

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
7. Jg., S. 60—62, Januar 1969

Untersuchungen über die Leucinaminopeptidase-Ausscheidung im Urin nach Gabe von Blutersatzlösungen bei Ratten

Von P. SCHABERT

Aus der Biochemischen Abteilung (Leiter: Priv.-Doz. Dr. H. Struck) der II. Chirurgischen Universitätsklinik (Direktor: Prof. Dr. W. Schink Köln-Merheim)

(Eingegangen am 18. Oktober 1968)

Die Aktivität von Leucinaminopeptidase (EC 3.4.1.1) im Harn von Ratten wurde vor und nach Injektion von Dextran- und Gelatinelösungen sowie von Ringerlösung und von Rattenserum bestimmt.

Nach Gabe von Ringerlösung und Rattenserum kommt es zu keiner signifikanten Änderung der Leucinaminopeptidase-Ausscheidung im Urin.

Nach Injektion von Gelatinelösungen steigt die Leucinaminopeptidase-Ausscheidung um etwa 70—80% und nach parenteraler Verabreichung von Dextranlösungen um 1300—1800% an.

Studies on the urinary excretion of leucine aminopeptidase, following the application of plasma expanders in rats

The activity of LAP in rat urine was measured before the injection of solutions of dextran and gelatine, Ringer's solution and rat serum. Following the injection of Ringer's solution and rat serum, there was no significant change in the urinary LAP.

After the injection of gelatine solutions the LAP excretion increased by about 70—80%, and after the parenteral injection of dextran solutions, it increased by 1300—1800%.

Histologische Veränderungen im Nierengewebe nach parenteraler Gabe von Dextran- und Gelatinelösungen sind von mehreren Autoren bei Mensch und Tieren beschrieben (1—9 u. a.). Übereinstimmend wird eine Verquellung der proximalen Tubulusabschnitte mit vakuoligen Einschlüssen in den Tubuluszellen gefunden. Histochemisch soll sich bei Ratten gerade in dem Gebiet, das durch die Veränderungen am stärksten betroffen wird, eine besonders hohe Konzentration der Leucinaminopeptidase¹⁾ nachweisen lassen (10—16). Mit unseren Untersuchungen wollten wir prüfen, ob es bei den oben beschriebenen histologischen Veränderungen am Tubulusepithel gleichzeitig auch zu einer Änderung der LAP-Ausscheidung im Urin kommt.

Material und Methoden

Unsere Untersuchungen wurden an männlichen 270—430 g schweren Albinoratten aus gleicher Zucht (Wistar AF/Han — Zentralinstitut für Versuchstierzucht, Hannover-Linden) durchgeführt. Während des Versuchsablaufes saßen die Tiere einzeln in Stoffwechselfäßen und erhielten einheitliches Futter und Trinkwasser ad libitum. Die Urinausscheidung wurde jeweils über 24 Stdn. gemessen, in die Sammelgefäße wurde zur Vermeidung bakterieller Verunreinigungen ein Thymolkristall gegeben. Nach 24stdg. Gewöhnung der Tiere an die Stoffwechselfäße bestimmten wir in den nächsten beiden Tagen die normale LAP-Ausscheidung im Urin. Vor der Sammelperiode am dritten Tag wurde den Tieren in oberflächlicher Äthernarkose aus einer Schwanzvene Blut entnommen. Die Menge betrug 1,2—1,3% des Körpergewichtes, das entspricht etwa einem Viertel des Blutvolumens. Im Anschluß daran wurde die gleiche Menge der unten angeführten Lösungen intravenös injiziert. Der Urin der nächsten 24 Stdn. und der darauffolgenden 2 Tage wurde in oben beschriebener Weise gesammelt.

¹⁾ *Abkürzung:* LAP = Leucinaminopeptidase = L-Leucylpeptid-Hydrolase (EC 3.4.1.1).

Wir verwendeten bei unseren Versuchen folgende Lösungen:

1. Rattenserum
2. Ringerlösung (Fa. Dr. Fresenius, Bad Homburg)
3. Eine Dextranlösung 10% (Rheomakrodex, Knoll AG)
4. Eine Dextranlösung 6% (Makrodex, Knoll AG)
5. Eine Gelatinelösung 3,5% (Haemaccel, Hoechst)
6. Eine Gelatinelösung mit höherem mittlerem Molgewicht (Haemaccel H²), Hoechst).

Das Volumen des in 24 Stdn. gesammelten Urins wurde gemessen, der Harn 15 Min. bei 3000 U./Min. zentrifugiert und anschließend der Überstand filtriert. Wir bestimmten die LAP-Aktivität im Urin mit der Biochemica Testkombination der Fa. Boehringer, Mannheim, als Substrat diente L-Leucyl-p-nitroanilid. Wir hielten uns bei der Analyse an die Testvorschriften, die der Packung beigegeben waren, verwandten jedoch nur 2,8 ml des Phosphatpuffers, dessen Konzentration wir auf 0,1M erhöhten. Es wurde die in 0,3 ml Harn enthaltene Fermentaktivität gemessen.

Ergebnisse

Die durchschnittliche LAP-Ausscheidung im Urin innerhalb von 24 Stdn. betrug bei 164 Bestimmungen $270 \pm 98 \mu\text{U}$, berechnet auf 1000 g Tiergewicht. Dieser Wert stimmt gut mit den Ergebnissen anderer Autoren (17, 18) überein. Die Absolutwerte unserer Untersuchungen sind in Tabelle 1 zusammengefaßt.

In Abbildung 1a ist die LAP-Aktivität im Urin vor und nach Injektion von Ringerlösung und in Abbildung 1b vor und nach Injektion von Rattenserum dargestellt. In beiden Gruppen tritt keine signifikante Änderung der Enzyausscheidung ein.

Nach parenteraler Verabreichung der beiden oben angeführten Gelatinelösungen steigt die durchschnittliche Fermentausscheidung um 70—80%. In Abbildung 2 sind diese Werte aufgeführt, die Zunahme der En-

²⁾ Dieses Präparat ist nicht im Handel. Es wurde uns dankenswerterweise von der Fa. Farbwerke Hoechst, Frankfurt-Hoechst, für diese Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

Tab. 1
Ausscheidung von Leucinaminopeptidase im 24-Stdn.-Urin von Ratten
(Durchschnittswerte in mU LAP pro kg Körpergewicht)

n	Gewicht d. Tiere	2. Tag vor der Injektion	1. Tag nach der Injektion	Injektion von	1. Tag nach der Injektion	2. Tag nach der Injektion	3. Tag nach der Injektion
10	360 g	364 ± 106	316 ± 51	Ringerlösung	293 ± 80	361 ± 100	324 ± 113
10	365 g	238 ± 77	259 ± 52	Rattenserum	311 ± 75	315 ± 109	249 ± 75
18	360 g	264 ± 121	330 ± 152	Gelatinelösung 3,5% (Haemacel)	583 ± 402	357 ± 83	250 ± 103
10	390 g	195 ± 69	220 ± 41	Gelatinelösung (Haemacel H)	359 ± 131	199 ± 54	235 ± 45
10	370 g	265 ± 72	264 ± 75	Dextranlösung 6% (Makrodex)	3628 ± 1644	280 ± 66	304 ± 75
10	295 g	249 ± 90	230 ± 67	Dextranlösung 10% (Rheomakrodex)	4273 + 2340	208 + 67	298 + 124

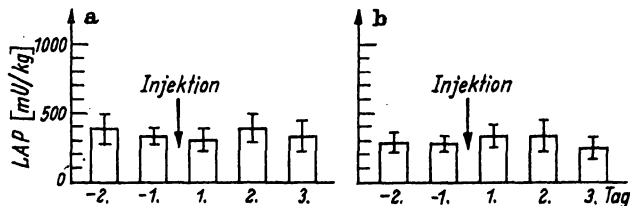


Abb. 1

Ausscheidung von Leucinaminopeptidase im Urin innerhalb 24 Stdn. nach Injektion von

- a) Ringerlösung (Mittelwerte von 10 Ratten)
b) Rattenserum (Mittelwerte von 10 Ratten)

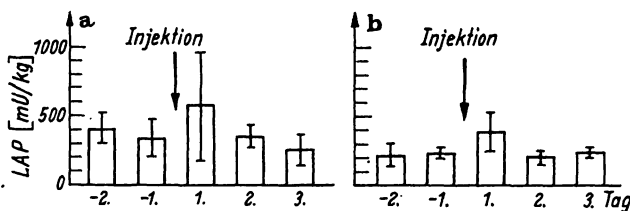


Abb. 2

Ausscheidung von Leucinaminopeptidase im Urin innerhalb 24 Stdn. nach Injektion von

- a) 3,5proz. Gelatinelösung (Mittelwerte von 18 Ratten)
b) Gelatinelösung (Haemacel H) (Mittelwerte von 10 Ratten)

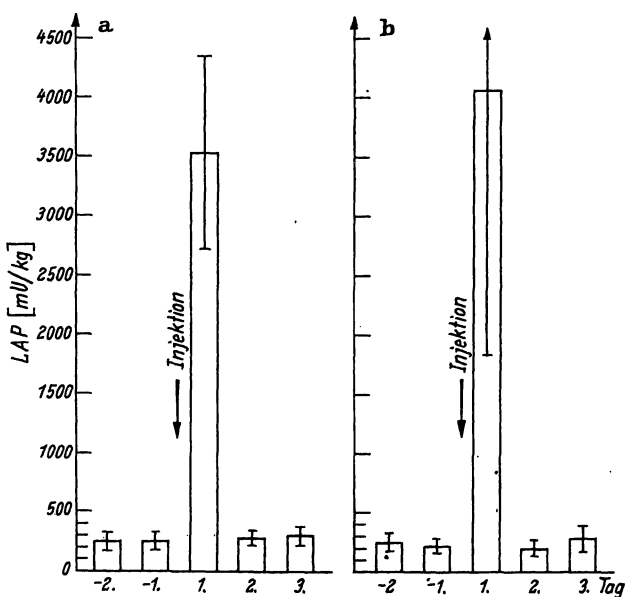


Abb. 3

Ausscheidung von Leucinaminopeptidase im Urin innerhalb 24 Stdn. nach Injektion von

- a) 6proz. Dextranlösung (Mittelwerte von 10 Ratten)
b) 10proz. Dextranlösung (Mittelwerte von 10 Ratten)

zymaktivität ist im Student-Test mit $p < 0,01$ für Haemacel und mit $p < 0,02$ für Haemacel H signifikant.

Nach intravenöser Injektion von Dextran 6% steigt die Fermentausscheidung im Urin auf über 1300% der Normalwerte an (Abb. 3a) und nach Injektion der Dextranlösung 10% sogar auf über 1800% (Abb. 3b). In diesen beiden Gruppen ist die Signifikanz mit $p < 0,001$ erwiesen.

Einen direkten Einfluß der Ringer-, Gelatine- oder Dextranlösungen auf die Bestimmung der LAP im Urin im Sinne einer Aktivierung oder Hemmung dieses Fermentes konnten wir in Übereinstimmung mit APPEL (19) nicht finden.

2 Tage nach der Injektion der Blutersatzmittel lag in allen Fällen die Harn-Enzymausscheidung im gleichen Bereich wie vor der Behandlung.

Diskussion

Die LAP im Urin stammt aus dem Tubulusepithel, sie wird beim physiologischen Zelltod frei (20—23). Ein Übertritt der LAP aus dem Blut in den Urin ist bei intaktem Glomerulumfilter wegen der Molekülgröße des Fermentes nicht möglich (20—23).

Eine erhöhte Ausscheidung der LAP im Urin wurde bei verschiedenen Erkrankungen der Niere an Mensch und Tier nachgewiesen (5, 20, 24—27). Durch nephrotoxische Substanzen konnte ebenfalls eine Zunahme der LAP-Aktivität im Urin ausgelöst werden (17, 28, 29). Eine vermehrte LAP-Ausscheidung im Harn gilt daher als Zeichen einer Nierenschädigung (25) und die Zunahme der Fermentausscheidung als Maßstab für den Grad der Tubulusschädigung (30, 31).

Unsere Untersuchungen sprechen ebenso wie histologische Befunde anderer Autoren für eine Beeinträchtigung der Tubuluszellen. Nach unseren Ergebnissen ist die Schädigung am ausgeprägtesten nach der parenteralen Gabe von Blutersatzlösungen auf Dextranbasis. Auf Grund histologischer Untersuchungen sollen aber die Veränderungen am Tubulusepithel vollständig reversibel sein und eine restitutio ad integrum soll eintreten (5).

Nach Verabreichung von Gelatinelösungen wurde mikroskopisch ein ähnliches Bild wie nach Dextranen gefunden (5). Die geringere Erhöhung der LAP-

Aktivität im Urin nach Gelatinelösungen spricht jedoch für eine geringe Beeinträchtigung des Tubulusepithels.

Nach Injektion von Ringerlösung oder homologem Serum ist anhand histologischer Untersuchungen

keine wesentliche Veränderung am Tubulusepithel nachzuweisen (5, 29).

Das steht in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen, bei denen wir keinen Anstieg der LAP-Ausscheidung nach Gabe dieser Lösungen fanden.

Literatur

1. HARTMANN, F. W., Arch. Surg. Chicago 63, 728 (1951). — 2. SKINSNESS, O. K., Surg. Gyn. Obstetr. 85, 563 (1947). — 3. GOLDENBERG, M., R. D. CRANE und H. POPPER, Amer. J. Clin. Path. 17, 939 (1947). — 4. SCHÖLL, A., Frankf. Zschr. Path. 73, 559 (1964). — 5. GRIEM, W., G. CZOCK und K. LANG, Anaesthesist 13, 324 (1964). — 6. VICKERY, A. L., Amer. J. Path. 32, 161 (1956). — 7. MAUNSBACH, A. B., S. C. MADDEN und H. LATTA, Lab. Invest. 11, 421 (1962). — 8. JAMES, J. A. und C. T. ASHWORTH, Amer. J. Path. 38, 515 (1961). — 9. MORGAN, T. O., J. M. LITTLE und W. A. EVANS, Brit. med. J. II 737 (1966). — 10. NACHLASS, M. M., D. T. CRAWFORD und A. M. SELIGMAN, J. Histochem. Cytochem. 5, 264 (1957). — 11. NACHLASS, M. M., B. MONIS, D. ROSENBLATT und A. M. SELIGMAN, J. biophys. biochem. Cytol. 7, 261 (1960). — 12. NACHLASS, M. M., O. M. FRIEDMAN und A. M. SELIGMAN, J. Histochem. Cytochem. 10, 315 (1962). — 13. BURSTONE, M. S. und J. E. FOLK, J. Histochem. Cytochem. 4, 217 (1956). — 14. BURSTONE, M. S. und E. K. WEISBURGER, J. Histochem. Cytochem. 9, 349 (1961). — 15. GLENNER, G. G., J. Histochem. Cytochem. 10, 257 (1962). —
16. HOPFU, V. K., S. RUPONEN und S. TALANTI, Experientia (Basel) 17, 271 (1961). — 17. RAAB, W. und E. KAISER, Wien. Zschr. inn. Med. 47, 327 (1966). — 18. RAAB, W., diese Z. 4, 56 (1966). — 19. APPEL, W., V. WIRMER und B. EBENEZER, Anaesthesist 17, 95 (1968). — 20. ONO, T., K. ETO und K. AVAKAWA, Clin. chimica Acta Amsterdam 19, 257 (1968). — 21. KLAUS, D., Ärztl. Forsch. Würzburg 15, 548 (1964). — 22. KLAUS, D., Ärztl. Forsch. Würzburg 16, 9 (1962). — 23. KLAUS, D., Ärztl. Forsch. Würzburg 16, 18 (1962). — 24. BERGMANN, H., Arch. Klin. exp. Derm. 219, 500 (1964). — 25. BERGMANN, H. und F. SCHELER, Klin. Wschr. 42, 275 (1964). — 26. GOLDBARG, J. A. und A. M. RUTENBERG, Cancer NY 11, 283 (1958). — 27. SCHELER, F. und H. BERGMANN, European Dialysis and Transplantation Association Proceedings 1964, Vol. I, Int. Congr. Series, Amsterdam (1964). — 28. DUBACH, N. C. und W. JÖSCH, Schweiz. med. Wschr. 97, 1314 (1967). — 29. GLOOR, B., Zschr. exper. Med. 139, 33 (1965). — 30. MASON, E. E., F. A. CHERNIGOV, H. P. GULESSERIAN und T. C. TECTOR, Surg. Gyn. Obstet. 122, 333 (1966). — 31. BERGMANN, H. und F. TRUSS, Med. Welt 1760 (1964).

Dr. P. Schabert
5000 Köln-Merheim
Ostmerheimer Str. 200