

Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.
11. Jg. 1973, S. 130—132

Erwiderung auf die „Comments on Paper ‚Zwei Suchteste für Porphyrinen‘“

(TSCHUDY, D. P. & WATSON, C. J. (1973), diese Z., vorstehend)

Reply to the

„Comments on Paper ‚Zwei Suchteste für Porphyrinen‘“

(TSCHUDY, D. P. & WATSON, C. J. (1973), *this j., preceding*)

(Eingegangen am 1. November 1972)

Den Autoren gebührt Dank dafür, daß sie mit ihren „Comments“ die schon längst fällige Diskussion um den sogenannten WATSON-SCHWARTZ-Test selbst in einer Fachzeitschrift eingeleitet haben. Zunächst aber darf daran erinnert werden, daß unsere Arbeit¹⁾ nicht dem WATSON-SCHWARTZ-Test (1—3) galt, sondern einem ionenaustauschchromatographischen Suchtest für Porphyrine und einem für Porphobilinogen im Urin (4, 5), welcher mit dem WATSON-SCHWARTZ-Test in der Originalversion (1) und in der Modifikation mit der zusätzlichen Butanolextraktion (2, 3) im Rahmen systematischer Studien verglichen wurde. Das Verfahren des WATSON-SCHWARTZ-Tests zum Nachweis von Porphobilinogen (1) ist bereits in der von PAULA SACHS im Jahre 1931 mitgeteilten Beobachtung enthalten (6): Sie fand im Urin eines Patienten mit akuter intermittierender Porphyrie eine Substanz, die mit *p*-Dimethylaminobenzaldehyd eine EHRLICH'sche Reaktion zeigte; der Farbkomplex ließ sich jedoch nicht mit Chloroform, Äther oder Essigester extrahieren und war somit gegen Urobilinogen abgrenzbar.

Die EHRLICH'sche Reaktion hat elementare Bedeutung für den qualitativen Nachweis (2, 3, 7) und die quantitative Analyse von Porphobilinogen erhalten (8). Bis zur Gegenwart galt der WATSON-SCHWARTZ-Test praktisch als einziger Suchtest für die akute intermittierende Porphyrie. Diese Tatsache und die Bemühungen, den Test zu verbessern (2, 3) und seine Interpretationsmöglichkeiten einzuengen, d. h. falsch-positive Befunde zu eliminieren, verhalfen ihm zu einem diagnostischen Monopol, das mit dem methodischen Anspruch an einen Suchtest auf Porphobilinogen nicht vereinbar erscheint. Vor der irreführenden Praxis des WATSON-SCHWARTZ-Tests hat WITH im Jahre 1967 (9) deutlich gewarnt und auf seine Nachteile, insbesondere auf seine ungenügende Spezifität, mehrfach verwiesen (10—12). Unabhängig davon ließen die Experimente von CASTROW (13) klar erkennen, daß der Vorschlag, den WATSON-SCHWARTZ-Test als den zum Porphobilinogennachweis im Urin geeignetsten diagnostischen Test zu kenn-

zeichnen (2, 3), nicht zutrifft. Seine (13) und unsere Ergebnisse zeigen, daß der WATSON-SCHWARTZ-Test ein sicheres Verfahren zur Schnelldiagnostik einer akuten Porphyrie weder war, noch — von dem ihm zugrundeliegenden Prinzip aus betrachtet — sein kann. Bemerkenswert ist das Phänomen, wie dem WATSON-SCHWARTZ-Test im Verlaufe der Zeit gleichsam apodiktische Attribute zugewachsen sind und er in der Porphyriediagnostik der Gegenwart fast wie eine Ideologie fungiert. Nach objektiven Maßstäben kann doch nicht angezweifelt werden, daß ein ionenaustauschchromatographischer, aus dem anerkannten Prinzip der quantitativen Bestimmung von Porphobilinogen (8) abgeleiteter Suchtest, dessen Nachweisreaktion eine Entfernung interferierender Substanzen vorausgeht, jedem groben Extraktionsverfahren an Spezifität und somit an Zuverlässigkeit überlegen sein muß. Die praktische Durchführung hat dies erwiesen und zudem auch gezeigt, daß der ionenaustauschchromatographische Suchtest empfindlicher als der WATSON-SCHWARTZ-Test ist (4, 5, 13).

Selbstverständlich haben wir mit dem WATSON-SCHWARTZ-Test nicht so viel Erfahrung wie seine Autoren. Da wir seit Jahren die pathologische Biochemie des Porphyrinstoffwechsels studieren und mit der Diagnostik seiner Störungen vertraut sind, war es unumgänglich, auch mit dem WATSON-SCHWARTZ-Test Erfahrungen zu sammeln und Fremdergebnisse mit diesem Test (aus Kliniken und anderen Instituten) ionenaustauschchromatographisch zu überprüfen (14). Aus beidem ergab sich die praktische Notwendigkeit, nach neuen Möglichkeiten für die Schnelldiagnostik der akuten intermittierenden Porphyrie zu suchen (4, 5). Die mehrfache Überarbeitung des WATSON-SCHWARTZ-Tests signalisiert seine kritischen Punkte und legt die implizierten Schwierigkeiten seiner Interpretation offen (2, 3). Der Test ist überstrapaziert. Wenn ein Suchtest zum Nachweis eines Metaboliten im Urin darüberhinaus noch sehr viel Erfahrung und eine detaillierte Kenntnis seiner Grenzen erfordert, dann entspricht er nicht den Anforderungen, die von Seiten des Fachgebietes Klinische Chemie an einen Suchtest gestellt

¹⁾ Doss, M. & SCHMIDT, A. (1972), diese Z. 10, 230—231.

werden. Denn in der Praxis hat man davon auszugehen, daß die akute intermittierende Porphyrie eine relativ seltene Diagnose ist, auf die im Rahmen klinischer Symptomatologie ein Verdacht zwar häufiger erhoben werden sollte als es dem echten Vorkommen der Erkrankung entspricht; in der Tat aber wird in den meisten Fällen erst nach einer Reihe anderer differentialdiagnostischer Maßnahmen der Versuch unternommen, eine akute intermittierende Porphyrie auszuschließen. Deshalb wird der WATSON-SCHWARTZ-Test — und auch jeder andere Porphobilinogen-Test — nicht eben häufig durchgeführt: Wer in den Krankenhäusern und klinisch-chemischen Laboratorien, die sich nicht mit Porphyriediagnostik auskennen, hat denn überhaupt die von den Autoren gewünschte „very much experience“? Wäre solche Erfahrung in den Kliniken der USA ausreichend vorhanden, würde von kompetenter Seite nicht darüber berichtet werden können, daß der Test bei 75% der Patienten, bei denen Verdacht auf eine akute intermittierende Porphyrie bestand, „positiv“ ausfiel, da er, wie die Autoren meinen, „had not been properly carried out or interpreted“ (15). Beinhaltet diese Darstellung der Sachlage nicht die Schlußfolgerung, daß der WATSON-SCHWARTZ-Test in der überwiegenden Zahl seiner Anwendungen letzten Endes ein „falsch-positives“ Ergebnis hervorbringt? Setzt man einmal voraus, der WATSON-SCHWARTZ-Test werde wirklich in einem so hohen Prozentsatz falsch ausgeführt oder falsch interpretiert —: Soll daraus die Konsequenz gezogen werden, den Test weiterhin zu propagieren mit der Auflage, zuvorderst „very much experience“ zu sammeln? Muß ein Suchtest auf Porphobilinogen so beschaffen sein, daß er erst nach speziellem Training und Einweihung in höhere Interpretationskünste funktioniert? Unter Einschluß der Kritik anderer Autoren (9–13), die ihre Arbeit diesen Fragen konfrontierten, bin ich der Überzeugung, daß die Verfügbarkeit eines qualitativen, weitgehendst spezifischen Tests auf Porphobilinogen im Urin, insbesondere für die klinisch-chemischen Laboratorien der Krankenhäuser, ein absolutes Erfordernis ist, um die Verdachtsdiagnose einer akuten intermittierenden Porphyrie zu stellen. Wollen die Autoren mit dem Hinweis, daß klinische Laboratorien im Notfalldienst oder am Wochenende unfähig oder unwillig seien, den Porphobilinogen-Säulentest durchzuführen, ausdrücken, daß der WATSON-SCHWARTZ-Test unfähigen Untersuchern komplementär sei? Ist doch die Verwendung einer Fertigsäule in erster Linie eine Frage der Organisation und nur zweitrangig eine der Ausbildung; denn Durchführung und Beurteilung der Säulenteste erfordern kein im Porphyriegebiet erfahrenes Personal.

Der Standpunkt von WATSON und Mitarbeitern aus dem Jahre 1964 (3), daß die „resin method is a highly useful specific procedure for porphobilinogen but is unnecessary in the great majority of cases of symptomatic acute porphyria“ mag allenfalls damals, als man die Säulen für die Ionenaustauschchromatographie von

δ -Aminolävulinsäure und Porphobilinogen selbst vorbereiten mußte, noch verständlich erscheinen; heute jedoch, wo mit handlichen Fertigsäulen die quantitative Methode technisch so unproblematisch wurde (14), daß sie zum qualitativen Nachweis von Porphobilinogen genutzt wird, sollte sie nicht nur dann Anwendung finden, „when symptoms suggest the diagnosis and the qualitative test is either negative or atypical, especially if the chloroform extract in the WATSON-SCHWARTZ-test indicates the presence of indican or indol“ (3). CASTROW (13) stellte fest, daß der WATSON-SCHWARTZ-Test mit der Butanolextraktion bei Anwesenheit von Indol (0,1–1 g/l) im Urin ein zweideutiges Ergebnis brachte.

Ein von laboratoriumsmedizinischer Seite allein auf dem WATSON-SCHWARTZ-Test basierender Entschluß zu einer sofortigen Therapie einer akuten intermittierenden Porphyrie mit intravenösen Infusionen von Hämatin (16), von welcher nicht sicher bekannt ist, ob sie für Patienten völlig gefahrlos ist, wird beim gegenwärtigen Stand der Kenntnisse über die Eignung des Tests zur Porphyriediagnostik auf die Institutionen der Autoren, die diesen Hinweis hoffentlich nicht als generelle Empfehlung verstanden wissen wollen, limitiert bleiben müssen.

Grundsätzlich ist festzustellen, daß die Diagnose einer akuten intermittierenden Porphyrie

1. nicht auf der Grundlage eines einzigen qualitativen Tests beruhen kann;
2. nur durch die Kombination von zwei Suchtests, dem Nachweis von Porphobilinogen und Porphyrinen im Urin (17), wahrscheinlich gemacht und danach
3. anhand quantitativer Analysen von δ -Aminolävulinsäure, Porphobilinogen und Porphyrinen gesichert wird (17).

Diese Punkte stimmen mit den Empfehlungen von WIRTH (9–11) und CASTROW (13) überein (4), und ich darf aus der Sicht der Untersuchungen in diesem Laboratorium besonders hervorheben, daß der parallele Nachweis von Porphobilinogen und Porphyrinen ein führendes Kriterium zur Diagnose einer akuten intermittierenden Porphyrie ist (18). Die Diagnose im klinisch symptomfreien Stadium auf der Grundlage der Urindiagnostik kann in den meisten Fällen ausschließlich nur durch quantitative Analysen gestellt werden.

Will man jedoch einen sehr einfachen, schnellen und billigen Suchtest auf Porphobilinogen anwenden, so muß der von WIRTH (11, 12) wiederentdeckte HOESCH-Test (19) Erwähnung finden, der einer „umgekehrten“ EHRLICH'schen Aldehydreaktion (7) entspricht. In etwa 300 Urinproben von Personen (Personal des Instituts, Patienten mit chronischem Leberschaden, mit chronischer hepatischer Porphyrie, mit Porphyria cutanea tarda, mit Bleivergiftung, mit Polyneuritis) mit normaler Porphobilinogenausscheidung, die quantitativ bestimmt wurde (8, 14), fanden wir keinen positiven Test. Positive Resultate korrelierten mit Porphobilinogenkonzentrationen ab 8 mg/l; ab einer Porpho-

bilinogenkonzentration von 4 mg/l wurden schwach-positive Befunde erhalten. Von dem Anspruch des WATSON-SCHWARTZ-Tests aus beurteilt, leistet der wesentlich praktikabelere HOESCH-Test das Gleiche wie jener. Beim HOESCH-Test wird in einem kleinen Reagenzgefäß zu 1 ml des sog. EHRLICH's Reagenz I (2 g *p*-Dimethylaminobenzaldehyd in 100 ml 6 mol/l HCl) 1 Tropfen Urin hinzugefügt (12). Man kann auch ein anderes EHRLICH's Reagenz verwenden (4, 14); wir führen die Reaktion mit dem zur quantitativen Bestimmung (14) angesetzten Reagenz durch (2 g *p*-Dimethylaminobenzaldehyd gelöst in 84 ml Essigsäure und 16 ml

Perchlorsäure). Das Testgefäß wird geschüttelt. Eine sich unmittelbar entwickelnde Rosa- oder Rotfärbung der Probe zeigt einen positiven Nachweis an; keine, eine gelbe oder orangene Verfärbung bedeutet ein negatives Ergebnis. Urobilinogen in Konzentrationen von 20 bis 200 mg/l führt nicht zu einem positiven Test (12). Der HOESCH-Test ist zur Durchführung am Krankenbett geeignet. Einem positiven Test müssen, wie oben ausgeführt, spezifische Nachweisverfahren und/oder quantitative Analysen folgen einschließlich einer Differenzierung sowohl der Porphyrinvorläufer (14) als auch der Porphyrine im Urin (20).

Literatur

1. WATSON, C. J. & SCHWARTZ, S. (1941), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 47, 393—394. — 2. WATSON, C. J., BOSSENMAIER, I. & CARDINAL, R. (1961), *J. Amer. Med. Ass.* 175, 1087—1091. — 3. WATSON, C. J., TADDEINI, L. & BOSSENMAIER, I. (1964), *J. Amer. Med. Ass.* 190, 501—504. — 4. DOSS, M. (1971), *Lancet* II, 983—984. — 5. DOSS, M. (1972), *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 29, Suppl. 126, 30. 14. — 6. SACHS, P. (1931), *Klin. Wochenschr.* 10, 1123—1125. — 7. WALDENSTRÖM, J. (1937), *Studien über Porphyrin*, *Acta Med. Scand.*, Suppl. 82, 53—63. — 8. MAUZERALL, D. & GRANICK, S. (1956), *J. Biol. Chem.* 219, 435—446. — 9. WITH, T. K. (1967), *Lancet* I, 1009. — 10. WITH, T. K. (1968), *Clin. Biochem.* 1, 224—242. — 11. WITH, T. K. (1970), *Lancet* II, 1187—1188. — 12. WITH, T. K. (1971), *S. Afr. J. Lab. Clin. Med.* 17, 229—230. — 13. CASTROW II, F. F. (1970), *Southern Med. J.* 63, 514—516. — 14. DOSS, M. & SCHMIDT, A. (1971), *diese Z.* 9, 99—102. — 15. STEIN, A. & TSCHUDY, D. P. (1970), *Medicine* 49, 1—16. — 16. BONKOWSKY, H. L., TSCHUDY, D. P., COLLINS, A., DOHERTY, J., BOSSENMAIER, I., CARDINAL, R. & WATSON, C. J. (1971), *Proc. Nat. Acad. Sci. (USA)* 68, 2725—2729. — 17. DOSS, M. & MEINHOF, W. (1971), *Deut. Med. Wochenschr.* 96, 1006 bis 1013. — 18. DOSS, M. (1972), *Ärztl. Lab.* 18, 205—211. — 19. HOESCH, K. (1947), *Deut. Med. Wochenschr.* 72, 704—705. — 20. DOSS, M. (1970), *diese Z.* 8, 197—207.

Prof. Dr. Manfred Doss
Abteilung für Klinische Biochemie am
Hygiene-Institut der Universität
D-355 Marburg a. d. Lahn
Pilgrimstein 2