

Aus dem Institut für gerichtliche und soziale Medizin der Universität Kiel  
(Direktor: Prof. Dr. med. W. HALLERMANN)

## Die Bestimmung der Serumcholinesterase an der Leiche \*

Von

**O. PRIBILLA**

Mit 3 Textabbildungen

*(Eingegangen am 5. Dezember 1956)*

Unter den Enzymsystemen, die in den letzten Jahren in steigendem Maße für die gerichtliche Medizin von Interesse geworden sind, dürften die Cholinesterasen ständig an Bedeutung gewinnen. Es kann im Rahmen der vorliegenden Mitteilung nicht auf die für das biologische Denken grundlegende Theorie dieser Enzymgruppe eingegangen werden, da die Literatur hierüber unüberschbar geworden ist. Es sei hier nur auf die fundamentalen Arbeiten K. B. AUGUSTINSSONS, R. H. S. THOMPSONS, VON B. MENDEL und H. RUDNEY und S. OKINAKA und M. YOSCHIKAWA verwiesen, aus denen sich eine Übersicht über die heutigen Anschauungen gewinnen läßt.

Ziel dieser Arbeit soll vielmehr sein, über das Verhalten der Serumcholinesterase im Leichenblut zu berichten.

Esterasen, die Cholinester zu spalten vermögen, werden als eigene Gruppe von Enzymen aufgefaßt. Sie unterscheiden sich von den gewöhnlichen, sog. Aliesterasen und den Lipasen durch ihre Spezifität, ihre Kinetik und ihre Hemmbarkeit durch bestimmte Substanzen (AUGUSTINSSON). Die Substrate der Cholinesterasen sind dabei durch die Anwesenheit eines quaternären Stickstoffatoms, das von der Esterbindung durch 2 Kohlenstoffatome getrennt ist, charakterisiert. Infolge dieser Konfiguration werden die Cholinester schneller von den Cholinesterasen gespalten, als andere Ester. Man unterscheidet die verschiedenen Cholinesterasen danach, welche Substrate sie bevorzugt zu spalten vermögen. So diejenigen, die Acetylcholin schneller spalten als Propionylcholin und Butyrylcholin. Diese sind die Acetyl- oder Acetocholinesterasen oder, nach angelsächsischer Nomenklatur „wahre“ Cholinesterasen (true cholinesterases). Und zum andern die am schnellsten Butyrylspaltenden Cholinesterasen als Butyrocholinesterasen oder „Pseudocholinesterasen“ bzw. „group spezific“ Cholinesterasen. Dabei finden sich außerdem vom Organ und den einzelnen Tierspecies abhängige, wohl auf der Spezifität der Eiweißkomponente beruhende Unterschiede.

\* Auszugsweise vorgetragen auf dem Kongreß für gerichtliche und soziale Medizin, Marburg, vom 1.—3. 10. 56.

Im Blutplasma der meisten Tiere und auch des Menschen findet sich die Serumcholinesterase, die auf Grund der oben geschilderten Kriterien als eine Butyrylcholinesterase („Pseudocholinesterase“) aufgefaßt wird. Interessanterweise fehlen die Butyrylcholinesterasen im Blute der Wiederkäuer, was eventuell die größere Toleranz dieser Tiere gegen Phosphorsäureesterpräparate erklären könnte (AUGUSTINSSON).

Die menschliche Serumcholinesterase ist wahrscheinlich ein Mucoprotein mit einem Molekulargewicht von annähernd 165000. Sie ist verbunden mit einer Plasmaproteinfraktion IV, 6 nach COHN, 95%  $\alpha_2$ -Globulin und 5% Albumin (E. J. COHN und Mitarbeiter, zit. nach L. J. VORHAUS und R. M. KARK). Bei der Papierelektrophorese der Pferde-Serumcholinesterase wanderte diese mit der  $\beta$ -Globulinfraktion (G. P. TOGNI und O. MEIER), was eventuell ebenfalls auf die Unterschiedlichkeit der Proteinkomponente des Enzyms bei Mensch und Pferd hindeuten könnte. Die Leber wird heute als einzige Bildungsstätte der Serumcholinesterase angesehen, in der sie parallel mit dem Albuminmolekül entstehen soll. Die Lebensdauer der Molekel konnte zu 28 Tagen bestimmt werden, eine Zeit, die mit der bei Versuchen mit radioaktivem Albumin für dieses Molekül ermittelten Bildungszeit übereinstimmt. VORHAUS und KARK sowie mit diesen übereinstimmend M. G. LEVINE kamen zu diesem Ergebnis durch Versuche mit Di-isopropylfluorophosphat (DFP), das die Serumcholinesterase irreversibel zu hemmen vermag, so daß die Zeit bis zur vollständigen Wiederkehr des Cholinesteraseausgangswertes im Serum allein durch die Neubildung derselben in der Leber bedingt ist.

Über die physiologische Bedeutung der Serumcholinesterase gehen die Ansichten noch weit auseinander. Nach S. OKINAKA und M. YOSHIKAWA soll der Serumcholinesterase eine eigene physiologische Bedeutung nicht zukommen. Dies schließen die genannten Autoren daraus, daß sie bei Versuchen mit DFP, die zu einem raschen Absinken und Beibehalten der niedrigen Serumcholinesteraseaktivitäten führten, keine eng damit verbundenen klinischen Symptome beobachten konnten. Diese traten nur dann auf, wenn die spezifischen Gewebscholinesterasen ebenfalls stark vermindert waren. Dies deckt sich mit den Tierversuchen von C. HEYMANS und H. CASIER, die ausgebluteten Hunden mit DFP vollständig inhibiertes Blut infundierten. Trotz der ganz niedrigen Cholinesteraseaktivitäten im Blute dieser Tiere traten keine sog. cholinergischen Reaktionen auf. Vielmehr erholte sich der Cholinesterasespiegel sehr schnell durch Einströmen von Gewebscholinesterase. Auch G. FREEMAN und M. A. EPSTEIN sagen wörtlich, daß die Anwesenheit der Cholinesterase im Blut nicht lebensnotwendig sei. Diese Auffassung dürfte in einer solchen Form sicher nicht richtig sein, wie weiter unten noch auszuführen sein wird. TH. KOPPANYI dagegen betrachtet die Serumcholinesterase als eine „Transportcholinesterase“, mit welcher eine in die Blutbahn injizierte Substanz in Kontakt komme, bevor sie die reagierenden Strukturen erreiche. Eine Deutung, die den Ergebnissen noch unveröffentlichter Versuche von A. CRAIG und G. FREEMAN (zit. nach FREEMAN und EPSTEIN) entspricht, wonach die Blutcholinesterase eine gewisse Barriere gegen resorbierte Cholinesteraseblocker darstelle. Erst wenn ihre Kapazität infolge vollständiger Hemmung ihrer Aktivität erschöpft sei, käme es auch zur Hemmung der Gewebscholinesterase mit Auftreten

der entsprechenden Symptome. AUGUSTINSSON ist zudem der Meinung, daß die Serumcholinesterase vielleicht die Aufgabe habe, das der Hydrolyse an den spezifischen Wirkungsstätten entgangene Acetylcholin zu zerstören.

Zur Bestimmung der Cholinesterasen stehen zahlreiche Methoden zur Verfügung. Sie beruhen im wesentlichen darauf, daß zu den zu bestimmenden Proben als Substrat ein spaltbarer Ester gegeben wird, der meistens ein Cholinester sein wird. Eine Liste, welche Verbindungen als Substrate für die einzelnen Cholinesterasen in Frage kommen, findet sich in der Monographie von AUGUSTINSSON.

Drei Prinzipien finden zur Erfassung der bei der Hydrolyse entstehenden Spaltprodukte — in den meisten Fällen erfaßt man die Essigsäure — Anwendung. 1. die manometrische Messung des aus einem Bicarbonatpuffer durch die freierwende Essigsäure entwickelten  $\text{CO}_2$ . Diese im Warburg-Apparat durchgeführte Bestimmung geht auf R. AMMON zurück. R. AMMON und F. J. ZAPF haben kürzlich eine vereinfachte manometrische Bestimmungsmethode mittels eines eigens für die Cholinesterasebestimmung entwickelten Gefäßes angegeben, die auch in kleineren Laboratorien ausgeführt werden kann. Als Cholinesteraseeinheit wird dabei die Fermentmenge definiert, die in 60 min bei  $37^\circ$ , bei  $p_{\text{H}} 7,4$   $\frac{1}{1000}$  m-Mol Acetylcholin zu spalten vermag. Diese Acetylcholinmenge entspricht  $10^{-6}$  Mol  $\text{CO}_2$ , d. h.  $22,4 \text{ mm}^3$ . 2. die elektrometrische Messung, bei der der  $p_{\text{H}}$ -Abfall je Zeiteinheit gemessen wird, der durch Ablauf der Verseifung in einer gepufferten Lösung bewirkt wird (H. O. MICHEL, L. E. TAMELIN, E. HEILBRON). 3. die mit dem geringsten apparativen Aufwand arbeitenden optischen (colorimetrischen) Methoden bzw. auch die titrimetrischen Methoden. Hierbei wird entweder ebenfalls der  $p_{\text{H}}$ -Abfall bei der Hydrolyse in einem Puffersystem mittels eines Indicators bestimmt (G. LIMPEROS und K. E. RANTA, H. TAKAHASHI und S. SHUBATA, D. W. MOLANDER, M. M. FRIEDMAN und J. S. LADUE). Hierher gehört auch der Kurzttest zur Serumcholinesterasebestimmung von E. HERZFELD und CH. STUMPF, der auf entsprechend vorbehandeltem Filtrierpapier (Indicatorpapier) ausgeführt wird und für gerichtsmedizinische Zwecke als Schnellmethode Beachtung verdient.

Oder aber, es wird ein Spaltprodukt der Hydrolyse bzw. bei der Reaktion nicht verbrauchtes Substrat optisch, colorimetrisch oder titrimetrisch bestimmt (R. L. METCALF, M. H. SLEISENGER, T. P. ALMY, H. GILDER und G. PERLE, O. G. CESAIRE, A. MARIANI und P. B. CAMPONOVO, P. MENGHI, E. GRASSO und V. QUINTÉ; s. auch: die Arbeiten zum Vergleich mehrerer Methoden miteinander: W. KALOW und H. A. LINDSAY, A. MEYER und W. WILBRANDT, R. L. METCALF). Zuletzt sei noch die Methode von W. HOMANN erwähnt, der die papierchromatographische Darstellung des Acetylcholins nach W. WHITTAKER und K. WJESUNDRÄ zur Messung der Cholinesteraseaktivität ausbaute.

Infolge der großen Zahl der Bestimmungsmethoden, die teilweise auf ganz verschiedenen Prinzipien beruhen, sind die in der Literatur angegebenen Cholinesterasewerte nur schwer miteinander zu vergleichen. Sie werden einmal als  $p_{\text{H}}$ -Abfall ( $\Delta p_{\text{H}}$ ) je willkürlich gewählter Zeiteinheit bezogen auf Volumen-Serum, in  $\text{mm}^3 \text{CO}_2/\text{Zeiteinheit}$  oder aber auf die Menge umgesetztes Substrat je Zeiteinheit und Volumeneinheit der Probe bzw.  $\gamma$  oder m-Mol von einer bestimmten Menge Untersuchungsmaterial je Zeiteinheit umgesetztes Acetylcholin bezogen, angegeben.

Dabei variieren die äußeren Bedingungen, wie Temperatur und Zeit ebenfalls zwischen den jeweiligen Untersuchern. Nur bei Umrechnung der Tabellenwerte in den einzelnen Arbeiten in %-Werte, z. B. für Hemmungseffekte kann man einigermaßen vergleichen. Für die praktische forensische Toxikologie wäre es daher sehr erwünscht, ein festes Bezugssystem für die Cholinesteraseaktivitätsmessung zu erarbeiten.

Die Serumcholinesterase ist von der Klinik in bezug auf die verschiedensten Krankheiten untersucht worden. Dabei fällt auf, daß die Aktivität eine Individualkonstante für den Gesunden zu sein scheint, die keine Veränderung durch Jahreszeiten oder normale äußere Bedingungen zeigt. Die Werte von Individuum zu Individuum haben aber eine große Variationsbreite. S. OKINAKA, O. KITAMOTO, M. YOSHIKAWA und Mitarbeiter geben einen Wert von 50—90 mm<sup>3</sup> CO<sub>2</sub>/1 min/1 ml Serum als Normalwerte für Erwachsene beiderlei Geschlechts an. Nach H. BURGER lag die Serumcholinesteraseaktivität beim Manne höher als bei Frauen. Die Unterschiede waren jedoch infolge der großen Variationsbreite statistisch nicht zu sichern. Nach L. J. VORHAUS und R. M. KARK betrug der nach MICHEL bestimmte Mittelwert der SchE-Aktivität bei 120 gesunden erwachsenen Männern und Frauen 0,94  $\Delta$  p<sub>H</sub>/h (0,58—1,37) bei einer „standard deviation“ von 0,16. Dabei konnten sie keine Abhängigkeit von Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Größe oder Körperoberfläche auffinden. Die genannten Autoren geben eine Verteilungskurve ihrer Werte, die einer Normalverteilung entspricht. D. W. MOLANDER und Mitarbeiter fanden bei 110 Normalpersonen mit ihrer colorimetrischen Methode einen Mittelwert von 0,66  $\pm$  0,22  $\Delta$  p<sub>H</sub> 2h/0,1 ml Serum. Auch sie konnten keinen Unterschied der Geschlechter bemerken, fanden aber, daß bei Säuglingen und Kindern die Werte niedriger lagen. Ein Einfluß des mensuellen Cyclus auf die SchE-Aktivität scheint nicht zu bestehen (H. BURGER). Während der Gravidität kommt es parallel zu der im 2. und 3. Drittel auftretenden Blutverdünnung („Hemodilution“), zu einem Absinken der SchE-Aktivität auf etwa 79% der vorher bestehenden Werte, die 6 Wochen post partum wieder erreicht werden (J. A. PRITCHARD).

Die SchE-Aktivität soll nach einigen Autoren die vegetative Tonuslage des Organismus erkennen lassen, wobei die Differenzen zwischen Sympathicotonikern und Parasympathicotonikern aber wohl alle noch in der normalen Variationsbreite liegen (s. u. a. F. HOFF und H. LOSSE sowie R. HEINECKER und H. LOSSE).

Auf Grund der schon erwähnten Bildung der SchEsterase zusammen mit dem Albuminmolekül in der Leber zeigt das Enzym eine starke Abhängigkeit vom Zustand dieses Organs. Bei Leberparenchymerkrankungen ist sie daher vermindert, was von zahlreichen Untersuchern zu einer allen anderen Methoden überlegenen Funktionsprobe ausgebaut wurde (W. ANTOPOL, L. TUCHMAN und A. SCHIFRIN; M. H. SLEISENGER und Mitarbeiter; E. H. MAIER; VORHAUS und KARK; D. W. MOLANDER und Mitarbeiter). Danach scheint gesichert zu sein, daß die SchE-Aktivität bei Hypoalbuminämien z. B. akuten und chronischen Leberparenchymerkrankungen (Hepatitis und Cirrhose), aber auch bei konsumierenden Erkrankungen, Unterernährung, akuten Infektions-

krankheiten und Anämien erniedrigt ist (s. vor allem die gute Übersicht von VORHAUS und KARK). Eine Erhöhung der SChE-Aktivität wird bei Nephrosen beobachtet, was darauf zurückgeführt wird, daß infolge der dabei auftretenden Albuminausscheidung die Leber zur kompensatorischen Neubildung des Albumins angeregt wird. Zugleich mit diesem wird SChE ins Blut abgegeben. Das relativ kleine Albuminmolekül wird durch die Glomeruli ausgeschieden, während die SChE im Blute ansteigen muß, da sie die Glomerulusembran infolge ihrer Größe nicht passieren kann. Daher findet man bei der Nephrose eine Hypoalbuminämie bei hohen SChE-Werten (VORHAUS und KARK). Schilddrüsenüberfunktion bewirkt ebenfalls über die Steigerung des Leberstoffwechsels einen Anstieg der SChE-Aktivität (s. auch OKINAKA und YOSHIKAWA). Entsprechend ist die SChE-Aktivität erniedrigt bei unreifen Neugeborenen, da deren allgemeines Defizit an Körpergewicht auch die Leberfunktion in Mitleidenschaft zieht (P. MENGHI, E. GRASSO und B. FANTUZZI).

Beim Diabetes mellitus kamen R. H. S. THOMPSON und J. R. TROUNCE zu aufschlußreichen Resultaten. Sie konnten nachweisen, daß nur übergewichtige Patienten erhöhte SChE-Werte haben. Sie leiten daraus ab, daß vielleicht eine Beziehung der SChE zum Fettstoffwechsel bestehe, eine Annahme, die einmal durch die bekannten Zusammenhänge zwischen Ernährungszustand und Höhe der SChE und zum anderen auf Grund der Ergebnisse W. T. C. BERRYS und Mitarbeiter naheliegt. Letztere Autoren konnten nämlich eine positive Korrelation zwischen der Menge des Oberflächenfettes und der Höhe des SChE-Spiegels aufzeigen.

Von größerem Interesse für die gerichtliche Medizin als die Veränderungen der Serumcholinesterase bei Erkrankungen, für die sich in tabula meist genügend andere, morphologische Anhaltspunkte finden, ist ihre Hemmbarkeit durch Pharmaka. Dabei werden einmal Hemmstoffe unterschieden, die mit dem Enzym in reversibler Weise reagieren, und zum anderen solche, die die SChE irreversibel zu hemmen vermögen. Ganz allgemein bezeichnet man derartige Stoffe als „Anticholinesterasen“. Zur 1. Gruppe gehören vor allem das Physostigmin und das Prostigmin. Außerdem zeigen eine große Anzahl von Arzneimitteln eine cholinesterasehemmende Nebenwirkung, so z. B. viele Lokalanaesthetica, Muskelrelaxantien — diese sind ja zumeist quaternäre Ammoniumverbindungen — und auch die Phenothiazine. So meinte W. BENSTZ nach Kreislaufregulationsversuchen am Menschen zumindest einen Teil der Largactilwirkung auf die vegetativen Regulationen über eine von ihm beobachtete SChE-Hemmung erklären zu können. Alle diese reversiblen Hemmungen der SChE durch die beispielsweise genannten Mittel sind jedoch nur von kurzer Dauer. Anders verhält es sich mit den irreversiblen ChE-Blockern, die alle organische Phosphorsäureester sind. Dabei geht der Phosphorsäurerest dieser Substanzen nach Aufspaltung der Esterbindung im Organismus eine Verbindung mit der

aktiven Stelle der ChE-Molekel ein, die nur ganz langsam wieder gelöst werden kann. Die irreversiblen ChE-Blocker lassen sich nun ihrerseits wieder unterteilen in solche, die unmittelbar eine Hemmung bewirken sowohl in vitro, als auch in vivo und in solche, die in reiner Form in vitro keine oder nur geringe Wirkung haben, aber nach Resorption im Organismus eine Umwandlung zu hochgradigen Blockern erleiden. Zur 1. Gruppe gehören das TEPP, DFP, E 600 (Mintacol), Potasan, EPN, Malathion und die Kampfstoffe Tabun und Sarin. Zu der 2. Gruppe das Schradan (OMPA), E 605 (Parathion), Systox und Metasystox (AUGUSTINSSON; W. M. DIGGLE und J. C. GAGE und W. WIRTH).

Aus dieser Aufzählung wird sofort ersichtlich, daß eine Vergiftung mit einem derartigen Stoff, der meist ein Insecticid ist, aus der ChE-Hemmung erkannt werden kann. Diese Möglichkeit erscheint für die forensische Toxikologie dann um so bedeutsamer, wenn, wie im Falle des Systox, bisher chemische Nachweismethoden des Giftes fehlen. So konnte denn H. KAISER bei der ersten tödlich verlaufenen Systoxvergiftung im Blut und Gewebswasser eine um 80—85% verminderte ChE-Aktivität bestimmen, während sonst keine Beweise für die stattgehabte Vergiftung zu erbringen waren. Aber auch bei den übrigen Vergiftungen mit Pflanzenschutzmitteln erscheint trotz bekannter chemischer Nachweismethoden eine weitere Sicherung der Diagnose am Leichenmaterial aus leicht einzusehenden Gründen erwünscht. Darüber hinaus hat man in der SChE-Bestimmung auch beim Lebenden die Möglichkeit, eine Gefährdung bzw. bedrohliche Angiftung zu erkennen. Die Meinungen darüber, bei welcher Erniedrigung des SChE-Spiegels eine Gefährdung besteht, sind bisher außerordentlich widersprechend, worauf weiter unten noch einzugehen sein wird. Auch, welche SChE-Erniedrigungen bei tödlichen Vergiftungen erreicht werden, ist noch nicht in befriedigender Weise geklärt.

Wir haben uns daher bemüht, zunächst einmal die SChE-Aktivitäten an der Leiche zu studieren, um Vergleichsmaterial zu erarbeiten. Als eine leicht und ohne großen Aufwand zu handhabende Methode haben wir die colorimetrische Bestimmung der SChE nach D. W. MOLANDER, M. M. FRIEDMAN und J. S. LADUE gewählt. Sie ist eine Abwandlung der Originalmethode MICHELS, jedoch wird die  $p_H$ -Änderung durch Phenolrot als Indicator bestimmt und nicht elektrometrisch. Die Reaktion zwischen dem in bekannter Menge zugesetzten Acetylcholin und der im Serum vorhandenen SChE (Hydrolyse) läuft dabei in einem Barbituratpuffer ab. Die  $p_H$ -Änderung ( $\Delta p_H$ ) wird dabei gegen eine Eichkurve mit Barbituratpufferlösungen steigender  $p_H$ -Werte spektrophotometrisch gemessen.

*Methode*

Im folgenden seien kurz die Einzelheiten der Methode angegeben.

*Puffer.* 82,3 ml einer Veronalnatriumstammllösung (10,30 g Na-Veronal in 500 ml aqua dest.) werden mit 17,7 ml n/10-Salzsäure gemischt. Die Lösung soll einen  $p_H$  von 8,4 haben.

*Phenolrotindicator.* 0,050 g Phenolrot werden in 10 ml n/10-Natronlauge gelöst und auf 200 ml mit aqua dest. verdünnt.

*Acetylcholinchloridlösung.* 3,5 g ad 100 ml aqua dest. (im Eisschrank aufbewahren).

*Aufnahme der Eichkurve.* Je 2 ml Na-Veronal-Puffer vom  $p_H$  7,0—8,6 (J. D'ANS und E. LAX, Tab. 6624) werden zu 8 ml Wasser gegeben, dann je 0,15 ml Phenolrot-indicatorlösung zugegeben. Die einzelnen Lösungen werden bei 550  $m\mu$  bei einer Schichtdicke von 10 mm gegen Wasser als Leerwert gemessen. (In der Originalmethode wird Filter 535  $m\mu$  angegeben. Phenolrotlösung hat nach eigenen Messungen ihr Absorptionsmaximum bei 550  $m\mu$ .)

Zur Messung werden 3 Röhrchen (am besten Reagensgläser mit Schliffstöpsel) für jede Bestimmung angesetzt, eins für den Ausgangs- $p_H$ -Wert, das 2. für den  $p_H$ -Endwert und das 3. zur Kompensation der Serumeigenfarbe als Leerwert, gegen den gemessen wird.

*Röhrchen 1* wird mit 2,0 ml Barbituratpuffer ( $p_H$  8,4), 1 ml Acetylcholinchloridlösung und 0,1 ml Serum beschickt.

*Röhrchen 2 und 3* enthalten je 2,0 ml Pufferlösung ( $p_H$  8,4), 1,0 ml Wasser und 0,1 ml Serum.

Die Röhrchen werden nun 2 Std bei 37° inkubiert. Die Messung soll genau nach 120 min gemacht werden. Kurz vor Beendigung dieser Zeit werden zu jedem Röhrchen genau 7,0 ml Wasser gegeben. Zu Röhrchen 1 und 2 kommen je 0,15 ml Indicatorlösung. Gemessen wird gegen Röhrchen 3 als Leerwert. Aus der Eichkurve wird der  $p_H$ -Wert der Proben abgelesen,  $\Delta p_H/2h$  ist dann die Differenz Wert Röhrchen 2 minus Wert Röhrchen 1.

Die Methode lieferte reproduzierbare Werte bei einer Differenz von nicht mehr als 0,03  $p_H$ -Einheiten.

Bei Aufnahme der Eichkurve mit dem Monochromator zeigte diese eine leichte Krümmung, die ihre theoretische Deutung in der Kinetik der Indicatorreaktion findet, worauf in diesem Rahmen nicht näher eingegangen werden kann. Im Bereich von 7,4—8,3  $p_H$  stellt sie jedoch annähernd eine Gerade dar.

*Besprechung der Ergebnisse*

Um die Normalstreuung der SchE-Werte in der hiesigen Bevölkerung zu ermitteln, wurden zunächst von 45 Frauen und 67 Männern aller Altersklassen in Doppelbestimmungen die Aktivitäten bestimmt. Hierbei wurde sorgfältig darauf geachtet, daß nur Seren gesunder, insbesondere lebergesunder Personen zur Anwendung kamen. Es handelte sich zumeist um Blute von in Vaterschaftssachen einbestellten Personen. Das Blut wurde im Eisschrank bei +4° absitzen lassen und dann zentrifugiert. Die Bestimmungen wurden möglichst frisch angesetzt.

In einer eigenen Untersuchungsreihe wurden 9 Seren im Eisschrank aufbewahrt und in regelmäßigen Abständen die SchE-Aktivität bestimmt. Hierbei konnten über 4 Wochen praktisch immer die gleichen Werte bestimmt werden.

Die Verteilung der Werte der Normalpersonen zeigt Abb. 1. Es wurde so für Männer ein mittleres  $\Delta p_{H_2h}$  von 0,67 (0,51—0,83) bei einem

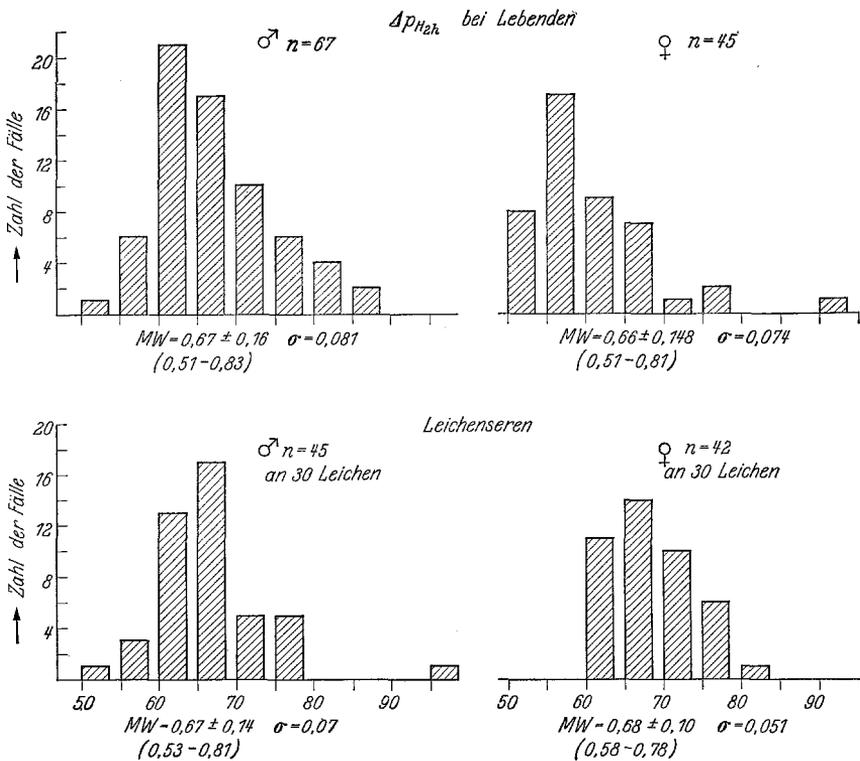


Abb. 1 u. 1a. Serumcholinesterasewerte bei Lebenden und Leichen

$\sigma$  von 0,081 berechnet. Für Frauen lagen die entsprechenden Werte bei  $0,66 \pm 0,148$  (0,51—0,81). Signifikante Geschlechtsunterschiede waren in unserer Bevölkerung also nicht festzustellen. Nachdem so die Normalwerte festgelegt waren, die gut mit denen von MOLANDER und Mitarbeiter übereinstimmen, wurden Blutentnahmen bei Leichen durchgeführt. Dabei zeigte es sich bei Vorversuchen, daß keine Unterschiede bestanden zwischen den Serumwerten des Herzblutes und bei Schenkelvenenblut. Solange noch nicht hämolytisches Serum zu gewinnen war, konnte auch die SchE-Aktivität mit der genannten Methode bestimmt werden. Es gelang, bei je 30 männlichen und weiblichen Leichen

(17—83 Jahre) die Aktivitätswerte zu bestimmen. Eine Übersicht der Ergebnisse zeigt Abb. 1. Die berechneten Mittelwerte waren bei Männern  $0,67 \pm 0,14$  (0,53—0,81) und bei Frauen  $0,68 \pm 0,10$  (0,58—0,78). Man sieht daraus, daß die Durchschnittswerte der Serumcholinesteraseaktivitäten bei der Leiche denen des Lebenden entsprechen. Dabei war es wichtig, daß auch bei mehrfachen Blutentnahmen in verschiedenen Zeitabständen bei derselben Leiche die Werte nicht etwa mit zunehmender Liegezeit abnahmen. Dies ist bei den sonst an Fermentsystemen des

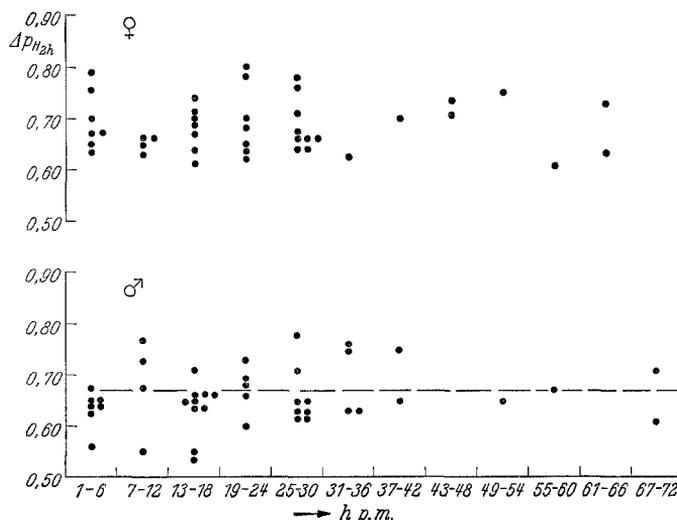


Abb. 2. Verhalten der  $\Delta p_{H_2}/2h$  zur Entnahmezeit in H p. m.

Leichenblutes nachgewiesenen postmortalen Veränderungen ein überraschendes Ergebnis<sup>1</sup>. Das Verhalten der SChE-Werte zur Entnahmezeit post mortem zeigt Abb. 2. Man sieht, daß die Werte alle bis 72 h p. m. innerhalb der Normalverteilung auf einer Geraden liegen.

Da die Durchschnittswerte bei Lebenden und Toten gleich waren, konnten zur Ermittlung des statistischen Verteilungstypus alle bestimmten Werte zusammengefaßt werden. Bei einer Gesamtzahl von 199 Doppelbestimmungen ergibt sich bei Umrechnung in eine Prozentverteilung das Bild einer mehr links-lognormalen Kurve. Diese Streuung der Normwerte bei individualkonstantem Verhalten des Einzelwertes dürfte wohl eher den biologischen Gegebenheiten entsprechen, als

<sup>1</sup> S. P. BERG konnte mit einer biologischen Methode — Bestimmung des ACh am Meerschweinchendarm — früher für Vollblut und Muskelpreßsaft ähnliche Ergebnisse erzielen. Hierbei sind die Verhältnisse infolge Vermischung von Ery-ChE, Serum-ChE bzw. Gewebs-ChE jedoch nicht sicher zu übersehen und nicht vergleichbar.

die von vielen amerikanischen Autoren angegebene GAUSSSCHE Normalverteilung. Die Werte streuen eben geometrisch und nicht arithmetrisch (Abb. 3).

Eine Aufschlüsselung nach Todesursachen gibt die folgende Tabelle 1.

Aus dieser Aufstellung ergibt sich bei einer noch geringen Zahl der einzelnen Todesursachen, daß bei keiner die Werte außerhalb der festgestellten Streubreite liegen. Nur der bei einem Magencarcinom bestimmte Wert lag an der unteren Grenze der Norm. Hierbei handelte es sich um einen völlig marantischen Kranken, der durch Suicid endete.

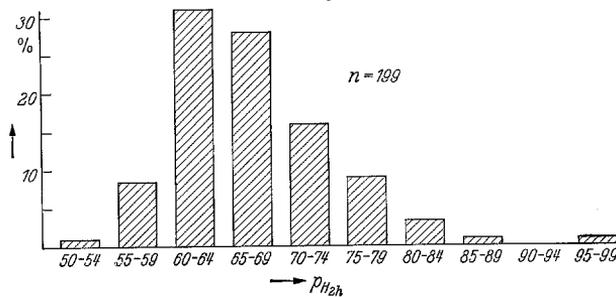


Abb. 3. Streuung aller Serumcholinesterasewerte

Bei 11 E 605-Todesfällen des letzten Jahres konnten dagegen folgende SChE-Werte bestimmt werden (Tabelle 2).

Alle bei E 605-Leichenseren bestimmte Werte liegen also sicher außerhalb der  $2\sigma$ -Grenze. Eine Hemmung der Serumcholinesterase läßt sich hierbei immer nachweisen. Aufschlußreich ist aber, daß die Herabsetzung der SChE-Aktivität im Durchschnitt nur auf etwa  $\frac{2}{3}$  des Normdurchschnittes erfolgte. Dabei gibt die Berechnung der Hemmung auch auf die Grenzwerte der Norm erst ein wahres Bild, da die Ausgangswerte des Einzelfalles vor der Vergiftung nicht bekannt sind. Es erscheint daher nur erlaubt, Hemmungswerte der SChE, die an der Leiche

Tabelle 1

Todesursache	Männer		Frauen	
	Anzahl	$\bar{x}$ pH <sub>2h</sub>	Anzahl	$\bar{x}$ pH <sub>2h</sub>
Unfall: Schädeltrauma, Apoplexie, Aortenruptur, Ulcusblutung . . . . .	6	0,68	8	0,69
Herztod: Infarkt, Coronarsklerose, Herzruptur . . . . .	14	0,64	7	0,68
Lungenembolie, Fettembolie . . . . .	1	0,66	1	0,61
Ertrinken . . . . .			1	0,65
Erhängen . . . . .	4	0,68	4	0,70
Magencarcinom . . . . .	1	0,55		
Vergiftungen: Co . . . . .	2	0,71	7	0,67
Schlafmittel . . . . .	2	0,70	2	0,68

bestimmt wurden, in der oben angeführten Form mitzuteilen. Aus den Zahlen der Nr. 4, Tabelle 2, geht dies am besten hervor. Die gemessene Aktivität des Leichenblutes kann hier einer 8- oder aber auch 40%igen Hemmung entsprechen.

Diese hier angedeuteten Verhältnisse haben noch größere Bedeutung, wenn Serumaktivitätswerte hinsichtlich einer etwaigen Gefährdung des betreffenden Patienten beurteilt werden sollen. Hier kann nur der Vergleich mit dem vor Beginn der gefährdenden Arbeit vorhandenen Individualwert oder aber die Überschreitung der  $2\sigma$ -Grenze eines größeren Kollektivs nichtgefährdeter Personen weiterhelfen. Dabei ist von größter Bedeutung, daß Personen mit erniedrigter Serumcholinesteraseaktivität eine erhöhte Empfindlichkeit gegen Aufnahme weiterer, selbst kleiner Mengen eines ChE-Blockers aufweisen (Näheres s. bei J. C. GAGE). So kam es bei den gewerblichen Vergiftungen von Arbeitern eines Betriebes, über die C. SASSI, N. ZURLO, E. BARTALINI und L. METRICO berichten, bei einer Herabsetzung der Serum-ChE-Aktivität um 30% gegenüber dem normalen Durchschnittswert zu klinisch manifesten Vergiftungen. In einem besonders schweren Fall war die SChE-Aktivität sogar um 55% herabgesetzt. Der Beginn der klinischen Symptome einer Vergiftung soll bei Erniedrigung von mehr als 20—30% einsetzen (N. ZURLO, C. SASSI und L. METRICO; s. a. R. L. METCALF; W. T. SUMERFORD, W. J. HAYES, J. M. JOHNSTON, K. WALKER und J. SPILLANE). Beim Menschen scheinen die Verhältnisse doch etwas anders zu sein, als bei Versuchstieren, bei denen eine sehr starke Herabsetzung der Serum-ChE-Aktivität ohne faßbare klinische Symptome bleiben soll (s. oben und auch G. SCHMITZ und W. PFAFF). Hinsichtlich der bei tödlichen Anticholinesterasevergiftungen gefundenen Serum-ChE-Aktivitäten lassen sich aus der Literatur noch keine sicheren Grenzen aufzeigen. So gab K. BÖHMER bei 3 seiner Fälle Werte von 41, 15 und in 1 Fall sogar 100% für die Serum-ChE-Aktivität an. Bei W. WIRTH finden sich Werte von 16, 0, 9,2, 7,5 und 25% des Durchschnitts aus 10 Normalseren. Man sieht, daß auch hier eine endgültige Klarheit noch nicht geschaffen ist. Bei kritischer Bewertung und Heranziehung der erarbeiteten Normdurchschnittswerte mit ihren statistischen Grenzen wird man aber einen am Leichenblut bestimmten Hemmungswert auch bei sonst unklaren Todesfällen richtig ausdeuten können. Eine weitere Sammlung möglichst vieler bei letalen Vergiftungen gewonnener Werte

Tabelle 2

Nr	$\Delta$ pH/h	% der Norm	bez. auf $\Delta$ pH/h $0,67 \pm 0,14$
1	0,38	56	(71—46)
2	0,38	56	(71—46)
3	0,46	68	(86—56)
4	0,49	73	(92—60)
5	0,39	58	(73—48)
6	0,48	71	(90—59)
7	0,38	56	(71—46)
8	0,38	56	(71—46)
9	0,41	61	(77—50)
10	0,39	58	(73—48)
11	0,46	68	(86—56)
MW	0,41	61	(77—50)

### Zusammenfassung

Nach einer einführenden Darstellung neuerer Ergebnisse aus der Forschung über die Cholinesterasen wurden Untersuchungen an Leichenseren mitgeteilt. Hierbei ergab sich, daß die handliche Methode von MOLANDER, FRIEDMAN und LA DUE auch zur Bestimmung an Leichenseren brauchbar ist. An 60 Leichen wurden die Serumaktivitäten bestimmt. Beim Vergleich mit an 112 Gesunden gewonnenen Durchschnittswerten ließen sich keine Differenzen oder Verteilungsunterschiede erkennen. Auch Geschlechtsunterschiede waren nicht vorhanden. Die statistische Verteilung aller Aktivitätswerte entspricht wahrscheinlich einer log-normalen, was aus der Individualkonstanz der Serum-ChE-Aktivität resultiert. Die Serum-ChE bleibt anscheinend nach dem Tode lange Zeit unverändert. Eine Bestimmung ist solange möglich, wie brauchbares Serum zu gewinnen ist. Eine Aufschlüsselung nach Todesarten gab keinen Hinweis auf signifikante Beziehungen. Es wurden die Werte bei 11 E 605-Todesfällen mitgeteilt. Hemmungswerte sollten nur dann verwendet werden, wenn sie außerhalb der statistischen Grenzen der Norm liegen. Eine genaue Festlegung in Prozent Hemmung erscheint problematisch, da der ursprüngliche Individualwert des Toten nicht bekannt ist.

### Literatur

- AMMON, R.: Die fermentative Spaltung des Acetylcholins. Pflügers Arch. **233**, 486, 491 (1933). — AMMON, R., u. F. J. ZAPP: Eine einfache klinische chemische Methode zum Nachweis der Cholinesterase im Serum. Klin. Wschr. **1955**, 759—762.
- ANTOPOL, W., L. TUCHMAN and A. SCHIFFRIN: Decreased cholinesterase activity of serum in jaundice and biliary disease. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. **38**, 363 (1938).
- AUGUSTINSSON, K. B.: Cholinesterase, a study in comparative Enzymology. Acta physiol. scand. (Stockh.) **15**, Suppl. 52 (1948), 182 S. — Neuere Ergebnisse auf dem Gebiet der Cholinesterasen und ihre Bedeutung für Pharmakologie und Toxikologie. Arzneimittel-Forsch. **4**, 242—249 (1954). — BENSTZ, W.: Zur Wirkung synthetischer Hibernatoren auf die Serum- und Erythrocytencholinesterasen unter Berücksichtigung gleichzeitiger Kreislaufanalysen. Klin. Wschr. **1956**, 796—798. — BERG, S. P.: Nervensystem und Totenstarre. Dtsch. Z. gerichtl. Med. **39**, 429—434 (1948). — BERRY, W. T. C., P. J. COWIN u. D. R. DAVIES: A relationship between body fat and plasma pseudo-cholinesterase. Brit. J. Nutrit. **8**, 79—82 (1954). — BÖHMER, K.: E 605-Vergiftung. Z. inn. Med. **9**, 948—957 (1954). — BURGER, H.: Der Einfluß weiblicher Sexualhormone auf die Cholinesterase und Acetylcholinesterase des Blutes. Arch. Gynäk. **185**, 347—358 (1954). — CESAIRE, O. G.: Une nouvelle méthode de mesure de l'activité de la cholinestérase sérique. Ann. Biol. clin. **10**, 84—92 (1952). — COHN, E. J. u. Mitarb.: Preparation and properties of serum and plasma proteins. IV. J. Amer. Chem. Soc. **68**, 459 (1946). — CRAIG, A., u. G. FREEMAN: Zit. nach FREEMAN u. EPSTEIN. — DIGGLE, W. M., and J. C. GAGE: Cholinesterasehemmung durch Parathion in vivo. Biochemic. J. **49**, 491 (1951). — FREEMAN, G., and M. A. EPSTEIN: Therapeutic factors in survival after lethal cholinesterase inhibition by phosphorus insecticides. New England J. Med. **253**, 266—271 (1955). — GAGE, J. C.: Blood cholinesterase values in early diagnosis of excessive exposure to phosphorus insecticides. Brit. Med. J. **1955**, 1370. —

- HEILBRONN, E.: An electrometric method for the determination of cholinesterase activity. III. *Scand. J. Clin. a. Labor. Invest.* **5**, 308—311 (1953). — HEINECKER, R., u. H. LOSSE: Cholinesteraseaktivität des Serums und vegetative Tonuslage. *Klin. Wschr.* **1955**, 870—872. — HERZFELD, E., u. CH. STUMPF: Ein neuer Kurzttest zur Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität. *Wien. klin. Wschr.* **1955**, 874—876. — HEYMANS, C., u. H. CASIER: Über die Regeneration der Blutcholinesterase. *Experientia (Basel)* **4**, 75 (1948). — HOFF, F., u. H. LOSSE: Sympathikotonie und Parasympathikotonie. *Dtsch. med. Wschr.* **1955**, 529—537. — HOMANN, W.: Eine papierchromatographische Methode zur Messung der Cholinesteraseaktivität. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **224**, 176—178 (1955). — KAISER, H.: Die erste tödlich verlaufene Systoxvergiftung. Vortr. auf der 5. Arbeitstag der GDCh-Fachgruppe Lebensmittelchemie, Weinheim, 31. Okt. 1952. *Angew. Chem.* **65**, 165 (1953). — KALOW, W., and H. A. LINDSAY: A comparison of optical and manometric methods for the assay of human serum cholinesterase. *Canad. J. Biochem. a. Physiol.* **33**, 568—574 (1955). — KOPPANYI, TH.: *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **83**, 532 (1948). *Zit. nach AUGUSTINSSON.* — LEVINE, M. G.: Die Halbwertszeit der Cholinesterase. *Experientia (Basel)* **9**, 101—103 (1953). — LIMPEROS, G., and K. E. RANTA: A rapid screening test for the determination of the approximate cholinesterase activity of human blood. *Science (Lancaster, Pa.)* **117**, 453—455 (1953). — MAIER, E. H.: Importancia de la determinación de la colinesterasa del suero para valorar las enfermedades del hígado. *Fol. Clin. Internat.* **3**, Nr 7 (1953). — MARIANI, A., y P. B. CAMPONOV: Eine Methode zur Bestimmung der Esteraseaktivität des Serums. *Acta argent. Fisiol. y Fisipath.* **1**, 683—690 (1951). — MENDEL, B., and H. RUDNEY: Studies on cholinesterase; cholinesterase and pseudo-cholinesterase. *Biochemic. J.* **37**, 59 (1943). *Zit. nach THOMPSON.* — MENGHI, P., E. GRASSO e B. FANTUZZI: Attività colinesterasica nel lattante normale e nell' immaturo. *Minerva pediatr. (Torino)* **6** (1954). — MENGHI, P., E. GRASSO e V. QUINTE: Sui metodi di determinazione dell'attività colinesterasica. *Minerva pediatr. (Torino)* **4** (1954). — METCALF, R. L.: The colorimetric microestimation of human blood cholinesterases and its application to poisonig by organic phosphate insecticides. *J. Econ. Entomol.* **44**, 883—890 (1951). — MEYER, A., u. W. WILBRANDT: Zur Bestimmung der Aktivität der Cholinesterasen im menschlichen Blute. *Helvet. physiol. Acta* **12**, 206—216 (1954). — MICHEL, H. O.: An electrometric method for the determination of red bloodcell and plasma cholinesterase activity. *J. Labor. a. Clin. Med.* **34**, 1564—1568 (1949). — MOLANDER, D. W., M. M. FRIEDMAN and J. S. LA DUE: Serum cholinesterase in hepatic and neoplastic diseases, a priliminary report. *Ann. Int. Med.* **41**, 1139—1151 (1954). — OKINAKA, S., O. KITAMOTO u. Mitarb.: Studies on Cholinesterase. II. *Tohoku J. Exper. Med.* **55**, 87—94 (1951). — OKINAKA, S., u. M. YOSHIKAWA: Zur Klinik der Cholinesterase. *Münch. med. Wschr.* **1955**, 1072—1079. — PRITSCHARD, J. A.: Plasma cholinesterase activity in normal pregnancy and in eclamptogenic toxemias. *Amer. J. Obstetr.* **70**, 1083 bis 1086 (1955). — SASSI, C., N. ZURLO, E. BARTALINI e L. METRICO: L'intossicazione subacuta da parathion. *Med. Lav.* **46**, 251—269 (1955). — SCHMITZ, G., u. W. PFAFF: Ein Vergiftungsfall mit E 605. *Med. Mschr.* **1955**, 174—176. — SLEISENGER, M. H., T. P. ALMY, H. GILDER and G. PERLE: Colorimetric determination of serum-cholinesterase, its value in hepatic and biliary tract diseases. *J. Clin. Invest.* **32**, 466—472 (1953). — SUMERFORD, W. T., W. J. HAYES, J. M. JOHNSTON, K. WALTER and J. SPILLANE: Cholinesterase response and symptomatology from exposure to organic phosphorus insecticides. *Arch. Industr. Hyg. a. Occup. Med.* **7**, 183—198 (1953). — TAKAHASHI, H., u. S. SHUBATA: Eine einfache Methode zur Bestimmung der Serumcholinesterase für den klinischen Gebrauch. *Igako to Seibutsugaku* **20**, 96—98 (1951). — TAMMELIN, L. E.: An electrometric method for the determination

of cholinesterase activity. I. *Scand. J. Clin. a. Labor. Invest.* **5**, 267—270 (1953). — THOMPSON, R. H. S.: Cholinesterases. *Brit. Med. Bull.* **9**, 138—141 (1953). — THOMPSON, R. H. S., and J. R. TROUNCE: Serum-cholinesterase Levels in diabetes mellitus. *Lancet* **1956**, 656—658. — TOGNI, G. P., u. O. MEIER: Das Verhalten der Serumcholinesterase des Pferdes bei der Papierelektrophorese. *Experientia (Basel)* **9**, 106—107 (1953). — VORHAUS, L. J., and R. M. KARK: Serum cholinesterase in Health and disease. *Amer. J. Med.* **14**, 707—719 (1953). — WHITTAKER, W., and K. WJESUNDRÄ: The separation of esters of choline by filterpaper chromatographie. *Biochemic. J.* **51**, 248—251 (1952). — WIRTH, W.: Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester. *Arch. exper. Path. u. Pharmakol.* **217**, 144—152 (1953). — Zum Nachweis der E 605-Intoxikation. *Arch. Toxikol.* **16**, 125—128 (1956). — ZURLO, N., C. SASSI e L. METRICO: Determinazione della attività anticolinesterasica e della massima concentrazione tollerabile nell'atmosfera inquinata de insetticidi organici fosforati. *Med. Lav.* **45**, Nr 10 (1954).

Dipl.-Chem. Dr. med. O. PRIBILLA, Kiel, Hospitalstr. 42

---