

## ÜBER ESTERASEAKTIVE FRAKTIONEN IN VERSCHIEDENEN MENSCHLICHEN ORGANEXTRAKTEN

F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ UND S. EBERT

*Medizinische Universitätsklinik Erlangen – Nürnberg\* (Deutschland)*

(Eingegangen den 21. Februar, 1966)

## SUMMARY

*Esterase-active Fractions in Extracts of Various Human Organs*

Extracts of liver, kidney, spleen, gastric and colon mucous membrane, cardiac and skeletal muscle, thyroid gland, pancreas and ovary were examined for their contents of esterase-active fractions. The extracts were separated by agar gel electrophoresis, and the enzymes were determined by two different methods. The extracts derived from various organs were found to possess esterase activities that differed both qualitatively and quantitatively, *i.e.* practically each organ manifested a specific isoenzyme pattern. The findings were most marked in extracts of liver, spleen and kidney, and were less sharply outlined but still clearly distinct in gastric mucous membrane and cardiac muscle extracts. Merely sporadic and quantitatively slight esterase activity was found in all other organ extracts studied.

In Fortführung agarelektrophoretischer Studien zur Charakterisierung menschlicher Organproteine wurde in einem grösseren Untersuchungsgut das Isoenzymmuster esteraseaktiver Komponenten bei 10 verschiedenen Organen aufgeklärt. Als Grundlage von Beziehungen zwischen Organ- und Serumproteinen unter pathologischen Bedingungen erscheint die Kenntnis der normalen Gegebenheiten eine wesentliche Voraussetzung. Die Existenz von Esterasen, u. zw. von verschiedenen Esterasen in menschlichen und tierischen Organen war prinzipiell bekannt. Eine Charakterisierung erfolgte bislang vorwiegend auf Grund ihrer biochemischen Eigenschaften in Gewebshomogenaten oder histochemisch am Schnitt. Eine Differenzierung nach elektrophoretischer Trennung im Agargel und nachfolgender Ferment-Farbreaktion wurde jedoch erstmals von Uriel<sup>20</sup> beschrieben. Aus der einschlägigen Literatur liegen mit dieser Methode lediglich Einzelbefunde über Serumanalysen<sup>20</sup>, vergleichende Untersuchungen über Nierenextrakte, Harn und Serum<sup>3</sup>, sowie ebenfalls vergleichende Untersuchungen von Leberextrakten<sup>15</sup> vor. Es erscheint uns gerechtfertigt, mit nachfolgend mitgeteilten Ergebnissen die Befunde auf diesem Gebiet zu erweitern.

\* Direktor: Prof. Dr. N. Henning

## MATERIAL UND METHODIK

Es wurden folgende Organe von der menschlichen Leiche untersucht: Leber, Niere, Milz, Magen- und Colonschleimhaut, Herz- und Skelettmuskulatur, Thyreoidea, Pankreas sowie Ovar. Ausserdem wurde mit jedem Analysensatz ein Normalseium mitangestellt.

Die *Aufbereitung der Organe\** erfolgte in üblicher Weise<sup>5,6</sup>. Die gewonnenen Extrakte wurden unverzüglich der Elektrophorese und anschliessend dem Enzymnachweis unterworfen. Es wurde die *Agarelektrophorese* (Makroelektrophorese) nach Grabar und Williams<sup>7-9</sup> mit Platten von der Grösse 13 × 4 cm und einer Auftragestelle in der Mitte der Platte von 14 × 3 mm gewählt. Die Schichtdicke des Agars betrug 2,5 mm. Jeder Extrakt wurde mit Agar im Verhältnis 1:1 gemischt; für jede Analyse wurden von diesem Gemisch 0,15 ml in die Vertiefung der Auftragestelle eingelassen. Die Trennzeit betrug bei ca. 90 V Gleichspannung 2-3 Stunden.

*Nachweis der esteraseaktiven Fermente*

Die in den Organextrakten enthaltenen esteraseaktiven Komponenten wurden mit den von Uriel<sup>10</sup> beschriebenen Methoden bestimmt. Dabei wurde in einer ersten Versuchsreihe als Substrat Indoxylazetat verwendet, bei welchem das unter der Fermentwirkung freigewordene Indoxyl durch den atmosphärischen Sauerstoff zu Indigo oxydiert wird und eine Blaufärbung hinterlässt. In einer zweiten Versuchsreihe wurde  $\beta$ -Naphthylazetat angewandt, wobei es durch eine Reaktion des durch die Fermentwirkung freigewordenen  $\beta$ -Naphthols mit einem Diazoniumsalz zu einer Rotviolett-färbung der esteraseaktiven Komponenten kommt.

Methodisch wurde im einzelnen wie folgt vorgegangen:

*(1) Färbung mit Indoxylazetat*

Gebraucht werden an *Reagenzien*

Indoxylazetat

Azeton

Na-Veronal-Puffer pH 8,2,  $\mu = 0,05$

Kupferazetat  $10^{-3}$  molar.

*Aufbereitung der Inkubationslösung.* 5 mg Indoxylazetat werden in 0,5 ml Azeton gelöst und sofort danach mit 22 ml Na-Veronal-Puffer und 2,5 ml der  $10^{-3}$  molaren Kupferazetatlösung versetzt. Dieses Gemisch muss innerhalb der nächsten 8 St. verwendet werden.

*Arbeitsgang.* Unmittelbar nach abgeschlossener Elektrophorese werden die Agarplatten 4 St. in die bereitete Inkubationslösung gelegt. Anschliessend werden sie 1 St. lang unter fließendem Wasser gewaschen und unter Filtrierpapier bei 37° getrocknet.

*(2) Färbung mit  $\beta$ -Naphthylazetat.*

Gebraucht werden an *Reagenzien*

\* Die Organe verdanken wir dem Pathologischen Institut der Universität Erlangen-Nürnberg (Direktor: Prof. Dr. E. Müller); ebenso die histologische Beurteilung der Schnitte der entsprechenden Präparate. Es handelte sich bei den hier untersuchten Organen jeweils um histologisch normale, d.h. unveränderte Gewebe.

- $\beta$ -Naphthylazetat
- Azeton
- Phosphatpuffer pH 7.4,  $\mu = 0.15$
- Diazo-Blau B
- Essigsäure 2% ig.

*Aufbereitung der Inkubationslösung.* 5 mg  $\beta$ -Naphthylazetat werden in 0.25 ml Azeton gelöst. Danach werden 25 ml des Phosphatpuffers hinzugegeben. Es bildet sich eine Opaleszenz, die sich jedoch ohne weiteres wieder löst; hierin werden 10 mg Diazo-Blau B gelöst. Das Ganze wird filtriert und unverzüglich gebraucht.

*Arbeitsgang.* Man taucht unmittelbar nach abgeschlossener Elektrophorese die Agarplatten 60 bis 90 min. in das aufbereitete Inkubationsmilieu. Anschliessend werden sie 1 St. lang in 2%iger Essigsäure gewaschen und unter Filtrierpapier bei 37° getrocknet.

(3) *Photometrische Auswertung*  
der gefärbten Agarplatten mit dem Zeiss-Integraphen.

ERGEBNISSE

Allgemein fällt bei Verwendung von Indoxylazetat auf, dass im Vergleich zu einem Normalserum—in dem lediglich *eine* färbbare Fraktion unmittelbar anodisch vor der Auftragestelle nachweisbar wird (Fig. 1a)—die Zahl der esteraseaktiven Komponenten in Organhomogenaten wesentlich grösser ist. Das gilt ebenso für die

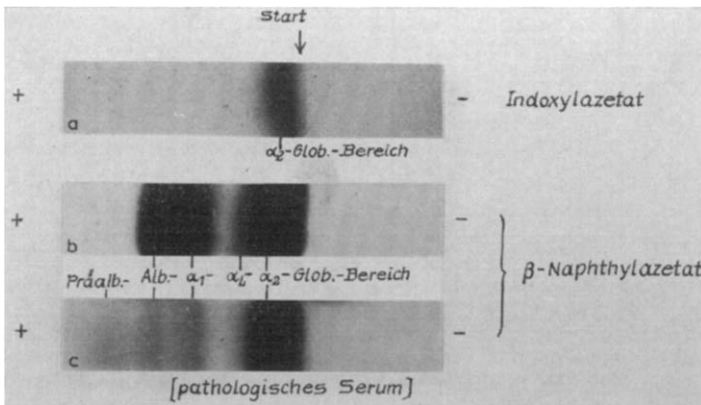


Fig. 1a-c. Befunde von verschiedenen menschlichen Seren nach agarelektrophoretischer Trennung und nachfolgender Reaktion auf esteraseaktive Komponenten. Oben (1a) mit Indoxylazetat, Mitte (1b) mit  $\beta$ -Naphthylazetat, unten (1c) ebenfalls mit  $\beta$ -Naphthylazetat, wobei es sich bei letzterem Serum um eine Paraproteinämie ( $\beta$ -Anomalie) handelt.

Ergebnisse mit  $\beta$ -Naphthylazetat, mit welchem zwar im Serum eines Gesunden wie auch in pathologischen Seren wenigstens 4 anfärbbare Fraktionen ausschliesslich im anodisch gewanderten Proteinbereich nachweisbar werden (Fig. 1b, c), mit welchem aber in den hier untersuchten Organextrakten weit mehr Komponenten dargestellt

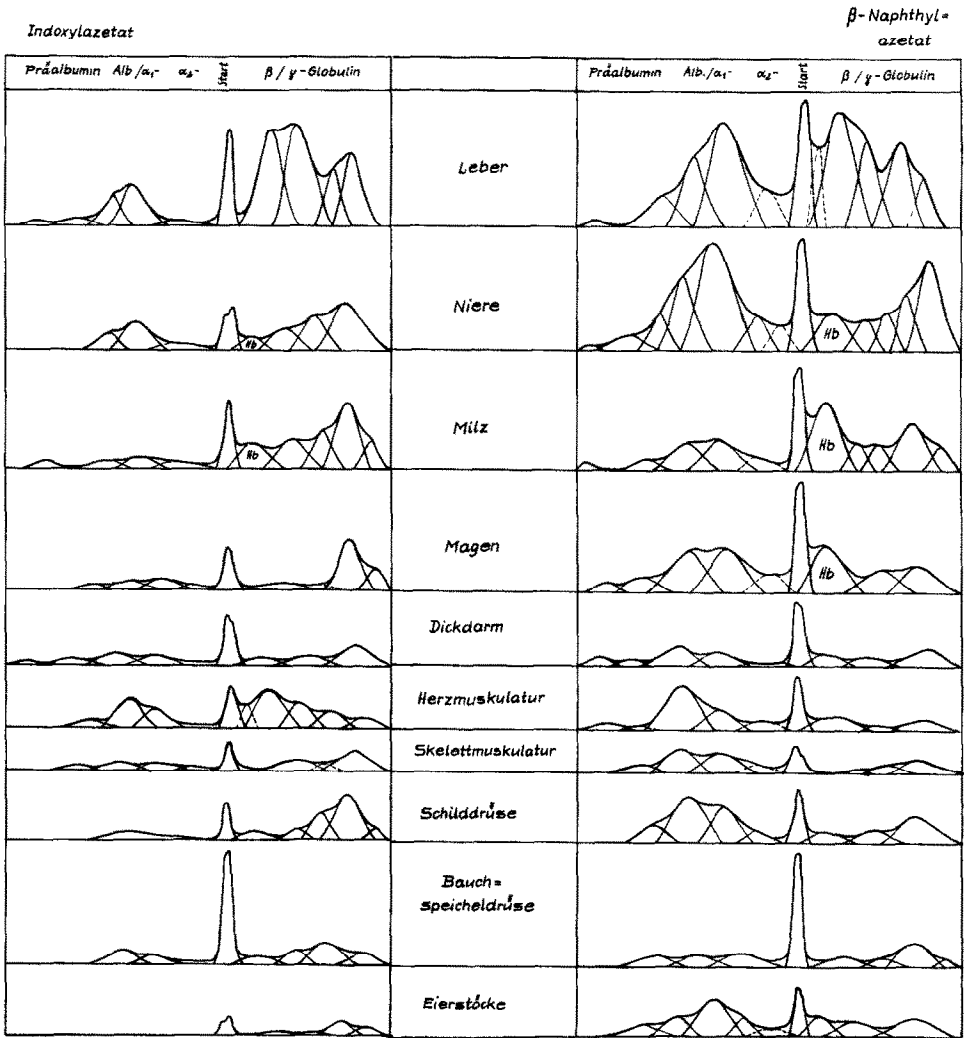


Fig. 2. Agarelektrophoretisch getrennte Organhomogenate des Menschen mit nachfolgender Fermentnachweisreaktion esteraseaktiver Komponenten. Es werden die Befunde nach Verwendung von Indoxylazetat und diejenigen mit  $\beta$ -Naphthylazetat gegenübergestellt. Die Fraktionen, welche mit "Hb" (Hämoglobin) bezeichnet sind, haben sich nicht gefärbt, sie wurden lediglich auf Grund ihrer Eigenfärbung photometrisch miterfasst.

werden konnten. Bei Vergleich der Ergebnisse mit Indoxylazetat und  $\beta$ -Naphthylazetat treten in den Organhomogenaten nach Behandlung mit Indoxylazetat die Fraktionen des  $\beta$ - und  $\gamma$ -Globulinbereiches relativ besser in Erscheinung während nach Behandlung mit  $\beta$ -Naphthylazetat die Komponenten im anodischen Bereich eindrucksvoller darstellbar werden.

Im einzelnen konnten folgende Befunde erhoben werden:

Am ergiebigsten waren die Analysen des *Leberextraktes*. Hier konnten mit Indoxylazetat im wesentlichen drei verschiedene Komplexe unterschieden werden. Der eine im Albumin/ $\alpha_1$ -Globulin-Bereich, der zweite in der Zone der  $\beta$ -Globuline,

der dritte im Bereich der  $\beta_2/\gamma$ -Globuline. Die beiden zuerst genannten Komplexe waren ihrerseits nahezu regelmässig in zwei Fraktionen differenzierbar, während die im  $\gamma$ -Globulin-Bereich nachweisbare Komponente vielfach als mehr oder weniger schmale Farbzone in Erscheinung trat. In vier von zehn Einzelanalysen war jedoch auch dieser esteraseaktive Anteil relativ intensiv gefärbt und verbreitert, so dass ebenfalls zwei Fraktionen abgrenzbar wurden (Fig. 2). Mit  $\beta$ -Naphthylazetat konnte qualitativ nahezu der gleiche Befund erhoben werden. Wie oben generell erwähnt, waren jedoch die Färbungen intensiver im Bereich der anodisch gewanderten Proteinsysteme. Die Auftragestelle war in allen Fällen deutlich mitangefärbt.

Bei längerer elektrophoretischer Trennung, d. h. nach einer Elektrophoresedauer von 5 St., bei welcher naturgemäss die verschiedenen beschriebenen Komplexe weiter auseinandergezogen werden, gelingt eine noch bessere Differenzierung, die insbesondere die bereits erwähnte Unterteilung der drei Hauptgruppen bestätigt. Darüber hinaus konnten in diesen Sonderfällen sowohl diesseits des Albumin/ $\alpha_1$ -Globulin-Komplexes als auch jenseits der  $\gamma$ -Komponente je bis zu zwei schwach gefärbte, schmalbasige Fraktionen nachgewiesen werden.

Bei Untersuchung der *Niere* konnten mit Indoxylazetat 4 bis 5 verschiedene Komponenten nachgewiesen werden, wovon zwei—relativ unscharf voneinander getrennt—im  $\alpha_1$ -Globulin-Bereich, eine weitere im  $\beta/\gamma$ -Globulin-Bereich, sowie ein unterteilbarer Komplex in der Zone der  $\gamma$ -Globuline sichtbar wurden. Mit  $\beta$ -Naphthylazetat konnte eine insgesamt bessere Differenzierung esteraseaktiver Komponenten erzielt werden: hiermit zeigten sich zunächst zwei Komplexe mit besonders deutlicher Färbung ab, einer im  $\alpha$ -Globulin-Bereich, der andere in der Zone der  $\gamma$ -Globuline. Dabei konnte der  $\alpha$ -Komplex in wenigstens drei Komponenten unterteilt werden. In der Gruppe der  $\gamma$ -Globuline waren zwei Fraktionen abzugrenzen, von welchen die am weitesten kathodisch gewanderte sich als scharfe und intensiv gefärbte Bande abzeichnete. Darüber hinaus fanden sich vor den  $\alpha$ -Fraktionen eine schwache, nicht differenzierbare, schlierenhafte Rosafärbung sowie eine schwach getönte Fraktion zwischen Auftragestelle und dem Hb-Komplex, schliesslich zwei schwach gefärbte, aber gut gegeneinander abgrenzbare Fraktionen im  $\beta_2$ -Bereich. Insgesamt konnten somit im Nierenextrakt 8 verschiedene Fraktionen mit Esteraseaktivität nachgewiesen werden (Fig. 2).

Die *Milz* bot, mit Indoxylazetat behandelt, insgesamt 6 Fraktionen, wovon eine scharf begrenzte, weit anodisch gewanderte besonders imponierte, ebenso eine relativ schmalbasige Fraktion im  $\gamma$ -Bereich. Die übrigen Fraktionen waren vorwiegend im  $\beta_2$ -Globulin-Bereich (2 Komponenten), ausserdem als schlierenhafter Komplex anodisch vor der Auftragestelle zu fassen. Mit  $\beta$ -Naphthylazetat war qualitativ das gleiche Enzymmuster festzustellen. In der quantitativen Verteilung traten jedoch die Fraktionen des  $\alpha$ -Bereiches deutlicher in Erscheinung als nach Behandlung des elektrophoretisch getrennten Organextraktes mit Indoxylazetat (Fig. 2).

Bei längerer Trennung des Milzhomogenats liess sich ausser den beschriebenen Fraktionen eine weitere esteraseaktive Komponente zwischen Auftragestelle und der Hb-haltigen  $\beta_1$ -Fraktion abgrenzen.

Bei Untersuchung des *Magenextraktes* fielen mit Indoxylazetat drei Fraktionen im  $\beta/\gamma$ -Globulin-Bereich auf. Eine schwache Färbung zeigte sich auch anodisch, diese war jedoch nicht sicher differenzierbar. Mit  $\beta$ -Naphthylazetat konnte der anodisch gewanderte Proteinanteil der Magenschleimhaut in mindestens drei Kompo-

nennten differenziert werden. Ausserdem stellte sich im Bereich der  $\beta_1$ -Globuline eine Fraktion dar, die jedoch von der Gelbfärbung des Hämoglobins überlagert wurde (Fig. 2).

Der *Colon-Schleimhautextrakt* wies mit Indoxylazetat zwei bis drei Komponenten im Bereich der  $\beta/\gamma$ -Globuline auf, während eine Spur weit anodisch sowie eine schlierenhafte Färbung im  $\alpha_2$ -Globulin- bis Albumin-Bereich nachweisbar wurden. Die anodisch gewanderten esteraseaktiven Fraktionen waren mit  $\beta$ -Naphthylazetat deutlicher darstellbar als die Komponenten im  $\beta/\gamma$ -Globulin-Bereich. Insgesamt konnten bis zu 8, allerdings vielfach nur zart gefärbte Fraktionen differenziert werden (Fig. 2).

Bei Färbung des *Herzmuskelextrakts* mit Indoxylazetat imponierten zwei esteraseaktive Gruppen: die eine im Bereich der  $\alpha_2$ -Globuline, die andere im  $\beta_2/\gamma$ -Globulin-Bereich. Relativ stärker trat der Komplex im  $\beta_2/\gamma$ -Bereich in Erscheinung. Insgesamt konnten im Herzmuskelextrakt bis zu 7 verschiedene Komponenten abgegrenzt werden. Bei Färbung mit  $\beta$ -Naphthylazetat imponierte auch hier mehr der anodisch gewanderte Proteinanteil, dabei trat besonders eine Fraktion mit der elektrophoretischen Wanderungsgeschwindigkeit von Albuminen bzw.  $\alpha_1$ -Globulinen hervor (Fig. 2).

Die *Skelettmuskulatur* bot einen weniger ergiebigen Befund als die bisher beschriebenen Organextrakte. Mit Indoxylazetat waren lediglich eine scharf begrenzte Fraktion im  $\beta_2/\gamma$ -Globulin-Bereich, eine Spur im  $\beta_1/\beta_2$ -Bereich und eine ebensolche in der Zone anodisch vor der Auftragestelle ohne sichere Differenzierbarkeit nachzuweisen. Dies galt im wesentlichen auch für die Ergebnisse mit  $\beta$ -Naphthylazetat, wobei allerdings auch hier wieder die Fraktionen des anodisch gewanderten Proteinanteils deutlicher zur Darstellung gelangten als mit Indoxylazetat (Fig. 2).

Bei Untersuchung von *Schilddrüsenextrakt* waren mit Indoxylazetat im wesentlichen zwei nahe aneinanderliegende Komponenten im  $\gamma$ -Globulin-Bereich aufzuzeigen sowie eine schwache schlierenhafte Färbung im  $\alpha_2$ -Bereich festzustellen. Mit  $\beta$ -Naphthylazetat liessen sich dagegen im  $\alpha_1$ -Bereich zwei bis drei Komponenten differenzieren, während die Gruppe der  $\gamma$ -Esterasen färberisch weniger gut darstellbar waren. Insgesamt waren bis zu 6 verschieden gewanderte esteraseaktive Komponenten zu unterscheiden (Fig. 2).

Im *Pankreasextrakt* imponierte wiederum im  $\gamma$ -Globulin-Bereich ein esteraseaktiver Komplex in besonderer Weise, der mit beiden Reagenzien bis zu drei Komponenten abgrenzen liess. Darüber hinaus zeigten sich im anodisch gewanderten Bereich ebenfalls bis zu drei, zum Teil allerdings nur schwach färbbare Fraktionen. Im Optimalfalle konnten somit bis zu 6 esteraseaktive Zonen nachgewiesen werden (Fig. 2).

Schliesslich wurde der Extrakt vom *Ovar* untersucht, bei welchem mit Indoxylazetat lediglich zwei bis vier nur äusserst schwach gefärbte Fraktionen im  $\beta/\gamma$ -Globulin-Bereich, die deutlichste unter ihnen etwa an der Stelle der  $\gamma$ -Globuline, zur Darstellung gelangten. Bei Färbung mit  $\beta$ -Naphthylazetat war der Befund etwas ergiebiger: hiermit zeigten sich im anodisch gewanderten Bereich Farbzonen, die bis zu vier Fraktionen erkennen liessen. Im Bereich jenseits der Auftragestelle, d. h. der in Richtung der Kathode gelegenen Proteine, konnten drei wenig scharf abgegrenzte Komponenten aufgezeigt werden, eine unter ihnen dürfte dem Hämoglobin entsprechen (Fig. 2).

## DISKUSSION

Die zum Nachweis esteraseaktiver Komponenten in Organextrakten verwendeten Reagenzien nach den Abgaben von Uriel<sup>20</sup> beruhen auf verschiedenen biochemischen Wirkungsmechanismen. Bei Verwendung von Indoxylazetat wird durch die Fermentwirkung, d.h. durch Hydrolyse der Cholinesterasen Indoxyl freigesetzt und durch den atmosphärischen Sauerstoff zu Indigoblau oxydiert; dieser Farbstoff ist schwer löslich, stabil und lichtecht. Indoxylazetat wird nur von der Azetylcholinesterase und nicht gleichzeitig von Pseudocholinesterasen gespalten<sup>1,2,11,12</sup>, so dass der Schluss berechtigt ist, dass die positiven Farbreaktionen azetylcholinesteraseaktiven Komponenten in den verschiedenen getrennten Organextrakten entsprechen. Diese Tatsache ist insoferne von Bedeutung, als die Azetylcholinesterase in Geweben bekanntlich in den meisten Fällen mit anderen Esterasen, vor allem mit Lipasen und Lezithinasen vergesellschaftet, angetroffen wird<sup>4,13,16</sup>. Bei Verwendung von  $\beta$ -Naphthylazetat wird ebenfalls unter Einwirkung von Esterasen eine Hydrolyse induziert, wodurch  $\beta$ -Naphthol entsteht, welches mit einem hinzugefügten Diazoniumsalz einen unlöslichen Azofarbstoff ergibt. Nach den Untersuchungen von Ravin *et al.*<sup>17</sup> wird das  $\beta$ -Naphthylazetat nicht nur von der Azetylcholinesterase sondern auch von Aliesterasen hydrolysiert, jedoch soll sich diese Substanz unter bestimmten Bedingungen dennoch zum Nachweis der spezifischen Cholinesterase eignen. Das gilt besonders für den geweblichen Nachweis des Ferments und wohl auch für die in Organextrakten enthaltenen Cholinesterase. Die Aliesterasen sind weniger stark zellgebunden und wandern infolgedessen fast völlig in das Inkubationsmilieu.

Unter der Voraussetzung der von Uriel erprobten methodischen Angaben, insbesondere der zeitlichen und quantitativen Einwirkung der Reagenzien, verhalten sich die graphisch darstellbaren Farbintensitäten in einem bestimmten Bereich quantitativ proportional zur Aktivität der Esterasen. Somit erscheint die Methode geeignet, um über die Relationen enzymatischer Komponenten in einem elektrophoretisch getrennten Organextrakt Aufschluss zu gewinnen.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse kann festgestellt werden, dass das Enzymmuster der Esterasen in verschiedenen menschlichen Organextrakten offenbar organgebundene Besonderheiten aufweist, u. zw. sehr wahrscheinlich unabhängig von dessen Funktionszustand. Bei Verwendung von Indoxylazetat fiel auf, dass bei Vergleich mit einem Normalserum, in welchem lediglich eine Fraktion fassbar wurde, die Zahl der esteraseaktiven Komponenten in den Organextrakten wesentlich grösser ist. Das gilt ebenso für die Befunde, die an den verschiedenen Organextrakten mit  $\beta$ -Naphthylazetat erhoben werden konnten: auch hier war die Zahl der fermentaktiven Komponenten in den Organextrakten weitaus höher als in einem normalen Vergleichsserum.

Gemessen an den darstellbaren Farbreaktionen, ist abzuleiten, dass in nahezu allen hier untersuchten Organen zwei elektrophoretisch umschriebene esteraseaktive Gruppen existieren, eine im Bereich der anodisch gewanderten  $\alpha$ -Globuline, die andere im Bereich der  $\beta/\gamma$ -Globuline. Oftmals fand sich eine  $\gamma$ -Esterase als relativ scharf begrenzte Fraktion extrem kathodisch gewandert. Die  $\alpha$ -Esterasen liessen sich auf Grund der vorliegenden Ergebnisse mit  $\beta$ -Naphthylazetat vielfach intensiver darstellen und auch besser differenzieren, während die  $\gamma$ -Esterasen mit Indoxylazetat relativ besser zu fassen waren. Inwieweit hierin ein Qualitätsunterschied der Organ-

Esterasen zu erblicken ist, kann allein aus diesen Befunden nicht entschieden werden. Zu berücksichtigen ist bei der Beurteilung der vorliegenden Ergebnisse u. a. die Möglichkeit, dass die Isoenzymmuster der elektrophoretisch getrennten Organhomogenate durch Cholinesterasen modifiziert werden, die den Bluterythrozyten entstammen. Dies würde vor allem bei den blutreichen Organen, wie Leber, Milz und Niere, zu bedenken sein. Es kann dem allerdings entgegengehalten werden, dass bei der Aufbereitung der Organe durch langes Wässern eine weitgehende Entblutung der Organe erfolgt ist, und dass weiterhin durch die Mischung mit Aqua dest. bei der ersten Zerkleinerung im Multimix die Erythrozyten hämolysiert wurden, und dass schliesslich durch das mehrfache hochtourige Zentrifugieren wohl der grösste Teil der noch verbliebenen Erythrozyten bzw. deren Membranen sedimentiert wurde und somit der Analyse nicht unterworfen wurde (es wurde der Überstand, gegen Kollidon eingengt, verwendet). Es ist allerdings dann immer noch nicht ausgeschlossen, dass nicht durch diese Prozeduren bei der mechanischen Zertrümmerung Erythrozyten-Esterasen freigesetzt und auch in die überstehende Organflüssigkeit eingedrungen sind und somit in den Isoenzymmustern der Organhomogenate miterscheinen.

Besonders ergiebige Resultate konnten bei Untersuchung des Leberextraktes erzielt werden. Ausserdem zeigten die Organextrakte von Milz und Niere, aber auch die von Magenschleimhaut und Herzmuskulatur ein qualitativ sowie quantitativ reichhaltiges Isoenzymmuster. Die hier aufgezeigten Befunde stimmen weitgehend mit denjenigen der einschlägigen Literatur überein<sup>3,15</sup>. Mit Bezug auf die unterschiedlichen quantitativen Nachweise esteraseaktiver Fraktionen bzw. die Gesamt-Fermentaktivität in den verschiedenen hier untersuchten Organextrakten lassen sich im Schrifttum Parallelen finden: Klein<sup>13</sup> fand in Organauszügen vom Rind zwei verschiedene Enzyme, die eine Aufspaltung der Cholinesterase bewirken. Eines dieser Enzyme war nur in Pankreasauszügen stark wirksam, das andere wurde kräftig in Leber, Milz, Niere, Darmschleimhaut und nur schwach im Pankreas nachgewiesen. Ausserdem konnte Lasnitzki<sup>14</sup> nachweisen, dass in Rattenorganen in der Leber eine hochgradige Esteraseaktivität, in der Milz dagegen nur ein Achtel und in der Muskulatur sogar nur ein Zwanzigstel dieser Leberaktivität vorliegt. Nicht ganz so grosse Differenzen hat Greenstein<sup>10</sup> aufgezeigt, der zwar auch in der Leber und ausserdem in der Darmmucosa die weitaus stärkste Aktivität erhielt, der aber in Nieren- und Milzextrakten etwa ein Viertel der Leberwerte fand, in der Magenmucosa nur ein Zehntel und in der Muskulatur noch geringere Aktivitäten.

Der auffallend dürftige Nachweis von Esteraseaktivität in den hier untersuchten Pankreasextrakten kann einerseits darin begründet sein, dass das Wirkungsoptimum der Pankreasesterasen bei Anwendung der eingangs beschriebenen Methode nicht gegeben war, weiterhin darin, dass die Pankreas-Cholinesterase gegenüber Temperaturschwankungen, biochemischen Einflüssen—etwa Hemmung der Fermentaktivität durch bestimmte Phosphorsäureester oder durch Fehlen von Gallensäuren<sup>1,16,19</sup>—und pH-Unterschieden eine besondere Labilität zeigt, wie das Swell *et al.*<sup>10</sup> mitgeteilt haben, schliesslich darin, dass die im Pankreas aktiv gebildeten Esterasen nicht speicherfähig sind sondern unverzüglich sezerniert werden und damit bei Untersuchung von Organhomogenaten dem Nachweis entgehen.

Zu bemerken bleibt, dass die eben diskutierten Befunde aus der Literatur mit anderen als den von uns gewählten Methoden erhoben wurden, so z.B. mit histochemischen an Gewebeschnitten oder mit biochemischen an Vollextrakten. Eine



Differenzierung, ausser am feingeweblichen Substrat, wurde dort nicht mitgeteilt.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse sollen als Grundlage für Studien an pathologisch veränderten Organen bzw. deren Homogenaten dienen. Es erhebt sich dabei die Frage, inwieweit die Kenntnis über quantitative und qualitative Verteilung von Esterasen in verschiedenen Organextrakten im Gefolge krankheitsbedingter Permeabilitätsstörungen zu Rückschlüssen aus entsprechenden Anreicherungen oder aus dem Schwund esteraseaktiver Fraktionen im Serum eines Patienten auf das erkrankte Organ berechtigt.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden die Extrakte von Leber, Niere, Milz, Magenschleimhaut, Colonschleimhaut, Herz- und Skelettmuskulatur, Thyreoidea, Pankreas sowie Ovar auf ihren Gehalt an esteraseaktiven Fraktionen geprüft. Dazu wurden die Agarelektrophorese zur Trennung der Extrakte und zwei verschiedene Methoden zum Nachweis der Fermente angewandt. Als Ergebnis konnte festgestellt werden dass die verschiedenen Organextrakte qualitativ und quantitativ verschiedene Esteraseaktivität aufweisen, d. h. dass praktisch jedes Organ sein eigenes Isoenzymmuster besitzt. Die ergiebigsten Befunde wurden bei Extrakten von Leber, Milz sowie Niere, weniger ausgeprägt, aber immerhin noch deutlich differenzierbar, bei Magenschleimhaut und Herzmuskulatur erhoben. Alle übrigen zeigten nur einzelne und quantitativ gering vertretene esteraseaktive Fraktionen.

#### LITERATUR

- 1 R. AMMON UND W. DIRSCHERL, *Fermente, Hormone, Vitamine, Band I*, Thieme, Stuttgart, 1959, S. 125.
- 2 R. J. BARNETT UND A. M. SELIGMAN, *Science*, 114 (1951) 579.
- 3 CH. DE VAUX ST. CYR, G. HERMANN UND N. TALAL, *Verhandl. Deut. Ges. Inn. Med.*, 68 (1962) 535.
- 4 S. EDLBACHER UND N. NEBER, *Z. Physiol. Chem.*, 233 (1935) 265.
- 5 H. GÖTZ UND F. SCHEIFFARTH, *Klin. Wochschr.*, 41 (1963) 587.
- 6 H. GÖTZ, F. SCHEIFFARTH UND G. GAST, *Z. Gastroenterol.*, 2 (1964) 148.
- 7 P. GRABAR, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 36 (1954) 65.
- 8 P. GRABAR UND P. BURTIN, a) *Analyse immunoélectrophorétique*, Masson u. Cie., Paris, 1960; b) *Immunoélectrophoretische Analyse*, Elsevier, Amsterdam, 1964.
- 9 P. GRABAR UND C. A. WILLIAMS, *Biochim. Biophys. Acta*, 10 (1953) 193.
- 10 P. GREENSTEIN, *J. Natl. Cancer Inst.*, 5 (1944) 31.
- 11 S. J. HOLT, *Nature*, 169 (1952) 271.
- 12 S. J. HOLT UND R. F. J. WITHERS, *Nature*, 170 (1952) 1012.
- 13 E. KLEIN, *Z. Physiol. Chem.*, 254 (1938) 1.
- 14 A. LASNITZKI, *Z. Krebsforsch.*, 22 (1925) 531.
- 15 W. LICHT, *Z. Physiol. Chem.*, 334 (1963) 275.
- 16 D. MYERS, A. SCHOTTE, H. BOER UND H. BORSJE-BAKKER, *Biochem. J.*, 61 (1955) 521.
- 17 D. RAVIN, S. J. ZACKS UND A. M. SELIGMAN, *J. Pharmacol. Exptl. Therap.*, 107 (1953) 37.
- 18 F. SCHEIFFARTH, H. GÖTZ UND D. HOFFMANN, *Z. Klin. Chem.*, 2 (1964) 142.
- 19 L. SWELL, R. E. DALLY UND C. R. TREADWELL, *Arch. Biochem. Biophys.*, 59 (1955) 393.
- 20 J. URIFEL, in P. GRABAR UND P. BURTIN (*Zit.* 8).