

Alferayh

*Sonderdruck aus*

**Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin  
78. Band**

© by J. F. Bergmann, München 1972

(Printed in Germany)

Bei einer weiteren Auswertung wurde ein Kollektiv von Leberpatienten zusammengestellt, um die Empfindlichkeit der GGTP gegenüber den anderen Parametern in der Leberdiagnostik abzugrenzen. Bei insgesamt 36 Patienten mit verschiedenen chronischen Leberkrankheiten und erhöhter GGTP wurden zusammen elf Parameter ausgewertet. Die Abb. 2 zeigt den prozentualen Anstieg der pathologischen Werte dieser elf Parameter, wobei der Anstieg der GGTP gleich 100 %

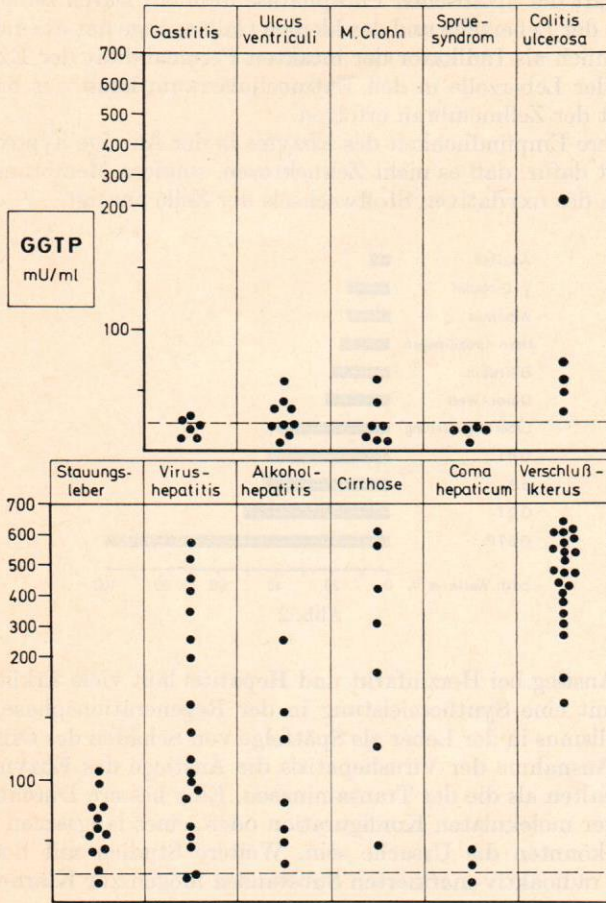


Abb. 1

gesetzt wurde. Es zeigt sich, daß die übrigen Parameter in einem wesentlich geringeren Prozentsatz pathologisch ausfielen.

Schwierig zu entscheiden war die Frage, ob die Anstiege des Enzyms bei verschiedenen Formen von Herzkrankheiten auf eine Leberschädigung zurückzuführen sind. Um nun zu prüfen, ob neben der Leber und den Gallengängen noch der Herzmuskel als Quelle des Serumenzym in Frage kommt, wurde Blut aus den großen Körpergefäßen, das bei der Herzkatheterisierung gewonnen wurde, untersucht. Dabei fanden sich keine signifikanten Unterschiede der Enzymaktivität.

Die eigenen Untersuchungen bestätigten die auch von anderen Autoren vertretene Auffassung, daß das Enzym Leberparenyschäden besonders empfindlich anzeigt. Dabei ist die Cholestase sicher nicht die alleinige Ursache. Bei allen

Formen von Leberkrankheiten hat sich die GGTP als empfindlichstes Enzym vor GOT und GPT bewährt. Da die GGTP histochemisch im Herzmuskel nicht gefunden wurde und auch im Aortenblut keine vermehrte Enzymausschüttung nachgewiesen werden konnte, muß der Anstieg des Enzyms bei Herzkrankheiten verschiedener Art wie Rechtsherzinsuffizienz, Rhythmusstörungen, Infarkt usw., auf eine sekundäre Alteration der Leber durch kardiale Stauung zurückzuführen sein. Im ganzen ist das GGTP-Enzym im Bereich der Leber hinsichtlich Lokalisation und Aussagekraft der alkalischen Phosphatase ähnlich. Durch seine Lokalisation im Cytoplasma der Leberzelle und der kleinen Gallengänge hat es einen zweifachen Charakter, nämlich als Indikator der intakten Permeabilität der Exkretion. Sein Übertritt aus der Leberzelle in den Extracellulärraum kann nur bei vermehrter Durchlässigkeit der Zellmembran erfolgen.

Die besondere Empfindlichkeit des Enzyms in der Anzeige hypoxischer Leberschäden spricht dafür, daß es nicht Zellnekrosen, sondern Membranschädigungen auf dem Boden des oxydativen Stoffwechsels der Zelle anzeigt.

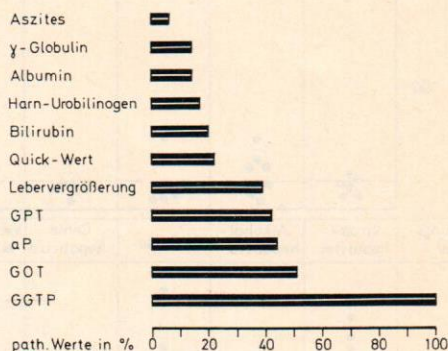


Abb. 2

Der späte Anstieg bei Herzinfarkt und Hepatitis läßt viele Erklärungen offen. In Frage kommt eine Syntheseleistung in der Regenerationsphase oder ein gestörter Katabolismus in der Leber als Spätfolge von Schäden des Organs. Es steht fest, daß mit Ausnahme der Virushepatitis die Anstiege des Enzyms höher sind und länger anhalten als die der Transaminasen. Eine bessere Durchtrittsfähigkeit auf Grund seiner molekularen Konfiguration oder seines langsamen Abbaus bzw. Ausscheidung könnten die Ursache sein. Weitere Studien mit hochgereinigten Enzymen oder radioaktiv-markierten Substanzen mögen zur Klärung dessen beitragen.

WILDGRUBE, H. J., LEUSCHNER, U., AL-FUREYH, A. (Zentrum der Inneren Medizin Universität Frankfurt, Abt. für Gastroenterologie): **Quantitative Bestimmung des Gallensäuremusters in den subzellulären Fraktionen der Leber**

Mit der fortschreitenden Verfeinerung biochemischer Untersuchungsmethoden konnten über Gallensäuren und ihren Stoffwechsel zahlreiche neue Befunde gewonnen werden. Dazu zählen Studien über ihren intracellulären Umsatz und umfangreiche Strukturanalysen. Über die Verteilung der Gallensäuren innerhalb der Zellen gibt es bisher nur wenige Angaben. Wir haben deshalb das Lebergewebe von Ratten in Mitochondrien, Mikrosomen und Cytoplasma aufgetrennt, um in diesen Fraktionen das Gallensäuremuster zu bestimmen.

## Methodik

Als Versuchstiere wählten wir gesunde männliche Wistar-Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 200 bis 250 g. Nach 12stündiger Nahrungskarenz wird die Leber während einer Äthernarkose entnommen und sofort mit dem eisgekühlten Suspensionsmedium mehrfach durchgespült. Suspensionsmedium ist eine wäßrige 0,3 m Kaliumchloridlösung mit Zusatz von 0,05 m EDTA-K. Das unter den üblichen Bedingungen im Glashomogenisator zerkleinerte Gewebe wird durch Ultrazentrifugation in seine subzellulären Strukturen aufgetrennt (Leuschner u. Wildgrube, 1972).

Zur weiteren biochemischen Analyse werden die mitochondriale und die mikrosomale Fraktion sowie der partikelfreie Überstand eingesetzt. Um die Gallensäuren in Lösung zu bringen, müssen die Fraktionen mit 96 %igem Alkohol aufgekocht werden. Nach Filtration und Auswaschen weitere Verunreinigungen mit Petroläther werden die möglicherweise vorhandenen Gallensäurenconjugate durch alkalische Hydrolyse im Autoklaven gespalten. Für die anschließende gaschromatographische Analyse werden somit alle vorhandenen Gallensäuren eingesetzt; unabhängig davon, ob sie in der Zelle in ihrer freien Form oder an Glycin bzw. Taurin gebunden vorliegen.

Der getrocknete Gallensäurenextrakt wird mit Diazomethan methyliert und mit Trifluoressigsäureanhydrid acetyliert. Die Auftrennung erfolgt an einem Gaschromatographen

	mitochondriale Fraktion	mikrosomale Fraktion
1	60	1300
2	30	90
3	6	40
4	15	30
5	30	1000
6	20	320
7	10	40
8	60	800
9	30	600

Abb. 1. Gehalt an Gallensäuren ( $\mu\text{g/g}$  Fraktionen) in der mitochondrialen und mikrosomalen Fraktion von Leberzellen gesunder männlicher Wistar-Ratten ( $n = 9$ )

(Packard) mit Flammenionisationsdetektor. Säulenbedingungen: Länge 180 cm  $\times$  4 mm, Füllung 3% QF-1 auf Gaschrom Q 100 bis 120 mesh, Temperatur const. 230 °C, Durchfluß  $N_2$  70 ml/min (Schreiber, Erb, Wildgrube, Böhle, 1970). Die Quantifizierung erfolgt mittels eines inneren Standards.

## Ergebnisse und Diskussion

Die in neun Versuchsansätzen ermittelten Befunde lassen erkennen, daß im partikelfreien Überstand, der dem Cytoplasma entspricht, kaum nachweisbare Mengen an Cholsäuren vorhanden sind. Die höchsten Gallensäurenkonzentrationen finden sich stets in der mikrosomalen Fraktion; dabei variiert ihr Gehalt zwischen 30 und 1300  $\mu\text{g}$  in jeweils 1 g dieses Kompartements. Mitochondrien enthalten zwischen 6 und 60  $\mu\text{g/g}$  Fraktion, also durchschnittlich nur  $1/16$  der in den Mikrosomen ermittelten Gallensäuremengen (Abb. 1).

Eine endgültige Beurteilung dieser Ergebnisse ist heute noch nicht möglich. Kinetische Studien haben gezeigt, daß die Umbauvorgänge vom Cholesterin zur Cholansäure an verschiedenen Zellstrukturen der Leberzelle erfolgen (Bergström u. Danielsson, 1965). Über den Ort der Gallensäurenkonjugation liegen noch widersprüchliche Angaben vor: diskutiert werden Enzymkomplexe der Lysosomen (Schersten, 1967) oder des endoplasmatischen Reticulum (Schaffner u. Popper, 1969). Auf jeden Fall sind Verschiebungen der Metaboliten zwischen den einzelnen Zellstrukturen erforderlich. Bemerkenswerterweise scheint es dabei zu keiner Anhäufung von Gallensäuren im cytoplasmatischen Raum zu kommen.

Auch das Gallensäurenmuster der beiden jeweiligen Fraktionen zeigt deutliche Unterschiede. Eine Mittelwertberechnung läßt diese im Einzelfall vorhandenen Abweichungen vermissen (Abb. 2). Daraus folgt, daß das Gallensäurenspektrum in den untersuchten Fraktionen sehr variabel ist und keine für ein Kompartement typische Verteilung zu erkennen gibt.

Ähnliche Untersuchungen wie wir sie hier vorgelegt haben, sind uns aus der Literatur nur von Okishio u. Nair (1966) bekannt geworden. Diese Autoren untersuchten den Gehalt an Gallensäuren in Leberzellfraktionen von sechs Ratten und fanden, daß etwa 68,8% der Gallensäuren im Cytoplasma lokalisiert seien. Für die erheblichen Unterschiede zu unseren Ergebnissen sind wahrscheinlich methodische Gründe verantwortlich. Im Gegensatz zu den Angaben dieser Autoren war es uns bisher nicht möglich, aus Zellfraktionen, die in wäßrigen Saccharoselösungen aufgeschwemmt sind, die Gallensäuren mit Äthanol quantitativ zu extrahieren. Selbst Gallensäuretestsubstanzen, die einer reinen isotonen Saccharoselösung zugesetzt wurden, konnten nicht mehr vollständig zurückgewonnen werden.

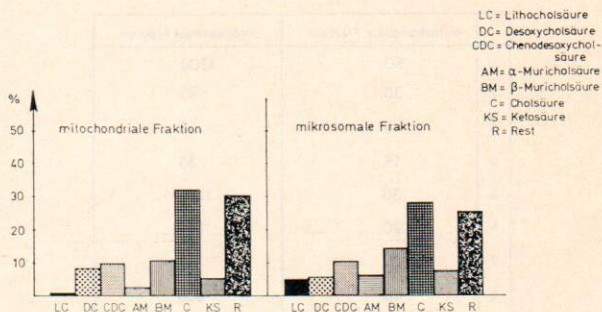


Abb. 2. Prozentuale Anteile der einzelnen Gallensäuren in der mitochondrialen und mikrosomalen Fraktion von Leberzellen gesunder männlicher Wistar-Ratten (n = 9)

Zusammenfassend läßt sich feststellen:

1. Bei gesunden männlichen Wistar-Ratten sind die in der Leberzelle lokalisierten Gallensäuren zu mehr als 95% an subcelluläre Strukturen gebunden.
2. Der größte Anteil findet sich in den Mikrosomen; das Verhältnis der in den Mitochondrien und Mikrosomen gefundenen Gallensäurenmengen beträgt je Gramm Fraktion durchschnittlich 1:16. Im Cytoplasma sind nur Spuren von Gallensäuren nachweisbar.
3. Jeder Versuchsansatz zeigt deutliche Unterschiede im Gallensäurenmuster der Mitochondrien und Mikrosomen. Demgegenüber läßt sich keine für die beiden Fraktionen typische Verteilung nachweisen.

#### Literatur

- Bergström, S., Danielsson, H.: In: The biliary system (Taylor, W., Ed.). Oxford: Blackwell 1965. — Leuschner, U., Wildgrube, H. J.: Z. Gastroent. 10, (1972) (im Druck). — 3. Okishio, T., Nair, P.: Biochemistry 5, 3662 (1966). — 4. Schaffner, F., Popper, H.: Lancet 1969 II, 355. — Schersten, T.: Acta chir. scand. Suppl. 373 (1967). — 6. Schreiber, J., Erb, W., Wildgrube, J., Böhle, E.: Z. Gastroent. 8, 230 (1970).