

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 141—144, März 1970

Enzyme im Fruchtwasser¹⁾

Von H. GEYER und I. SCHNEIDER²⁾

Aus der Universitäts-Frauenklinik Freiburg i. Br. (Direktor: Prof. Dr. H. Wimböfer)

(Eingegangen am 17. November 1969)

In Fruchtwasser normaler und pathologischer Schwangerschaften wurden die Enzymaktivitäten von Lactat- und Malatdehydrogenase, alkalischer Phosphatase, saurer Phosphatase, Aspartat- und Alanintransaminase, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase, Leucinaminopeptidase, α -Amylase und Cholinesterase gemessen. In normalem Fruchtwasser sind im wesentlichen Lactat- und Malatdehydrogenase, alkalische Phosphatase, α -Amylase und Aspartattransaminase zu finden, die übrigen Enzyme sind nur in Spuren vorhanden. Bei Erythroblastosen infolge Rh-Inkompatibilität und bei Schwangerschaften mit Placenta-Infarkten stimmen die Mittelwerte der Aktivitäten mit denen im normalen Fruchtwasser überein. Bei mekoniumhaltigem Fruchtwasser ist die alkalische Phosphatase stets erhöht. Mit dieser einen Ausnahme besteht kein Zusammenhang zwischen dem Zustand des Kindes und der Aktivität der untersuchten Enzyme.

The enzymes of amniotic fluid

Measurements were made of the enzymatic activity of lactate and malate dehydrogenase, alkaline phosphatase, acid phosphatase, aspartate and alanine transaminase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, leucine aminopeptidase, α -amylase and cholinesterase in amniotic fluid obtained from normal and pathological pregnancies. In normal amniotic fluid the chief enzymes are lactate and malate dehydrogenase, alkaline phosphatase, α -amylase and aspartate transaminase, the remaining enzymes being present in traces only. In erythroblastosis resulting from Rh-incompatibility and in pregnancies with infarcted placentas the mean values of the enzyme activities correspond to those of normal amniotic fluid. In amniotic fluid containing meconium the alkaline phosphatase is always increased. With this one exception there was no relationship between the condition of the child and the activity of the above enzymes.

Bei einer Schädigung des menschlichen Feten infolge Rh-Unverträglichkeit läßt sich im Fruchtwasser eine bei 450 nm liegende Absorptionsbande nachweisen, die von Bilirubin und dem Bilirubin verwandten Farbstoffen herrührt. Zwischen der Höhe dieser „Bilirubinoid“-Absorption und der Schwere des hämolytischen Prozesses besteht eine Korrelation (1), die jedoch nicht in allen Fällen gilt. Um weitere Anhaltspunkte zur Beurteilung der kindlichen Schädigung zu bekommen, bestimmten wir die Aktivität verschiedener Enzyme im Fruchtwasser normaler und pathologischer Schwangerschaften.

Bisher sind nur wenige Untersuchungen von Enzymen im Fruchtwasser durchgeführt worden, wobei sich sehr große Streubereiche der Aktivitäten in normalen Fruchtwasserproben ergaben. Diese starke Streuung wird stets ein Auffinden pathologischer Abweichungen erschweren, doch läßt sich unter der Annahme, daß die Placentaschranke für Moleküle mit einem Molekulargewicht > 1000 undurchlässig ist (2), eine Konzentrierung vom Feten abgegebener Enzyme erwarten.

Wir untersuchten die Aktivitäten der Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Malatdehydrogenase (EC 1.1.1.37), Leucin-Amino-Peptidase (= Aminosäure-Arylamidase) (EC 3.4.1.1), alkalischen Phosphatase (EC 3.1.3.1), sauren Phosphatase (EC 3.1.3.2), Aspartat-Transaminase (EC 2.6.1.1), Alanin-Transaminase (EC 2.6.1.2), Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (EC 1.1.1.49), α -Amylase (EC 3.2.1.1) und Cholinesterase (EC 3.1.1.8).

¹⁾ Auszugsweise vorgetragen bei der Tagung der Oberrheinischen Ges. f. Gynäk. und Geburtsh., Basel 1969.

²⁾ Wesentliche Teile der vorliegenden Arbeit wurden von I. SCHNEIDER als Dissertation der Med. Fakultät der Universität Freiburg i. Br. vorgelegt.

Material und Methoden

Die Fruchtwasserproben wurden durch Blasensprengungen oder durch transabdominale Amniozentesen gewonnen. Bluthaltige Proben schieden für die Untersuchung aus. Vernixflocken ließen sich durch Filtrieren und Zentrifugieren entfernen.

Messung der Enzymaktivitäten

Die Messung der Lactatdehydrogenase (3) und Malatdehydrogenase (4) erfolgte wie in früheren Untersuchungen. Leucinaminopeptidase (5), alkalische Phosphatase (6), saure Phosphatase (7), Aspartattransaminase (8), Alanintransaminase (8), Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (9) und Cholinesterase (10) wurden mit Test-Kombinationen der Firma Boehringer, Mannheim, gemessen, α -Amylase (11) mit der Test-Kombination der Firma E. Merck, Darmstadt.

Für die Messung von Enzymaktivitäten in Mekonium wurde 1 g Mekonium mit der doppelten Menge 0,066 M Phosphatpuffer pH 7,4 im Ultraturax unter Eiskühlung homogenisiert. Nach 10 Min. Zentrifugieren bei 30000 g wurde der mit Phosphatpuffer auf das 2- bis 160fache verdünnte Überstand für die Messungen benutzt.

Ergebnisse

Die Untersuchung von Fruchtwasser bei 12 Schwangerschaften, deren Verlauf klinisch ohne Besonderheiten war und bei denen am Endtermin normale Kinder geboren wurden, ergab im wesentlichen Enzymaktivitäten von Lactat- und Malatdehydrogenase, alkalischer Phosphatase und Aspartattransaminase (Tab. 1). Leucinaminopeptidase, Cholinesterase, saure Phosphatase, Alanintransaminase, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und α -Amylase waren dagegen in nur geringen Aktivitäten vorhanden.

Bei den Untersuchungen wurde kontrolliert, ob die Patientinnen einen hohen Blutdruck, Ödeme oder eine Hyperemesis hatten, ferner, ob eine Übertragung vorlag

Tab. 1
Enzymaktivitäten (mU/ml) in normalem Fruchtwasser

LDH = Lactatdehydrogenase; MDH = Malatdehydrogenase; LAP = Leucinaminopeptidase; AP = alkalische, SP = saure Phosphatase; GOT = Aspartat-, GPT = Alanintransaminase; G-6-PDH = Glucose-6-phosphatdehydrogenase, ChE = Cholinesterase

Nr.	Name	LDH	MDH	LAP	AP	SP	GOT	GPT	G-6-PDH	α -Amylase	ChE
1	J. F.	—	75,6	—	27,8	1,51	—	1,0	2,9	137,0	117,0
2	H. M.	—	—	5,18	—	—	—	—	—	—	—
3	M. M.	121,2	—	1,40	5,0	—	—	—	0,0	—	—
4	H. S.	272,7	132,3	0,86	22,2	0,90	2,6	0,0	0,0	111,1	0,0
5	H. K.	206,0	56,7	3,24	25,6	0,61	9,8	2,0	0,9	0,0	0,0
6	M. G.	400,0	56,7	3,02	20,2	2,73	12,3	2,0	0,9	0,0	46,8
7	L. W.	145,4	94,5	1,30	17,6	2,02	7,0	2,0	0,0	50,7	0,0
8	G. G.	201,0	75,6	0,43	29,0	0,00	5,4	0,0	0,0	8,6	0,0
9	C. V.	381,8	75,6	3,02	38,8	3,00	12,2	2,0	0,9	106,7	0,0
10	H. B.	351,5	56,7	5,83	41,2	0,40	14,2	2,2	1,9	33,6	0,0
11	M. A.	212,1	68,0	0,76	—	1,82	6,6	2,0	0,0	—	70,2
12	R. P.	97,0	132,3	2,38	44,4	0,50	7,0	2,3	0,9	—	93,6
		\bar{x}	238,9	82,4	2,5	27,2	1,35	1,6	0,8	56,0	32,8
		$\pm s$	108,6	28,8	1,8	11,9	1,03	0,9	0,9	49,1	45,8

Tab. 2
Enzymaktivitäten (mU/ml) im Fruchtwasser bei Erythroblastose. Abkürzungen vgl. Tab. 1

Nr.	Name	LDH	MDH	LAP	AP	SP	GOT	GPT	G-6-PDH	α -Amylase	ChE
13	E. K.	179,4	113,4	1,84	6,6	1,41	0,0	0,0	0,0	0,0	—
14	A. P.	515,1	132,3	35,32	9,2	0,00	10,1	0,0	1,9	8,0	70,2
15	H. Z.	84,8	94,5	4,32	4,2	0,00	0,0	0,0	—	—	—
16	M. O.	157,6	—	50,76	—	0,50	16,2	2,0	—	38,0	70,2
17	G. R.	151,5	132,3	2,38	22,4	1,21	4,8	2,0	0,9	113,5	0,0
18	P. G.	121,2	181,4	1,51	13,4	0,91	5,8	2,0	0,0	220,6	0,0
		\bar{x}	239,1	130,8	16,0	11,2	6,1	1,0	0,7	76,2	35,1
		$\pm s$	156,8	32,4	21,5	7,2	6,2	1,2	0,8	92,4	40,5

Tab. 3
Enzymaktivitäten (mU/ml) in mekoniumhaltigem Fruchtwasser. Abkürzungen vgl. Tab. 1

Nr.	Name	LDH	MDH	LAP	AP	SP	GOT	GPT	G-6-PDH	α -Amylase	ChE	
19	E. K.	212,1	—	5,08	1452,0	6,56	5,2	0,0	1,9	18,2	0,0	Placenta-Infarkte
16	M. O.	157,6	—	50,76	—	0,50	16,2	2,0	—	38,8	70,2	
20	A. W.	369,6	245,7	34,56	1544,0	0,61	14,5	0,0	0,0	26,2	0,0	
21	V. F.	345,5	75,6	0,32	926,0	7,57	6,0	4,2	0,0	144,1	46,8	Placenta-Infarkte
22	H. B.	290,9	94,5	0,32	470,0	1,51	6,8	2,0	0,0	9,7	0,0	
23	A. K.	260,6	132,3	89,64	826,0	12,22	18,3	3,1	0,0	19,9	0,0	Präeklampsie
		\bar{x}	272,7	137,0	30,1	1043,6	4,83	11,2	1,9	42,8	19,5	
		$\pm s$	80,1	76,3	35,1	460,0	4,75	5,8	1,7	51,6	31,1	

oder das Kind irgendwelche Anomalitäten zeigte. Die untersuchten *pathologischen Schwangerschaften* wurden nach drei Kriterien zusammengefaßt. Einmal handelte es sich um Erythroblastosen unterschiedlichen Schweregrades infolge Rh-Unverträglichkeit. Eine zweite Gruppe faßte Schwangerschaften zusammen, bei denen das Fruchtwasser durch Mekoniumabgang grünlich verfärbt war, eine dritte Gruppe solche, bei denen die Placenten Infarkte aufwiesen.

Diese Einteilung brachte es mit sich, daß — wie aus der Numerierung ersichtlich ist — einige Patientinnen in zwei Gruppen aufgeführt sind.

Tabelle 2 enthält die Enzymaktivitäten im Fruchtwasser sechs rh-negativer Patientinnen, bei denen eine Erythroblastose vorlag.

In weiteren Tabellen sind die Enzymaktivitäten aufgeführt, die im Fruchtwasser gefunden wurden, welches durch Mekonium grün verfärbt war (Tab. 3), oder aber von Schwangerschaften stammte, deren Placenten Infarkte zeigten (Tab. 4).

Bei den in Tabelle 1 aufgeführten Ergebnissen zeigten sich für alle untersuchten Enzyme große Streuungen innerhalb der Meßreihe. Diese individuellen Abweichungen im Normalen lassen bei pathologischen Vorgängen nur starke Änderungen der Enzymaktivitäten erkennen. Bei den Erythroblastose-Fällen der Tabelle 2 unterschieden sich die Mittelwerte der Enzymaktivitäten kaum von denen bei normalen Schwangerschaften. Nur der Mittelwert der Leucinaminopeptidase wich erheblich ab, bedingt durch die extrem hohen Aktivitäten in

Tab. 4
Enzymaktivitäten (mU/ml) im Fruchtwasser bei Placentainfarkten. Abkürzungen vgl. Tab. 1

Nr.	Name	LDH	MDH	LAP	AP	SP	GOT	GPT	G-6-PDH	α -Amylase	ChE	
14	A. P.	515,1	132,3	35,32	9,2	0,00	10,1	0,0	1,9	8,0	70,2	Erythroblastose
15	H. Z.	84,8	94,5	4,32	4,2	0,00	0,0	0,0	—	—	—	Erythroblastose
17	G. R.	151,5	132,3	2,38	22,4	1,21	4,8	2,0	0,9	113,5	0,0	Erythroblastose
21	V. F.	345,5	75,6	0,32	926,0	7,57	6,0	4,2	0,0	144,3	46,8	mekoniumhaltig
24	B. O.	412,1	170,1	4,00	140,8	0,81	14,5	2,5	0,9	24,5	140,4	
19	E. K.	212,1	—	5,80	1452,0	6,56	5,2	0,0	1,9	18,2	0,0	mekoniumhaltig
\bar{x}		286,8	121,0	8,69	425,8	2,69	6,8	1,1	1,1	61,7	51,5	
$\pm s$		104,7	36,8	13,0	658,8	3,44	5,0	1,8	0,8	62,6	58,2	

Tab. 5
Enzymaktivitäten (mU/g) im Mekonium. Abkürzungen vgl. Tab. 1

Nr.	Name	LDH	MDH	LAP	AP	SP	GOT	GPT	G-6-PDH	α -Amylase	ChE
1	K. W.	97,6	248,0	18 560	128 000	0,0	44,0	47,2	0,0	5 790	0,0
2	K. H.	72,7	218,4	2 580	51 840	24,0	38,2	63,6	5,4	5 600	240,0

den Fällen 14 und 16. Das gleiche gilt für die Ergebnisse bei mekoniumhaltigem Fruchtwasser (Tab. 3), nur waren hier außer einzelnen hohen Leucinaminopeptidase-Werten durchgehend stark erhöhte Aktivitäten der alkalischen Phosphatase zu messen. Diese Phosphatase-Erhöhung stimmt mit den Befunden anderer Autoren überein (12, 13).

In Tabelle 5 sind Enzymaktivitäten im Mekonium angegeben. Die mit Abstand größte Aktivität wurde für alkalische Phosphatase gefunden. Die Aktivitäten von Leucinaminopeptidase und α -Amylase betragen 5–10% davon. Von den übrigen untersuchten Enzymen wurden nur Spuren gefunden.

Diskussion

Bei der Auswahl der Enzyme gingen wir von dem Gesichtspunkt aus, möglichst verschiedenartige Enzyme zu untersuchen, um so bei pathologischen Schwangerschaften am sichersten eine Abweichung vom Normalen zu finden. Dazu ist jedoch zu sagen, daß schon bei normalen Fruchtwasserproben die individuelle Streuung der Werte sehr groß ist.

Unsere für Lactatdehydrogenase gefundenen Werte ($238,9 \pm 108,6$ mU/ml) stimmen gut mit denen von LAPAN und FRIEDMAN (14) überein (188 ± 92 mU/ml), ebenso unsere Werte für alkalische Phosphatase ($27,2 \pm 11,9$ mU/ml) mit den von SCHREINER (13) gefundenen (etwa 36 ± 44 mU/ml, umgerechnet aus Bodanski-Einheiten). MISCHER (15) fand umgerechnet etwa 65 mU/ml, jedoch sind alle Untersuchungen mit verschiedenen Methoden nur bedingt vergleichbar. Die Ergebnisse von JUNG und DIEM (12) lassen sich wegen der völligen Verschiedenheit der Methoden überhaupt nicht mit unseren Ergebnissen vergleichen. Dasselbe gilt für ihre Untersuchung der sauren Phosphatase und auch für die von KRESSER und WORASCHK (16) für die saure Phosphatase mitgeteilten Werte.

Unsere Untersuchung der Aspartattransaminase ergab Aktivitäten von $8,6 \pm 3,8$ mU/ml. Der Wert liegt höher

als der von KUBLI (17) angegebene (etwa 4,5 mU/ml, umgerechnet aus Karmen-Einheiten), wobei aber auch hier mit unterschiedlichen Methoden gearbeitet wurde.

KRESSER und WORASCHK fanden, daß in mekoniumhaltigem Fruchtwasser Leucinaminopeptidase stark erhöht sein kann (18). Ihre Methode ist mit der von uns angewandten nicht vergleichbar. Das gleiche gilt für die Untersuchung von BEECHAM und Mitarbeitern (19), die zu dem Schluß kamen, aus den Leucinaminopeptidase-Werten sei kein Anhalt über die kindliche Schädigung bei Rh-Inkompatibilitäten zu gewinnen. In Übereinstimmung mit den Befunden anderer Autoren (12, 13) fanden wir in mekoniumhaltigem Fruchtwasser stets stark erhöhte Aktivitäten an alkalischer Phosphatase. Leucinaminopeptidase war dabei nur in einigen Fällen stark erhöht. Aus den Befunden bei Mekonium (Tab. 5) läßt sich die Erhöhung der alkalischen Phosphatase verstehen, nicht jedoch das völlige Fehlen eines starken Anstiegs der α -Amylase. Ob die Leucinaminopeptidase-Aktivität im Mekonium mitunter nur gering ist und sich daraus die fehlende Relation zur alkalischen Phosphatase bei mekoniumhaltigen Fruchtwasserproben erklärt, könnte nur durch Untersuchung einer größeren Zahl von Mekonium-Proben geklärt werden.

Bei keinem der untersuchten Enzyme konnten wir in den Fällen von Erythroblastose Abweichungen von der Norm finden, die irgendeine diagnostische Hilfe gäben. Auch die Fälle der Placenta-Infarkte, bei denen man eine Veränderung der Zell-Enzyme (Lactat- und Malatdehydrogenase, Aspartat- und Alanintransaminase) erwarten sollte, zeigen keine Abweichung von der Norm. Offenbar bleibt die Undurchlässigkeit des Amnions für Enzyme selbst bei stark infarzierten Placenten erhalten. Nach unseren Untersuchungen über die Herkunft der Fruchtwasser-Enzyme (20) läßt sich sagen, daß bei Placenta-Infarkten keine Placenta-Enzyme in das Fruchtwasser übertreten. Die Quotienten Malat- : Lactatdehydrogenase, Aspartattransaminase : Lactatdehydrogenase und Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase : Lactatdehydrogenase

drogenase werden nicht verändert, wie es der Fall sein müßte, wenn Placenta-Enzyme in das Fruchtwasser eingeschwemmt würden. Doch darauf werden wir an anderer Stelle (20) noch näher eingehen.

In unsere Untersuchung konnten wir leider nur eine Patientin mit einer schweren Präeklampsie einbeziehen. Wie sich jedoch selbst aus diesem einen Fall (Nr. 23) schließen läßt, zeigt auch bei einer Präeklampsie das

Fruchtwasser keine sicher verwertbare Abweichung der untersuchten Enzyme vom Normalen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß keines der untersuchten Enzyme, auch nicht Sekret-Enzyme wie α -Amylase und Cholinesterase, einen Hinweis auf den Zustand des Kindes bei einer Erythroblastose oder bei einer eingeschränkten Placenta-Funktion gibt.

Literatur

1. BEVIS, D. C. A., J. Obstetr. Gynaec. Brit. Empire 63, 68 (1956).
2. RIMBACH, E., Arch. Gynäk. 198, 198 (1963). — 3. GEYER, H., Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 348, 823 (1967). — 4. GEYER, H., Zschr. analyt. Chem. 243, 578 (1968). — 5. NAGEL, W., F. WILLIG und F. H. SCHMIDT, Klin. Wschr. 42, 447 (1964). — 6. BESSEY, O. A. H., H. O. LOWRY und M. J. BROCK, J. biol. Chemistry 164, 321 (1946). — 7. FISHMAN, W. H. und F. LERNER, J. biol. Chemistry 200, 89 (1953). — 8. REITMANN, S. und S. FRANKEL, Amer. J. Clin. Path. 28, 56 (1957). — 9. KORNBERG, A. und B. L. HORECKER in: Methods in Enzymology I, Academic Press, New York (1955). — 10. ELLMANN, G. L., K. D. COURTNEY, V. ANDRES und R. M. FEATHERSTONE, Biochem. Pharmacol. 7, 88 (1961). — 11. STREET, H. V. und J. R. CLOSE, Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 1, 256 (1956). — 12. JUNG, G. und R. DIEM, Arch. Gynäk. 192, 155 (1959). — 13. SCHREINER, W. E., „Fruchtwasser und Fetus“. Bibl. gynaec. Fasc. 31 (1964). — 14. LAPAN, B. und M. M. FRIEDMAN, Amer. J. Obstetr. Gynec. 83, 1337 (1962). — 15. MISCHER, W., Zbl. Gynäk. 82, 1382 (1960). — 16. KRESSER, M. und H.-J. WORASCHK, Arch. Gynäk. 199, 43 (1963). — 17. KUBLI, F., Zbl. Gynäk. 83, 1151 (1961). — 18. KRESSER, M. und H.-J. WORASCHK, Z. Geburtshilfe Gynäkol. 161, 207 (1964). — 19. BEECHAM, C. T., L. MOLTHAN, J. BOUTWELL und C. W. ROHRBECK, Amer. J. Obstetr. Gynec. 83, 1053 (1962). — 20. GEYER, H., diese Z. 8, 145 (1970).

Dr. H. Geyer
78 Freiburg i. Br.
Hugstetterstr. 55