LAP- und insbesondere die Transaminase-Aktivität stiegen bis zu extrem hohen Werten; das klinische Bild entsprach der Portalzirrhose. Die Kolloidproben wurden erst im sehr fortgeschrittenen Stadium pathologisch, und es entwickelte sich auch leichter

Nephronläsion sowie einer mit der portalen Hypertension zusammenhängenden Milzfibrose.\* Anlässlich der 2 Wochen nach der Operation vorgenommenen Untersuchung war die Aktivität der Enzyme praktisch noch unverändert, nur der Aph-Wert hatte sich normalisiert. Bei den späteren Untersuchungen erwiesen sich die

\* Die Operation wurde von Herrn Oberarzt Dr. L. HORVÁTH ausgeführt; für die Überlassung der histologischen Untersuchungsergebnisse danken wir den Herren Prof. Dr. E. BALOGH und Dr. L. KIRÁLY.

Transaminasen nur noch mäßig pathologisch, bei der letzten Untersuchung war der APh-Wert indessen wieder krankhaft und auch die LAP-Aktivität erhöht, gleichzeitig aber der Ikterus verschwunden und der gamma-Globulin-Wert sowie der der Kolloidproben gesunken.

Sämtliche 11 Kinder der *III. Gruppe* (Fälle Nr. 18—28) hatten in der Periode der Enzymuntersuchungen infolge eigenmächtiger Unterbrechung der Prednisolonbehandlung oder infolge von Infektionen ein, zum Teil auch mehrere Rezidive überstanden. Anlässlich der Rezidive traten die charakteristischen Symptome des nephrotischen Syndroms in sehr prägnanter Form in Erscheinung.

Das Kind Nr. 18 befindet sich wegen der unregelmäßigen Medikation fast dauernd in der akuten Phase; von den pathologischen APh-Werten abgesehen, ist die Aktivität der anderen Enzyme normal.

Außerhalb der Rezidivperiode ist der Harn des Kindes Nr. 19 eiweißfrei, während beim Fall Nr. 20 ständig eine leichte Proteinurie anwesend ist. Unabhängig vom momentanen klinischen Zustand ist die Aktivität der Enzyme permanent normal.

Beim Fall Nr. 21 ist die LAP-Aktivität normal und hat sich unter dem Einfluß des Rezidivs nicht wesentlich geändert. Der GOT-Wert ist innerhalb der normalen Grenzen im allgemeinen etwas erhöht, ja zeitweise auch pathologisch.

Das Kind Nr. 22 befindet sich — vom Rezidiv abgesehen — in gutem Zustand, seine Transaminase-

Aktivität ist normal, die LAP- und APh-Werte gehen nicht oder kaum über die obere Grenze hinaus. Den einzigen pathologischen LAP-Wert stellten wir auf dem Höhepunkt des Rezidivs bei bereits normalem Serum-eiweißwert fest.

Die Transaminase-Aktivität im Fall Nr. 23 ist normal, der LAP-Wert im Verlauf des Rezidivs pathologisch geworden; indessen lag kein deutlicher Zusammenhang zwischen dem LAP-Wert und der Proteinurie vor.

Bei dem Kind Nr. 24 ist die einzige Untersuchung nach mehrjähriger Medikationspause in schwerem Zustand vorgenommen worden; LAP und GPT (44 E) ergaben pathologische Resultate, GOT zeigte normale Aktivität.

Der Fall Nr. 25 befand sich im Zeitpunkt der Untersuchungen in noch schlechterem Zustand; die LAP-Aktivität stieg mehr und mehr (100 → 170 → 200 E), die anfangs hohen Transaminasewerte normalisierten sich jedoch vorübergehend, während die Proteinurie trotz der Behandlung nicht abnahm.

Das Kind Nr. 26 begannen wir im 5. Monat der Erkrankung, nach einer ACTH-Kur, in der noch ausgesprochen akuten Phase zu untersuchen; die Leber war 2 querfingerbreit, auch die Kolloidproben fielen pathologisch aus (Th = 4—13 E, Gs = 1—2 E). Die LAP-Aktivität war nur anlässlich der ersten drei Untersuchungen pathologisch, und seither schwankt auch die GOT-Aktivität zwischen normalen und leicht pathologischen Werten. Unlängst hat sich der Zustand gebessert,

seither ist die Aktivität der Transaminasen wieder normal.

Das Kind Nr. 27 begannen wir ebenfalls in der akuten Phase zu untersuchen; die Aktivität der Enzyme war normal. Zwei Wochen später, nach Rückentwicklung der Proteinurie, ist auch die LAP- und Transaminase-Aktivität schwach pathologisch geworden.

Die normale LAP-Aktivität im Fall Nr. 28 wurde während des Rezidivs entschieden pathologisch, zugleich ist die Transaminase-Aktivität gesunken.

Die Untersuchung der 4 in der IV. Gruppe zusammengefaßten Kinder (Fälle Nr. 29—32) begann einheitlich vor der Diagnosestellung des Nephrose-Syndroms und vor Einleitung der Hormontherapie.

Bei der Nephrose des Falles Nr. 29 handelte es sich um die schwerste unter allen Kindern, die jeder Behandlung gegenüber refraktär blieb. Die LAP-Aktivität schwankte zwischen der unteren und oberen Grenze des Normalwertbereichs, ja ging einmal sogar darüber hinaus. Die Transaminase-Aktivität war innerhalb der normalen Grenzen im allgemeinen niedrig, aber seit dem vor 5 Monaten erfolgten Absetzen der Prednisolon-Medikation weiterhin gesunken.

Den Fall Nr. 30 kennzeichnet gleichfalls die schwere und permanente Proteinurie; die LAP-Aktivität ist völlig normal, die Transaminase-Werte hingegen fallen ständig pathologisch aus.

Beim Kind Nr. 31 ist die LAP-Aktivität seit dem Nachlassen der Proteinurie gestiegen und später wie-

der normal geworden. Pathologisch sind die Thymol- (4,1—8,4 E) und die Goldsol-Werte (2—4 E), hoch ist auch der Serum-Gammaglobulingehalt (1,9—2,9 g%).

Beim Fall Nr. 32 schwankte die LAP-Aktivität zwischen gesunkenen und schwach erhöhten Werten, während die Transaminase-Aktivität größtenteils pathologische Werte zeigt.

#### BESPRECHUNG

Auf Grund unserer Transaminase-Untersuchungen bei nephrotischen Kindern waren wir zu der Schlußfolgerung gelangt, daß für das Zustandekommen der Hyperfermentämie die Leber verantwortlich sei, während sich die Rolle der Niere im Rahmen der Proteinurie auf die Fermentausscheidung beschränke [29]. Inwieweit wird nun diese Hypothese durch die Ergebnisse unserer LAP- und APh-Untersuchungen bestärkt bzw. modifiziert?

Die erhöhte LAP-Aktivität im Serum kann grundsätzlich ebenso eine Folge des in den Nierentubuli vor sich gehenden degenerativen Prozesses wie des gesteigerten Eiweißstoffwechsels sein. Gegen die erstere Möglichkeit spricht, wenn auch nicht unbedingt, daß die Degenerationsprozesse — von der Leber bis zum Nervensystem — im allgemeinen erst in den Progressionsperioden imstande sind, den über die Kapazität des Enzymeliminationsmechanismus hinausgehenden Enzymüberschuß in den Kreislauf zu sezernieren. Die Differenzierung wäre bis zu einem gewissen

Grade leichter, wenn wir die Wirkung des Niereninfarktes auf die LAP-Aktivität kennen würden.

Möglicherweise wird es mit Hilfe der Enzymeiweiß-Elektrophorese gelingen, den Ursprung des LAP-Überschusses im Serum der nephrotischen Kinder völlig klarzustellen. Bei anderen Erkrankungen sind derartige Untersuchungen bereits mit mehr oder weniger Erfolg ausgeführt worden [15].

Von den Transaminasen wird die reversible Umbildung der Fette und Zucker zu Eiweißstoffen katalysiert, die LAP hingegen nimmt an der wechselseitigen Umgestaltung der Proteine dadurch teil, daß sie imstande ist, N-terminales Leucin von den Peptiden abzuspalten und wahrscheinlich auf andere Peptide zu übertragen, d. h. die Transpeptisierung zu vollziehen. Bei Versuchstieren konnte mit eiweißreicher bzw. -armer Ernährung die Leucyl-Glycyl-Glycin-Spaltungsaktivität des Serums erhöht bzw. herabgesetzt werden [10], d. h. zwischen dem Eiweißstoffwechsel und der Serum-Peptidase-Aktivität trat ein direkter Zusammenhang zutage.

Infolge des gesteigerten Eiweißmetabolismus und der gleichzeitigen Veränderung in der Zellen-Energetik kann sich die aus den betroffenen Zellen in Richtung des extrazellulären Raums austretende Enzymmenge pathologisch entwickeln [22]. Eine ähnliche Erklärung der erhöhten APH-Aktivität wäre naturgemäß nur im Rahmen einer in viel weiterem Sinne verstandenen Stoffwechselstörung möglich.

Im Widerspruch zu diesen Gedankengängen scheint das Fehlen einer Korrelation zwischen den einzelnen Enzymen und insbesondere zwischen der LAP und den Transaminasen zu stehen. Vielleicht dürfte man diese Diskrepanz auf die Unterschiedlichkeit der von den fraglichen Enzymen katalysierten Prozesse sowie die Verschiedenheit der intrazellulären Lokalisation der einzelnen Enzyme zurückführen. Darüber hinaus dürfte die Aktivität der einzelnen Enzyme im Serum auch von der Enzymurie und von der Hormontherapie in abweichendem Maße beeinflusst werden.

Ebensowenig wie die Transaminase-Ergebnisse ist auch die gesteigerte LAP-Aktivität im Serum nicht unbedingt für die akute Phase charakteristisch, ja die Hyperenzymämie entwickelt sich ziemlich unabhängig vom Ausmaß der Proteinurie (Abb. 1).

Im Gegensatz zu den Transaminasen bildet die LAP einen Bestandteil auch des proteinfreien Harns, und die Ausscheidung erfolgt mehr oder weniger unabhängig von der Serumaktivität [5, 6, 9, 21, 23]. Am Pathomechanismus der Enzymausscheidung dürften die Glomerularfiltration und die Tubularsekretion beteiligt sein. Für erstere spricht, daß die erhöhten Serumwerte im allgemeinen von gesteigerter Ausscheidung begleitet sind, aber die Ausscheidung in zahlreichen Fällen auch bei normalem Serumspiegel zunimmt [23]. Im letzteren Fall kann natürlich nicht ausgeschlossen werden, daß die normale Serumaktivität gerade auf der gesteigerten Ausscheidung beruht.

Nierenkrankheiten führen in der Regel nicht zu einer Veränderung der LAP-Ausscheidung [9]. Über eine die LAP-Ausscheidung steigernde Wirkung der Proteinurie stehen einstweilen keine Angaben zur Verfügung, so daß wir uns nur auf Analogien stützen können.

DUBACH und RECANT [4] haben an Ratten die Wirkung der Aminonucleosid-Nephrose auf die Malatdehydrogenase-Ausscheidung untersucht. Die Malatdehydrogenase ist ein Eiweiß mit niedrigem Molekulargewicht ( $M \approx 40\,000$ ) [32], das ebenso wie die LAP auch im eiweißfreien Harn ausgeschieden wird. Unter Wirkung der experimentellen Nephrose verstärkt sich die Malatdehydrogenasurie nur über einer gewissen Eiweißausscheidung (etwa 100 mg/Tag), in diesem Fall jedoch beträchtlich.

Aus den bei Tieren mit experimenteller Nephrose gewonnenen Erfahrungen können naturgemäß Schlüsse auf das juvenile Nephrose-Syndrom nur sehr vorsichtig gezogen werden. Im Zusammenhang damit genügt es wohl, daran zu erinnern, daß die APH einen normalen Bestandteil des Katzenharns darstellt [22], jedoch wird sie vom Menschen überhaupt nicht ausgeschieden.

Die Enzymaktivität des Serums wird zweifellos vom momentanen Verhältnis der aus dem intrazellulären Raum einströmenden und aus dem Serum austretenden bzw. inaktivierten Enzymmenge determiniert. In der akuten Phase des Nephrose-Syndroms scheint der aus den Zellen (wahrscheinlich aus den Leberzellen)

stammende Enzymüberschuß die Enzymurie mehr oder weniger zu kompensieren. Häufig kommt es aber vor, daß die Enzymaktivität im Serum in der akuten Phase, meistens gleichzeitig mit dem Nachlassen der Proteinurie, ansteigt. Überkompensierung kann auch oft beobachtet werden: in diesen Fällen war die Serumaktivität zur Zeit des Rezidivs, d. h. unter Wirkung der wieder aufgetretenen Proteinurie, wesentlich niedriger.

Alles in allem werden wir den wahren Sachverhalt im allgemeinen und auch in den einzelnen Fällen nur in Kenntnis der quantitativen Enzymurie überblicken können. Hierzu wird jedoch die gleichzeitige Untersuchung der Enzymausscheidung und der Serumaktivität notwendig sein sowie die darauf begründete Bestimmung der Enzym-Clearance. Diesbezügliche Untersuchungen haben wir bereits eingeleitet.

Literaturangaben über die Wirkung der Hormontherapie (ACTH, Prednisolon) auf die Serum-LAP-Aktivität sind uns nicht bekannt. Die wenigen Untersuchungen über andere Amino-peptidasen haben nicht zu eindeutigen Ergebnissen geführt [12, 24, 25, 26], ebensowenig ergaben die eigenen Untersuchungen eindeutige Korrelationen.

Unsere Resultate geben eine mehr oder weniger zufriedenstellende Erklärung für die gesteigerten bzw. pathologischen Stoffwechselprozesse. Im Zusammenhang mit der in einigen Fällen jahrelang beobachteten konsequent pathologischen Aktivität muß

indessen angenommen werden, daß sie von einer bereits zur Entwicklung gekommenen Leberschädigung hervorgerufen wurden. Aber selbst bei diesen Fällen besteht keine unbedingte Korrelation zwischen den untersuchten Enzymen. Bei den Kindern Nr. 15—17 war zwar die Aktivität beider Enzyme (GOT und LAP) praktisch permanent pathologisch, die Schwankung der Werte jedoch ziemlich verschieden; beim Fall Nr. 13 war nur die LAP-, beim Fall Nr. 14 nur die Transaminase-Aktivität pathologisch, die Aktivität des entsprechenden anderen Enzyms dagegen völlig normal.

Die Literatur über ähnliche Erscheinungen bei anderen Erkrankungen wurde bereits einleitend erwähnt, auch verfügen wir über diesbezügliche eigene Beobachtungen. Die Transaminasen, insbesondere die GPT, stellen empfindliche Indikatoren der akuten Leberparenchymläsionen dar; die LAP- und die APH-Aktivität zeigen eher die mit Cholestase verbundenen Krankheitsbilder sehr empfindlich an, während die LAP-Untersuchung oft auch nach Rückentwicklung des Ikterus pathologische Werte ergibt.

Das von dem der Transaminase-Aktivität abweichende Verhalten der LAP findet durch ihre Lokalisation innerhalb der Leber bis zu einem gewissen Grade seine Erklärung: die LAP-Aktivität in den Parenchymzellen ist mäßig, dagegen ist LAP in den Gallenkapillaren in sehr hoher Konzentration enthalten [18].

\*

Fräulein TH. DOBROVOLNI danken wir für ihre unermüdliche technische Mitarbeit.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Im Serum von 32 nephrotischen Kindern wurden im Verlauf von 1 ½ Jahren kontinuierlich insgesamt 234 Leucin-Amino-peptidase-Bestimmungen ausgeführt und bei 27 Kindern in 69 Fällen auch die alkalische Phosphatase-Aktivität bestimmt.

Die Leucin-Amino-peptidase-Aktivität war lediglich bei 25—30% der Bestimmungen erhöht; pathologische Werte wurden nur bei 19 der 32 Kinder ermittelt. Die Aktivitätssteigerung war im allgemeinen mäßig; extrem hohe Werte kamen nicht vor. Die pathologische Aktivität ist nicht ausgeprägt für die akute Phase kennzeichnend, ja die Hyperenzymämie scheint vom Ausmaß der Proteinurie ziemlich unabhängig zu sein.

Die Zusammenhänge zwischen den Aktivitäten der gleichzeitig bestimmten Enzyme wurde gleichfalls untersucht: die Aktivität der beiden Transaminasen veränderte sich nahezu parallel, während die Aktivität der anderen Enzyme von der Krankheitsentwicklung erheblich weniger auf ähnliche Weise beeinflußt wurde.

Die Faktoren, welche die Serum-Aktivität determinieren, wurden erörtert. Beim Nephrose-Syndrom ist die Serum-Aktivität wahrscheinlich einerseits von dem aus der Leber infolge der gesteigerten Stoffwechselprozesse oder der Leberschädigung in den Kreislauf gelangenden Enzym-

überschuß und andererseits von der lauf abwandernden Enzymmenge abhängig.

## LITERATUR

1. ARST, H. E., MANNING, R. T., DELP, M.: Serum Leucine Aminopeptidase Activity: Findings in Carcinoma of the Pancreas, Pregnancy and other Disorders. *Amer. J. med. Sci.* **238**, 598 (1959).
2. BRATTON, A. C., MARSHALL, E. K.: A new Coupling Component for Sulfanilamide Determination. *J. biol. Chem.* **128**, 537 (1939).
3. BRESSLER, R., FORSYTH, B. R., KLATSKIN, G.: Serum Leucine Aminopeptidase Activity in Hepatobiliary and Pancreatic Disease. *J. Lab. clin. Med.* **56**, 417 (1960).
4. DUBACH, U. C., RECANT, L.: Renale Fermentaausscheidung bei der Aminonucleosid-Nephrose. *Klin. Wschr.* **39**, 1121 (1961).
5. GOLDBARG, J. A., RUTENBURG, A. M.: The Colorimetric Determination of Leucine Aminopeptidase in Urine and Serum of Normal Subjects and Patients with Cancer and other Diseases. *Cancer* **11**, 283 (1958).
6. GOLISCH, G.: Die Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Harn von Patienten mit malignen Tumoren. *Klin. Wschr.* **38**, 968 (1960).
7. GÖGGE, K. H., CREUTZFELDT, W., MURUCAS, J.: Das Verhalten der Leucinaminopeptidase und anderer Enzyme im Serum bei Leber-, Gallen- und Pancreaserkrankungen. *Dtsch. med. Wschr.* **85**, 1756 und 1808 (1960).
8. GREEN, M. N., TSOU, K. CH., BRESSLER, R., SELIGMAN, A. M.: The Colorimetric Determination of Leucine Aminopeptidase Activity with L-Leucyl- $\beta$ -Naphthylamide Hydrochloride. *Arch. Biochem.* **57**, 458 (1955).
9. HAMMOND, J. B., ROSENAK, B. D., KHOO, E. C.: The Diagnostic Value of Determinations of Serum Leucine Aminopeptidase Concentrations in Carcinoma of the Pancreas. *Amer. J. digest. Dis.* **5**, 233 (1960).
10. HANSON, H., HASCHEN, R. J.: Eiweißzufuhr und Serumpeptidaseaktivität gegenüber Leucyl-glycyl-glycin. *Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.* **310**, 227 (1958).
11. HOFFMAN, E., NACHLAS, M. M., GABY, S. D., ABRAMS, S. J., SELIGMAN, A. M.: Limitations in the Diagnostic Value of Serum Leucine Aminopeptidase. *New Engl. J. Med.* **263**, 541 (1960).
12. HOLMAN, H. R., WHITE, A., FRUTTON, J. S.: Relation of Adrenal Cortex to Serum Peptidase Activity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **65**, 196 (1947).
13. KELLER, W., WISKOTT, A.: *Lehrbuch der Kinderheilkunde*. Thieme, Stuttgart 1961.
14. KING, E. J., ARMSTRONG, A. R.: A Convenient Method for Determining Serum and Bile Phosphatase Activity. *Canad. med. Ass. J.* **31**, 376 (1934).
15. KOWLESSAR, O. D., HAEFFNER, L. J., SLEISENGER, M. H.: Localization of Leucine Aminopeptidase in Serum and Body Fluids by Starch Gel Electrophoresis. *J. clin. Invest.* **39**, 671 (1960).
16. MILLER, A. L., WORSLEY, L.: Serum Leucine Aminopeptidase in Carcinoma of Pancreas and Other Diseases. *Brit. med. J.* **2**, 1419 (1960).
17. MÜLLNER, T., NEUMAYR, A., PIETSCHMANN, H.: Die klinische Bewertung der Leucinaminopeptidasebestimmung im Serum. *Wien. klin. Wschr.* **74**, 320 (1962).
18. NACHLAS, M. M., MONIS, B., ROSENBLATT, D., SELIGMAN, A. M.: Improvement in the Histochemical Localization of Leucine Aminopeptidase with a New Substrate, L-Leucyl-4-Methoxy-2-Naphthylamide. *J. biophys. biochem. Cytol.* **7**, 261 (1960).
19. NELSON, W. E.: *Textbook of Pediatrics*. 7th Ed. Saunders, Philadelphia 1959.
20. REITMAN, S., FRANKEL, S.: A Colorimetric Method for Determination of Serum Glutamic Oxalacetic and Glutamic Pyruvic Transaminase. *Amer. J. clin. Path.* **28**, 56 (1957).
21. RENÉ, R. M., MELLINKOFF, S. M.: Leucine Aminopeptidase; its Non-specificity as a Test for Carcinoma of the Pancreas. *Amer. J. digest. Dis.* **5**, 898 (1960).
22. RICHTERICH, R.: Die medizinische Bedeutung der Enzyme. *Helv. med. Acta*, **26**, 887 (1959).
23. RUTENBURG, A. M., GOLDBARG, J. A., PINEDA, E. P.: Leucine Aminopeptidase Activity. Observations in Patients with Cancer of the Pancreas and other Diseases. *New Engl. J. Med.* **259**, 469 (1958).



24. SAYERS, G., BURNS, T. W., TYLER, F. H., JAGER, B. V., SCHWARTZ, T. B., SMITH, E. L., SAMUELS, E. L., DAVENPORT, H. W.: Metabolic Actions and Fate of Intravenously Administered Adrenocorticotrophic Hormone in Man. *J. clin. Endocr.* **9**, 593 (1949).
25. SCHWARTZ, T. B., ENGEL, F. L.: The Adrenal Cortex and Serum Peptidase Activity. *J. biol. Chem.* **180**, 1047 (1949).
26. SCHWARTZ, T. B., ENGEL, F. L.: Effect of Adrenocorticotrophic Hormone and Cortisone Therapy on Human Plasma Aminopeptidase Activity. *Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.)* **74**, 82 (1950).
27. SHAY, H., SUN, D. C. H., SIPLET, H.: Leucine Aminopeptidase. Significance of Serum Elevations in Disease of the Hepato-Biliary-Pancreatic System. *Amer. J. digest. Dis.* **5**, 217 (1960).
28. SZÁSZ, G.: Enzym-Aktivitäts-Bestimmungen im Serum bei Kindern mit nephrotischem Syndrom. *Klin. Wschr.* **40**, 321 (1962).
29. SZÁSZ, G., CZIRBESZ, Zs.: Enzymaktivitätsbestimmungen im Kindesalter I. Serumtransaminasen im nephrotischen Syndrom. *Acta paediat. Acad. Sci. hung.* **3**, 367, (1962)
30. SZÁSZ, G., KOZÁK, É.: Photometriás ultramicro eljárás a serum leucinaminopeptidase aktivitásának meghatározására. A physiologiás aktivitás értéktartománya. *Orv. Hetil.* **103**, 971 (1962).
31. SZÁSZ, G.: Über die physiologische Leucin-Aminopeptidase-Aktivität im Serum und Liquor. *Klin. Wschr.* **40**, 1256 (1962)
32. WOLFE, R. G., NEILANDS, J. B.: Some Molecular and Kinetic Properties of Heart Malic Dehydrogenase. *J. biol. Chem.* **221**, 61 (1956).

G. SZÁSZ

Üllői út 86.

Budapest VIII, Ungarn.