J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 21, 1983, pp. 519–525

Saure Phosphatase im Serum (Substrat: α -Naphthylphosphat): Referenzwerte und diagnostische Aussage

Von D. Seiler, D. Nagel

Städtische Krankenanstalten, Institut für Klinische Chemie, Ludwigshafen/Rh.

W. Tritschler und S. Looser

Boehringer Mannheim GmbH, Erprobung Diagnostica, Mannheim und
Boehringer Mannheim GmbH, Biochemica Werk Tutzing, Tutzing

(Eingegangen am 20. September 1982/18. April 1983)

Zusammenfassung: Für eine modifizierte Methode nach Hillmann (1) zur Bestimmung der katalytischen Konzentration an saurer Phosphatase im Serum (Substrat: α -Naphthylphosphat) werden Ergebnisse mitgeteilt.

In einem Kollektiv von 158 Männern im Alter von 16 bis 85 Jahren ergab sich als Obergrenze des Referenzbereiches (95. Perzentil) für die gesamte saure Phosphatase 4,7 U/l (37 °C) bzw. 4,2 U/l (30 °C) und für die tartrathemmbar saure Phosphatase 1,6 U/l (37 °C) bzw. 1,5 U/l (30 °C). Bei 60 Frauen im Alter von 18 bis 80 Jahren lag die Obergrenze des Referenzbereiches (95. Perzentil) für die gesamte saure Phosphatase bei 3,7 U/l (37 °C) bzw. 3,0 U/l (30 °C).

Eine Altersabhängigkeit der katalytischen Konzentrationen war weder bei Männern noch Frauen nachweisbar.

Bei 89 Patienten mit Prostata-Carcinom der Stadien C und D wurde die katalytische Konzentration der tartrathemmbar sauren Phosphatase mit den Substraten α -Naphthylphosphat und *p*-Nitrophenylphosphat bestimmt.

Bei 74 dieser Patienten wurde die Konzentration an prostataspezifischer saurer Phosphatase mit einem Enzym-Immunoassay sowie einem Radio-Immunoassay ermittelt.

Die Sensitivität der Methode mit *p*-Nitrophenylphosphat ist unbefriedigend (66%), die anderen Methoden ergeben eine bessere und vergleichbare Sensitivität (ca. 90%). Die Ergebnisse mit *p*-Nitrophenylphosphat unterscheiden sich signifikant von denen mit α -Naphthylphosphat als Substrat; die beiden immunchemischen Verfahren zeigen jedoch gegenüber der neuen Methode keinen signifikanten Unterschied.

Es wird deshalb vorgeschlagen, die ältere Methode mit *p*-Nitrophenylphosphat zugunsten der neuen Methode aufzugeben. Katalytische Konzentrationen an tartrathemmbarer saurer Phosphatase im Grenzbereich normal-pathologisch (1,6–2,0 U/l, 37 °C) sollten mit einem immunchemischen Verfahren kontrolliert werden.

*Acid phosphatase in serum (substrate: α -naphthylphosphate):
Reference values and diagnostic significance*

Summary: We report the results obtained with a modification of Hillmann's method (1) for determination of the catalytic concentration of acid phosphatase in serum using α -naphthylphosphate as the substrate. In a group of 158 males aged 16–85 years, the upper limit of the reference range (95th percentile) for the total

acid phosphatase was established as 4.7 U/l (37 °C) and 4.2 U/l (30 °C), respectively; the corresponding values for the tartrate-inhibited acid phosphatase were 1.6 U/l (37 °C) and 1.5 U/l (30 °C).

The upper limit of the reference range (95th percentile) for the total acid phosphatase determined in 60 females aged 18–80 years was 3.7 U/l (37 °C) and 3.0 U/l (30 °C). The catalytic concentrations in men and women did not show any age-related differences.

The catalytic concentration of the tartrate-inhibited acid phosphatase was determined with the substrates α -naphthylphosphate and *p*-nitrophenylphosphate in a group of 89 patients with prostatic carcinoma (stages C and D).

In 74 of these patients, the concentration of the prostatic specific acid phosphatase was assayed by enzyme-immunoassay and radioimmunoassay.

The sensitivity of the method with *p*-nitrophenylphosphate was found to be unsatisfactory (66%), while that obtained with the other methods was superior and intercomparable (approx. 90%). The results obtained with the two substrates (*p*-nitrophenylphosphate vs. α -naphthylphosphate) differed significantly. In contrast, the results given by the two immunochemical procedures did not exhibit a significant difference when compared with the new method.

In the light of the above, it is proposed that the previous method using *p*-nitrophenylphosphate be abandoned in favour of the new method. Catalytic concentrations of tartrate-inhibited acid phosphatase in the borderline range between normal and pathologic (1.6–2.0 U/l, 37 °C) should be checked with an immunochemical method.

Einführung

Zur Bestimmung der katalytischen Aktivität der sauren Phosphatase im Serum (EC 3.1.3.2) werden verschiedene Substrate wie Thymolphthaleinphosphat, *p*-Nitrophenylphosphat oder α -Naphthylphosphat eingesetzt. Für kein bisher bekanntes Substrat ist – auch nach Tartrathemmung – eine Spezifität für die prostataspezifische saure Phosphatase gegeben, obwohl Unterschiede bestehen (2). In Deutschland wird vorwiegend die Methode mit *p*-Nitrophenylphosphat eingesetzt.

Wir haben den von Hillmann (1) beschriebenen Test mit α -Naphthylphosphat als Substrat modifiziert und untersucht, wie dieser Test von seiner klinischen Aussage her einzuordnen ist. Es wurden deshalb Referenzwerte ermittelt und bei Patienten mit Prostatacarcinom die katalytischen Konzentrationen an tartrathemmbarer saurer Phosphatase bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit denen des Verfahrens von Fishman & Lerner ((3) Substrat: *p*-Nitrophenylphosphat), einer enzymimmunologischen (4) und einer radioimmunologischen Methode (5) verglichen.

Material und Methoden

Testprinzip

Der Test zur Bestimmung der katalytischen Aktivität der sauren Phosphatase mit α -Naphthylphosphat als Substrat wurde von Hillmann beschrieben (1) und in Bezug auf Fast Red TR- und Tartrat-Konzentration modifiziert (Monotest® Saure Phosphatase, Boehringer Mannheim GmbH). Das bei der enzymatischen Hydrolyse von α -Naphthylphosphat freigesetzte α -Naphthol wird durch Kupplung mit diazotiertem 2-Amino-5-chlortoluol (Fast Red TR) zu einem Farbstoff umgesetzt und dieser während der Reaktion ohne ($\Delta A_1/\text{min}$) und mit Tartrat ($\Delta A_2/\text{min}$) kontinuierlich bei 405 nm photometrisch gemessen.

se, Boehringer Mannheim GmbH). Das bei der enzymatischen Hydrolyse von α -Naphthylphosphat freigesetzte α -Naphthol wird durch Kupplung mit diazotiertem 2-Amino-5-chlortoluol (Fast Red TR) zu einem Farbstoff umgesetzt und dieser während der Reaktion ohne ($\Delta A_1/\text{min}$) und mit Tartrat ($\Delta A_2/\text{min}$) kontinuierlich bei 405 nm photometrisch gemessen.

Endkonzentrationen im Test:

Citrat-Puffer 0,2 mol/l (pH 5,2);
 α -Naphthylphosphat 10 mmol/l,
 Fast Red TR-Salz (diazotiertes 2-Amino-5-chlortoluol) 2,5 mmol/l;
 Natriumtartrat 135 mmol/l.

Berechnung: Gesamte saure Phosphatase:

U/l (30 °C, 37 °C) = $743 \cdot \Delta A_1/\text{min}$

Tartrathemmbarer saure Phosphatase:

U/l (30 °C, 37 °C) = $743 \cdot (\Delta A_1/\text{min} - \Delta A_2/\text{min})$.

Durch Reduzierung der Fast Red TR-Konzentration auf 2,5 mmol/l werden sowohl die Reagenzstabilität als auch die Linearität der Geschwindigkeit der enzymkatalysierten Reaktion insbesondere bei 37 °C Meßtemperatur verbessert. Die Tartrat-Konzentration von 135 mmol/l liegt deutlich im Hemm-Optimum. Im Gegensatz dazu ist die Tartrathemmung mit der im Original vorgeschlagenen Konzentration von 16 mmol/l nicht vollständig. Der Pufferlösung ist als Konservierungsmittel Natriumbenzoat zugesetzt. Die Reagenztabletten enthalten übliche Tablettierhilfsstoffe, welche eine geringe Veränderung des Absorptionskoeffizienten bewirken ($\epsilon_{405 \text{ nm}} = 148 \text{ m}^2/\text{mol} \pm 14,8 \cdot 10^3 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Aktivatoren sind im Testansatz nicht enthalten.

Testcharakteristik

Wegen der geringen katalytischen Konzentration der sauren Phosphatase im Serum ist die Messung bei 30 °C bzw. 37 °C der bei 25 °C vorzuziehen. Als Probenmaterial wird Serum eingesetzt. Darüber hinaus kann nur noch Citratplasma verwendet werden, alle anderen üblichen Antikoagulantien führen zu Trübungen im Testansatz. Die Verwendung von Citratplasma erfordert die Ermittlung gesonderter Referenzwerte, da im Serum durch Freiset-

zung von z.T. ebenfalls tartrathemmbarer Thrombocyten-Phosphatase höhere Aktivitäten gemessen werden.

Serum kann ohne Stabilisierung und Aktivitätsverlust über mindestens 1 Monat bei -20°C aufbewahrt werden. Lagerung bei -4°C oder 15 – 25°C erfordert eine Stabilisierung des Serums z.B. durch Ansäuern mit 50 g/l ($0,8\text{ mol/l}$) Essigsäure ($40\text{ }\mu\text{l/ml}$ Serum). Danach beträgt die Haltbarkeit drei Tage bzw. 24 Stunden. Die Testempfindlichkeit beträgt für $\Delta 0,001\text{ A/min} = 0,7\text{ U/l}$. Der lineare Proportionalitätsbereich ist bei Einhaltung einer Vorinkubationszeit von 5 min und einer Meßzeit von 3 min bis zu einer Absorptionsdifferenz von $\Delta A/\text{min} = 0,1$ gegeben, die einer katalytischen Konzentration von 74 U/l entspricht.

In Aufstockversuchen konnte zugesetzte Prostata-Phosphatase-Aktivität zu 100% wiedergefunden werden.

Aufgrund der Differenzmessungen ergeben sich für die tartrathemmable saure Phosphatase deutlich schlechtere Präzisionen als für die gesamte saure Phosphatase. In vitro-Störungen durch Pharmaka konnten nicht festgestellt werden. Metabolite mit Ausnahme von Bilirubin stören den Test nicht. In Seren mit erhöhtem Gehalt an direktem Bilirubin werden zu niedrige katalytische Konzentrationen gemessen (6). Obwohl α -Naphthylphosphat von Erythrocyten-Phosphatase nur schlecht gespalten wird, ist hämolytisches Serum nicht geeignet. In Abhängigkeit von der Hämoglobinkonzentration werden zunächst zu tiefe, dann wieder ansteigende Aktivitäten gemessen.

So lange durch Einsatz lipämischer Seren die Ausgangsabsorption nicht zu hoch liegt und den gerätebedingten linearen Meßbereich nicht überschreitet, ist keine Beeinflussung des Tests gegeben.

Methoden, Reagenzien, Geräte

Die Untersuchungen erfolgten in Serum. Die Testpackungen zur Bestimmung von L- γ -Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2), Aspartataminotransferase (EC 2.6.1.1), Alaninaminotransferase (EC 2.6.1.2), Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), alkalischer Phosphatase (EC 3.1.3.1) entstammten dem Lieferprogramm von Boehringer Mannheim GmbH, D-6800 Mannheim 31 (optimierte Methoden, 25°C). In Tabelle 1 sind Angaben zu den übrigen Methoden bzw. zu den benutzten Geräten aufgeführt.

Probanden für die Referenzwertermittlung

Das Ausgangskollektiv der Männer ($N = 158$) setzte sich überwiegend ($N = 100$) aus Blutspendern und Krankenhauspersonal, das arbeitsmedizinisch untersucht wurde, zusammen. Bei den restlichen 58 – besonders älteren – Probanden (>40 Jahre) han-

delt es sich um Patienten der Haut- und Augenklinik sowie der Hals-Nasen-Ohrenklinik. Die Einweisungsdiagnosen waren: Dermatitis, Asthma bronchiale, Katarakt, Keratitis, Otitis, Tonsillitis. Anamnese und rektale Untersuchung ergaben keinen Hinweis auf Erkrankungen der Prostata.

Das Ausgangskollektiv der Frauen ($N = 60$) bestand überwiegend aus Personen, die arbeitsmedizinisch untersucht wurden. Schwangerschaft, erkennbare Erkrankungen sowie Therapie mit Medikamenten lagen nicht vor.

Zur Auswahl eines Referenzkollektivs wurde die katalytische Konzentration von Enzymen bestimmt, die bei Patienten mit Malignomen verändert sein können (7):

Referenzwerte

Tartrathemmable saure Phosphatase (Substrat: *p*-Nitrophenylphosphat): Männer: bis 3 U/l (37°C);
gesamte saure Phosphatase (Substrat: *p*-Nitrophenylphosphat): Frauen: bis 11 U/l (37°C);
Aspartataminotransferase: Männer bis 18 U/l , Frauen bis 15 U/l (25°C);
Alaninaminotransferase: Männer bis 24 U/l , Frauen bis 18 U/l (25°C);
L- γ -Glutamyltransferase: Männer bis 28 U/l , Frauen bis 18 U/l (25°C);
Lactatdehydrogenase: bis 240 U/l (25°C);
alkalische Phosphatase: Jugendliche (16 Jahre): bis 700 U/l (25°C); Erwachsene: 60 bis 185 U/l (25°C).

Patienten mit Prostata-Carcinom

Die Patienten waren 53 bis 88 Jahre alt. Die Diagnosen wurden durch rektale Palpation gestellt und durch Feinnadelbiopsie der Prostata gesichert. Die meisten Patienten hatten ein Carcinom im Stadium D, der geringere Teil ein Carcinom im Stadium C. Eine spezielle Therapie war vor der Einweisung nicht erfolgt.

Probennahme und Qualitätssicherung

Die Blutabnahme erfolgte vormittags. Nach Lösen der Stauung wurde Blut für die Serumgewinnung entnommen. Serum wurde nach 30 min Stehenlassen durch 10 min Zentrifugieren bei 2000 g erhalten. Das Serum wurde portioniert. In einem Teil wurden am selben Tag die katalytischen Konzentrationen von Enzymen bestimmt (vgl. Tab. 5; Ausnahme: saure Phosphatase). Für die immunchemischen Methoden wurde ein weiterer Teil bei -20°C eingefroren und innerhalb von 1 Monat untersucht. Für die Be-

Tab. 1. Methoden, Reagenzien, Geräte und Meßbedingungen.

Methoden und Reagenzien	Geräte	Messung
Hillmann ((1), modifiziert; EC 3.1.3.2 Substrat: α -Naphthylphosphat; monatest® Saure Phosphatase, Boehringer Mannheim GmbH)	Eppendorf 1101 M mit Küvettenwechsel- automatik, Hg 405 nm, 1 cm Schichtdicke (Netheler & Hinz, D-2000 Hamburg)	30°C , 37°C : Kontinuierlich, Einfach- bestimmungen (Serum)
Fishman & Lerner ((3); EC 3.1.3.2 Substrat: <i>p</i> -Nitrophenylphosphat; Testcombination Saure Phosphatase, Boehringer Mannheim GmbH)	Eppendorf 1101 M mit Absaugküvette (s. o.)	37°C : Zweipunktmessung, Einfach- bestimmungen (Serum)
Enzym-Immunoassay nach Grenner & Schmidtberger (4)	Eppendorf 1101 M, Hg 492 nm (s. o.)	Doppelansatz (Serum)
Radio-Immunoassay nach Foti et al. (5)	Rack-Gamma II, LKB-Instruments, D-8032 Gräfelfing	Doppelansatz (Serum)

stimmung der katalytischen Konzentrationen an saurer Phosphatase wurde ein dritter Teil mit Essigsäure (0,8 mol/l) versetzt (40 μ l/ml Serum). Die Verdünnung wurde bei der Berechnung vernachlässigt. Diese Seren wurden kühlgestellt (4 °C) und am selben Tag untersucht (Referenzwertermittlung) bzw. bei -20 °C eingefroren und innerhalb von 1 Monat untersucht (Untersuchungen bei Patienten).

Die *Präzision* der Meßergebnisse für die saure Phosphatase (Substrat: α -Naphthylphosphat) wurde mit Kontrollseren (Precinorm® U, Charge 09559, und Precipath® U, Charge 09510) sowie einem portioniert eingefrorenen laboreigenen Serumpool überprüft. Vor Beginn der Untersuchungen und nach Untersuchung von je 50 Seren wurden bei 30 °C bzw. 37 °C an 5 Tagen jeweils 6-fach-Bestimmungen durchgeführt.

Die *Wiederfindung* wurde mit Precinorm® U und Precipath® U (Chargen 1-570/1-513) überprüft, indem an jedem Untersuchungstag bei 30 °C und 37 °C jeweils Einfachbestimmungen durchgeführt wurden.

Die *Qualitätssicherung* für alle anderen Bestimmungen erfolgte durch mehrfache tägliche Kontrolle von Präzision und Richtigkeit der Methoden mit Kontrollseren.

Statistische Methoden

Die Präzisionen in der Serie und von Serie zu Serie wurden über die einfache Varianzanalyse berechnet. Die Verteilung der Meßwerte wurde durch Angabe der Perzentile beschrieben.

Auf unterschiedliche katalytische Konzentrationen der sauren Phosphatase in den einzelnen Altersdekaden wurde mit dem H-Test nach *Kruskal-Wallis* geprüft (8). Zur Überprüfung eines Unterschieds zwischen Endkollektiv und aussortiertem Kollektiv bezüglich der katalytischen Konzentrationen der sauren Phosphatase wurde der U-Test von *Mann-Whitney* eingesetzt (8). Der Vergleich verschiedener Methoden bei Patienten mit Prostata-Carcinom wurde mit dem von *McNemar* modifizierten Vorzeichentest durchgeführt (8). Als Irrtumswahrscheinlichkeit wurde jeweils $\alpha = 0,05$ festgelegt.

Ergebnisse und Diskussion

Qualitätssicherung

Die Tabellen 2 und 3 enthalten die Ergebnisse der Qualitätssicherung in Kontrollseren und in einem

Tab. 2. Saure Phosphatase (Substrat: α -Naphthylphosphat): Präzisionen in Kontrollseren und Poolserum.

Meßtemperatur [°C]	Probenmaterial	Saure Phosphatase	Katalyt. Konzentration Median [U/l]	Variationskoeffizient Serie [%]	Tag/Tag [%]
30	Precinorm® U	gesamte	8,0	3,1	3,0
		tartrathemmbar	3,7	5,3	5,7
	Precipath® U	gesamte	11,2	2,2	2,9
		tartrathemmbar	5,5	4,3	5,0
	Poolserum	gesamte	3,5	5,1	5,1
		tartrathemmbar	1,7	7,8	8,2
37	Precinorm® U	gesamte	10,0	1,4	3,1
		tartrathemmbar	4,5	5,6	8,8
	Precipath® U	gesamte	14,6	1,4	2,2
		tartrathemmbar	6,5	3,6	4,0
	Poolserum	gesamte	4,2	4,4	6,1
		tartrathemmbar	2,2	8,3	9,2

Tab. 3. Saure Phosphatase (Substrat: α -Naphthylphosphat): Wiederfindung in Kontrollseren.

Meßtemperatur [°C]	Probenmaterial	Saure Phosphatase	Katalyt. Konzentration Sollwert ^{a)} [U/l]	Min. [U/l]	Perzentile ^{b)} Median [U/l]	Max. [U/l]
30	Precinorm® U	gesamte	13,4	11,1	12,4	13,1
		tartrathemmbar	5,7	4,5	5,4	7,0
	Precipath® U	gesamte	15,7	14,1	14,9	15,4
		tartrathemmbar	7,9	5,9	6,8	7,6
37	Precinorm® U	gesamte	16,2	14,1	14,9	16,0
		tartrathemmbar	6,8	5,7	6,4	7,9
	Precipath® U	gesamte	20,8	17,7	18,6	19,5
		tartrathemmbar	9,3	7,6	8,4	9,7

^{a)} Herstellerangaben

^{b)} niedrigster und höchster Wert sowie Median von je 25 Einzelbestimmungen.

Poolserum. Die Präzisionen in der Serie bzw. von Tag zu Tag in Kontrollseren sind während des Untersuchungszeitraumes gut (gesamte saure Phosphatase: VK 1,4 bis 3,1%) bzw. befriedigend (tartrathemmable saure Phosphatase: VK 3,6 bis 8,8%). Die Untersuchung des Poolserums ergibt Aufschlüsse über die Präzisionen im Entscheidungsbereich normal/pathologisch. Die Präzisionen für die gesamte saure Phosphatase (VK 4,4 bis 6,1%) sowie die tartrathemmable saure Phosphatase (VK 7,8 bis 9,2%) sind noch akzeptabel.

Die Wiederfindungen in Kontrollseren (Tab. 3) sind befriedigend: Die Meßwerte liegen gut innerhalb des Sollwertbereiches, der gefundene Median liegt tiefer als der vom Hersteller angegebene Sollwert.

Referenzkollektiv und Referenzwerte

Tabelle 4 zeigt die Verteilung der katalytischen Konzentrationen an saurer Phosphatase im Ausgangskollektiv bei verschiedenen Temperaturen (30 °C, 37 °C) für Männer und Frauen.

Für die tartrathemmable saure Phosphatase stimmen (sowohl bei 30 °C als auch 37 °C Meßtempera-

tur) das 95. und das 97,5. Perzentil praktisch überein.

Für die gesamte saure Phosphatase liegt das 97,5. Perzentil wesentlich höher als das 95. Perzentil (z. B. 37 °C: 6,5 U/l gegenüber 4,7 U/l). Die Angabe des 97,5. Perzentils als Obergrenze des Referenzbereiches führt deshalb – sofern *ausschließlich* die gesamte saure Phosphatase bestimmt wird – für Diagnose und Therapie des Prostata-Carcinoms zu einer höheren Zahl falsch-negativer Ergebnisse. Wird dagegen das 95. Perzentil als Obergrenze gewählt, dann wird sich für die gesamte saure Phosphatase die Zahl der falsch-positiven Befunde erhöhen, d. h. die Spezifität des Testes wird sich erniedrigen. Diese verringerte Spezifität bei der Messung der Aktivität der gesamten sauren Phosphatase kann aber durch die gleichzeitige Bestimmung des tartrathemmbaren Anteils, der immer mitbestimmt werden sollte, verbessert werden. Die Obergrenze des Referenzbereiches wird deshalb auf das 95. Perzentil festgelegt.

Wie die Verteilungen der in Tabelle 5 dargestellten katalytischen Konzentrationen zeigen, enthält das Ausgangskollektiv einige Probanden, bei denen Erkrankungen nicht auszuschließen sind. Setzt man die

Tab. 4. Saure Phosphatase (Substrat: α -Naphthylphosphat) im Serum: Verteilung der katalytischen Konzentrationen im Ausgangskollektiv.

Die Werte geben das 2,5., 5., 50. (Median), 95. und 97,5. Perzentil sowie niedrigste und höchste Werte (U/l) bei verschiedenen Temperaturen für N Probanden an.

Meßtemperatur [°C]	Probanden	N	Saure Phosphatase	Katalytische Konzentration [U/l]						
				Min.	2,5%	5%	50%	95%	97,5%	Max.
30	Männer	158	gesamte	0,7	1,0	1,3	3,0	4,2	5,2	5,9
	Frauen	60	gesamte	0,3	0,4	0,4	0,7	1,5	1,5	1,7
37	Männer	158	gesamte	0,7	0,7	1,3	1,9	3,0	3,0	3,2
	Frauen	60	gesamte	1,3	1,9	2,2	3,7	4,7	6,5	6,9
			tartrathemmable	0,4	0,7	0,7	1,2	1,6	1,7	2,0
			gesamte	1,3	1,5	2,0	2,8	3,7	3,7	3,7

Tab. 5. Verteilung der katalytischen Konzentrationen von Enzymen im Serum von Probanden des Ausgangskollektivs.

Die Werte geben das 2,5., 50. (Median) und 97,5. Perzentil sowie niedrigste und höchste Werte (U/l) von 218 Probanden an (158 Männer und 60 Frauen).

Enzym	Kollektiv	Katalytische Konzentration [U/l]				
		Min.	2,5%	50%	97,5%	Max.
Saure Phosphatase ^{a)} , tartrathemmable	Männer	0,5	0,6	1,3	2,5	3,0
	Frauen	3,1	3,1	4,9	7,7	7,7
Aspartataminotransferase	Männer	5	6	10	18	21
Alaninaminotransferase	und	6	7	12	25	27
Lactatdehydrogenase	Frauen	70	100	144	220	258
Alkalische Phosphatase		10	60	105	320	670
L- γ -Glutamyltransferase		4	6	12	34	594

^{a)} Substrat: *p*-Nitrophenylphosphat.

jeweiligen Referenzwerte als Ausschlußkriterien an, dann ergibt sich eine Reduzierung des Kollektivs um 31 auf 187. Zwischen dem Endkollektiv ($N = 187$) und dem aussortierten Kollektiv ($N = 31$) besteht jedoch weder in Lage noch Verteilung der katalytischen Konzentrationen an saurer Phosphatase ein Unterschied.

Das Ausgangskollektiv wird deshalb zugleich als Referenzkollektiv angesehen.

Die Altersverteilung der katalytischen Konzentrationen an tartrathemmbare saurer Phosphatase ist in Abbildung 1 für Männer angegeben: Eine Altersabhängigkeit der Werte wurde weder für Männer noch für Frauen (gesamte saure Phosphatase) gefunden.

Abb. 1. Tartrathemmbare saure Phosphatase (Substrat: α -Naphthylphosphat): Häufigkeitsverteilung der katalytischen Konzentrationen im Serum der Männer ($N = 158$) in Abhängigkeit vom Alter.

Wir schlagen deshalb folgende Referenzwerte vor:

gesamte saure Phosphatase,

Männer: bis 4,7 U/l (37°C) bzw. 4,2 U/l (30°C);

Frauen: bis 3,7 U/l (37°C) bzw. 3,0 U/l (30°C);

tartrathemmbare saure Phosphatase,

Männer: bis 1,6 U/l (37°C) bzw. 1,5 U/l (30°C).

Diagnostische Aussage

In Abbildung 2 ist die Verteilung der Meßwerte an saurer Phosphatase im Serum von Patienten mit Prostata-Carcinom (Stadien C und D) angegeben.

Abb. 2. Verteilung der Meßwerte an saurer Phosphatase bei Patienten mit Prostatacarcinomen der Stadien C und D. Dargestellt sind die katalytischen Konzentrationen (U/l) im Serum von 89 Patienten für die Substrate α -Naphthylphosphat und p -Nitrophenylphosphat; im Serum von 74 Patienten wurden zusätzlich die Konzentrationen ($\mu\text{g/l}$) an Prostata-spezifischer Phosphatase mit einem Enzym-Immunoassay und einem Radio-Immunoassay bestimmt. Werte unterhalb 1 U/l bzw. 1 $\mu\text{g/l}$ wurden gleich 1 gesetzt.

● richtig positives Ergebnis

△ falsch negatives Ergebnis.

Nimmt man den Meßwert der Obergrenze des Referenzbereiches als Trenngröße zwischen normal und pathologisch, dann lassen sich die Werte in richtig-positive und falsch-negative Ergebnisse aufteilen (9).

Die Anzahl an falsch-negativen Ergebnissen ist für das Substrat p -Nitrophenylphosphat am größten: 30 von 89 Patienten werden nicht als Carcinom-Patienten erkannt (Sensitivität des Tests: 66%). Die übrigen Methoden erreichen eine wesentlich bessere Sensitivität: Methode mit α -Naphthylphosphat: 89%, Enzym-Immunoassay 91% und Radio-Immunoassay 88%. Tabelle 6 verdeutlicht, daß sich die Methode mit α -Naphthylphosphat gegenüber den beiden immunchemischen Methoden nicht unterscheidet. Gegenüber der Methode mit p -Nitrophenylphosphat besteht jedoch ein signifikanter Unter-

Tab. 6. Vergleich verschiedener Methoden zur Bestimmung der sauren Phosphatase: Vierfeldertafeln für Patienten mit Prostata-Carcinom.

Die Meßwerte wurden mit dem jeweiligen Referenzwert der Methode verglichen und das Ergebnis gegenüber der Methode mit α -Naphthylphosphat bewertet (falsch negativ: –; richtig positiv: +). Es bedeuten s = signifikanter Unterschied bzw. ns = nicht signifikanter Unterschied gegenüber der Methode mit α -Naphthylphosphat (McNemar-Test, $\alpha = 0,05$).

Referenzwerte: Tartrathemmbar saure Phosphatase: bis 1,6 U/l (Substrat: α -Naphthylphosphat) bzw. 3,0 U/l (Substrat: *p*-Nitrophenylphosphat); Enzym-Immunoassay: bis 1,5 μ g/l; Radio-Immunoassay: bis 3,3 μ g/l.

		Tartrathemmbar saure Phosphatase <i>p</i> -Nitrophenylphosphat			Enzymimmunoassay			Radioimmunoassay		
		–	+	Total	–	+	Total	–	+	Total
Tartrathemmbar saure Phosphatase	–	10	0	10	6	2	8	7	1	8
α -Naphthylphosphat	+	20	59	79	1	65	66	2	64	66
	Total	30	59	89	7	67	74	9	65	74
Signifikanz		s			ns			ns		

schied. Wir meinen deshalb, daß die Methode mit *p*-Nitrophenylphosphat wegen ihrer unbefriedigenden Sensitivität aufgegeben werden sollte. Dabei haben wir die obere „Normgrenze“ der tartrathemmbaren sauren Phosphatase nicht auf 4 U/l gesetzt (10–12), sondern auf 3 U/l festgelegt. Dieser Wert entspricht dem Bedürfnis nach einer wünschenswerten besseren Sensitivität, an der Negativ-Einschätzung dieser Methode ändert sich jedoch nichts.

Es bleibt zu bedenken, daß immunchemische Methoden wegen der geringeren Störanfälligkeit bei der

Probenvorbereitung der hier vorgestellten Methode überlegen sein dürften. Inwieweit der Mehraufwand an Geld, Zeit, Personal und Geräten, vor allem wegen der insgesamt doch niedrigen Sensitivität aller Tests in den Frühstufen des Prostata-Carcinoms, gerechtfertigt ist, muß vorerst offenbleiben. Nach unserer Meinung sollten die mit α -Naphthylphosphat gemessenen katalytischen Konzentrationen an tartrathemmbarer saurer Phosphatase zwischen 1,6 und 2,0 U/l (95. Perzentil bzw. Maximum) mit einer immunchemischen Methode kontrolliert werden.

Literatur

- Hillmann, G. (1971) Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 9, 273–274.
- Bauer, H.-W., Walther, V. & Schmiedt, F. (1980) Fortschr. Med. 98, 1301–1305.
- Fishman, W. H. & Lerner, F. (1953) J. Biol. Chem. 200, 89–97.
- Grenner, G. & Schmidtberger, R. (1979) J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 17, 156.
- Foti, A. G., Herschman, H. & Cooper, J. F. (1975) Cancer Res. 35, 2446–2452.
- Hoffmann, G. E. & Weiss, L. (1983) J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 21, 31–33.
- Brühl, P. (1979) Diagnostik und Verlaufskontrolle maligner Tumoren des Urogenitaltraktes, Georg Thieme Verlag, D-7000 Stuttgart 1.
- Conover, W. J. (1971) Practical nonparametric statistics, J. Wiley & Sons, New York.
- Galen, R. S. & Gambino, S. R. (1975) Beyond Normality, J. Wiley & Sons, New York.
- Griffiths, J. C. (1980) Clin. Chem. 26, 433–436.
- Cooper, E. H., Bauer, H.-W. & Dati, F. (1982) Lab. Blätter 32, 87–107.
- Bauer, H.-W. (1982) Med. Welt 33, 1616–1621.

Dr. rer. nat. W. Tritschler
Boehringer Mannheim GmbH
Erprobung Diagnostica
Sandhofer Straße 116
D-6800 Mannheim 31

Prof. Dr. Dr. D. Seiler
Städt. Krankenanstalten
Institut für klinische Chemie
Bremsersstraße 79
D-6700 Ludwigshafen/Rh.