

Das oszillographische Verhalten der durch Zusatz von Zink-Ionen modifizierten Serum-Filtrat-Reaktion bei akuten Lungenkrankheiten

F. MUSIL

*Zentrallaboratorium des ZÚNZ, ZVIL-Krankenhaus,
Plzeň*

Nach Zusatz von Zink-Ionen zum Sulfosalicylsäure-Filtrat des menschlichen Blutserums wurde das Verhalten der oszillographischen Kurven beobachtet.

Die normalen und pathologischen Kurventypen zeigten abweichende Formen. Die aktiven Substanzen gehören wahrscheinlich zu den —SH-haltigen Eiweißkomponenten, welche bei den akuten Entzündungen besonders des Atmungssystems in Blutserum vermehrt sind. Der Unterschied wurde mittels der beschriebenen oszillographischen Methode festgestellt.

In der Vervollkommnung der polarographischen Untersuchungen von denaturierten und mit Sulfosalicylsäure deproteinierten Serum-Filtraten wurden in der klinisch-chemischen Serumanalyse in den letzten Jahren große Fortschritte gemacht. F. Šantavý [1], E. Paleček [2] und D. Kaláb [3, 4] haben die oszillographische Polarographie der Eiweißstoffe untersucht und in ihren Mitteilungen das oszillographische Verhalten einiger Eiweißstoffe beschrieben. M. Büchner [5] untersuchte den Zusatz von 0,02 N-ZnSO₄ zu der Brdička-Grundlösung (Kobalt(III)-hexammintrichlorid 1 · 10⁻³ N in 1 N-NH₃ und 0,1 N-NH₄Cl). Uns hat es interessiert, ob man die zwei verschiedenen Kurventypen in der klassischen Polarographie auch mittels oszillographischer Polarographie unterscheiden kann.

Der Zusatz von Zink-Ionen verändert die charakteristische Protein-Doppelwelle derart, daß man statt ihr auf dem Polarogramm zwei Stufen mit einem kleinen Eiweißbuckel sieht. Im Normalfall ragt das Maximum über den Buckel hinaus, in pathologischen Fällen ist es ganz oder teilweise unterdrückt (Abb. 1).

Wir haben 382 Patienten mit verschiedenen Krankheiten untersucht. In 60 Fällen (15,8 %) ergab sich positive Zink-Filtrat-Reaktion (ZFR) nach Büchner. In mehreren Fällen wurde dieses pathologische Filtrat am Bildschirm des Polaroskops analysiert.

Experimenteller Teil

Apparatur

Die oszillographischen Kurven $dE/dt = f(E)$ wurden mit dem Polaroskop Křížák P 576 bestimmt. Es wurde eine Quecksilbertropfelektrode verwendet.

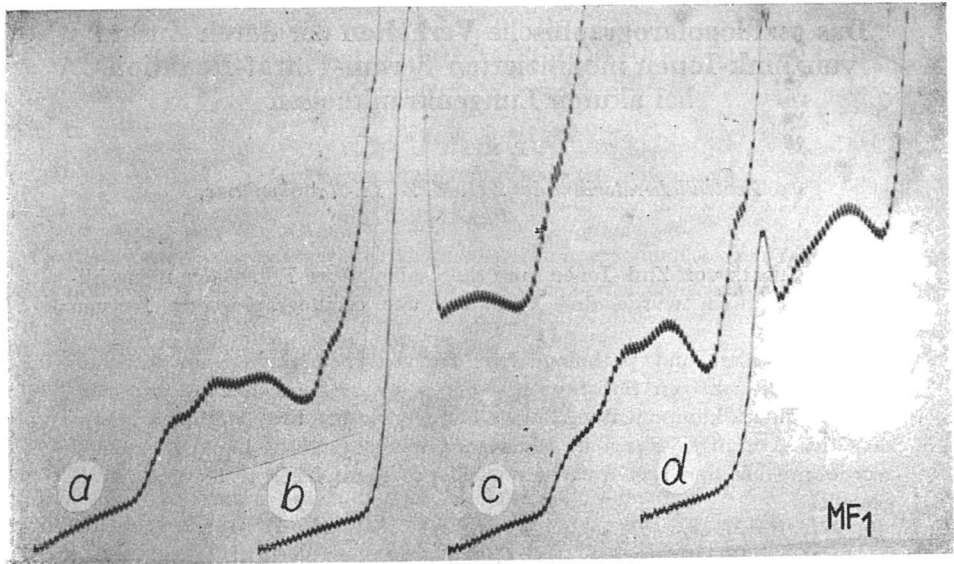


Abb. 1. Polarographische Stromspannungskurven.

a) normales Serum-Filtrat in Grundlösung; b) dtto + Zusatz von Zink-Ionen; c) pathologisches Serum-Filtrat; d) dtto + Zusatz von Zink-Ionen.

Polarographisches Verhalten

In der klassischen Polarographie ist der Verlauf der Doppelwelle ohne Zink-Ionen derselbe. Nach Zugabe des Filtrates steigt die Positivität der ZFR mit der Höhe der Original-Doppelwelle, aber nicht immer.

Oszillopolarographisches Verhalten

Zuerst haben wir das Verhalten der sogenannten negativen (normalen) und positiven (pathologischen) Serum-Filtrat-Kurven in der Grundlösung untersucht. Dann wurde auch ZFR durchgeführt.

Arbeitsvorgang

Zu 4,0 ml der Brdička-Grundlösung (zubereitet nach J. Hořejší [6]) wurden in jedem Falle 0,2 ml 0,02 N-ZnSO₄ zugesetzt und dann 0,2 ml des Serum-Filtrates. Am Bildschirm des Polaroskops erhielten wir Kurven mit den typischen Einschnitten (Abb. 2a, 2b).

Diese Grundlösung ergibt einen tiefen kathodischen Einschnitt (Q_1 0,72), die Zugabe von Zink-Ionen bildet einen neuen anodischen Einschnitt (Q'_1 0,49).

Untersuchung des Serum-Filtrates ohne Zink-Ionen

Das Serum-Filtrat (normales und pathologisches) verursacht in der Menge von 0,1 ml zwei Einschnitte auf dem kathodischen Teil bei Q_2 0,19 und Q_3 0,24 (Abb. 3a).

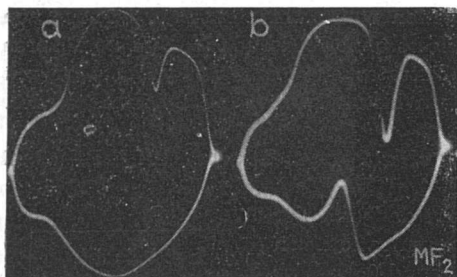


Abb. 2. Die Kurve $dE/dt = f(E)$ der Brdička-Grundlösung.
a) (Einschnitt Q_1); b) nach Zusatz von Zn^{2+} -Ionen (anodischer Einschnitt Q'_1).

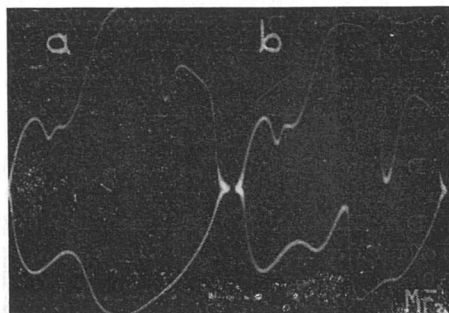


Abb. 3. Die normale (negative) Reaktion.
a) 0,2 ml des Serum-Filtrates in der Brdička-Grundlösung ($Q_{1, 2, 3}$); b) der Einfluß von Zink-Ionen.

Nach wiederholter Zugabe des Filtrates (0,1—1,0 ml) entwickelt sich ein neuer Einschnitt (Q_4 0,80) und der ursprüngliche Q_1 wird kleiner. Bei der Konzentration 1,0 ml ist er unbedeutend, verschwindet schließlich und es verbleibt der neugebildete, deutliche, sekundäre Einschnitt Q_4 . Wenn wir diese Standard-Zugabe beim pathologischen Serum untersuchen, zeigt sich schon bei 0,1 ml des Filtrates der Q_4 Einschnitt. Bei 0,2 ml ist er voll entwickelt (Abb. 4a). Der wiederholte Zusatz ändert den Charakter der Kurve ebenso wie das normale Serum. Schon bei der Konzentration 0,5 ml verschwindet der Q_1 Einschnitt und der neue Q_4 verbleibt wie bei der doppelten Konzentration des normalen Serums (1,0 ml).

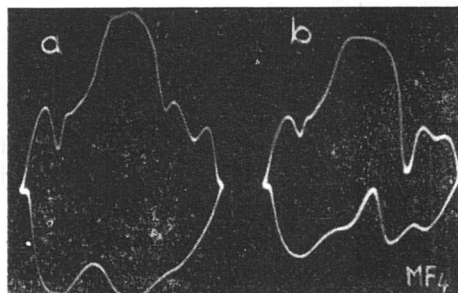


Abb. 4. Die pathologische (positive) Reaktion.
a) 0,2 ml des Serum-Filtrates in der Brdička-Grundlösung mit der Entwicklung des Q_4 Einschnittes; b) der Einfluß von Zink-Ionen.

Der Unterschied zwischen den beiden Kurven am Bildschirm erscheint nur bei der unterschiedlichen Konzentration der aktiven Substanzen in dem Filtrat. Beim pathologischen Serum genügen 0,2 ml und der sekundäre Einschnitt Q_4 ist ganz abweichend.

Untersuchung des Serum-Filtrates mit Zink-Ionen

Das weitere haben wir den eigentlichen Einfluß der Zink-Ionen untersucht. Die optimale Zugabe betrug 0,2 ml $2 \cdot 10^{-2}$ M- $ZnSO_4$, so daß sich als resultierende Menge in der Küvette $1 \cdot 10^{-4}$ M- Zn^{2+} ergab. Bei höheren Konzentrationen war die Kurve

abgeschnitten. Das Oszillogramm zeigt wieder den neuen Einschnitt Q'_1 , welcher von dem Zink-Ion verursacht wurde. Die Kurve bleibt ohne Änderungen. Bei der höheren Konzentration (0,4 ml) des normalen Serum-Filtrates erscheint wieder Q_1 , aber mit dem Unterschied, daß auch bei weiteren Zugaben bis zu 1,0 ml die beiden Einschnitte Q_1 und Q_4 verbleiben.

Das pathologische Filtrat gibt dasselbe Bild, aber Q_4 entsteht schon bei 0,1–0,2 ml und ändert sich nicht mehr.

Der Zusatz von Zink-Ionen hat zur Folge, daß sich der Verlauf der Kurve nicht ändert. Bei der Konzentration von 4,0 ml der Grundlösung und 0,2 ml des Filtrates und 0,2 ml der Zink-Ionen lassen sich beide Kurventypen sehr leicht unterscheiden (Abb. 3b, 4b). Das gilt auch für den Vergleich mit der klassischen Polarographie, die diese Reaktion zum erstenmal untersucht hat.

Die Analyse des normalen menschlichen Blutserums zeigte ähnliches Verhalten am Bildschirm ($Q_{1,1}$), aber bei den positiven Q -Werten sind kleine deutliche Einschnitte oder Vertiefungen (Abb. 5b).

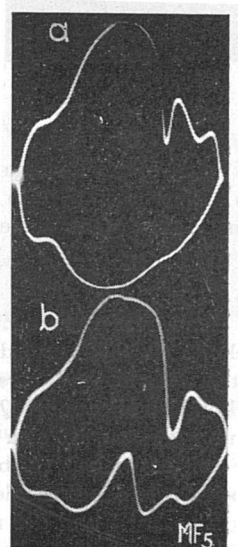


Abb. 5. Das Verhalten der Eiweißstoffe des Blutserums in der Brdička-Grundlösung.

a) 0,1 ml des menschlichen Blutserums (verdünnt 1 : 50) und Q_1 , Q_4 Einschnitte; b) der Einfluß von Zink-Ionen.

Diskussion

Seromukoid α_1 und α_2 (Haptoglobin) werden als Ursache der Positivität der Brdička-Reaktion gehalten. M. Büchner [5] erklärte die „Architektonik“ der Kurve und die Positivität nach Zusatz von Zink-Ionen als Vermehrung des pathologischen Mukoproteins und als Einfluß des 0,5 % Cysteingehaltes. Auch bei der oszillographischen Polarographie ergibt sich vorläufig, daß der Zusatz von Cystein zum Filtrat dieselbe Charakteristik auf dem kathodischen Teil des Oszillogramms hervorruft und so für die Reaktion von Bedeutung ist.

Brdička erläutert das Prinzip der Reaktion so, daß das pathologische Eiweiß des Serums teilweise mit den proteolytischen Fermenten abgebaut wird und die neu gebildeten Proteosen das Bild der Serumeiweiße im Sinne einer Entzündung abändern können.

Bei den von uns untersuchten Patientengruppen haben wir zu Beginn der akuten und exsudativen Formen der Lungenkrankheiten stark positive ZFR in 85 % konstatiert. Sie wurde von dem Anstieg FW, Verkürzung der Weltmann-Probe und höheren α_1 und α_2 Eiweißfraktionen begleitet. Während der

ärztlichen Behandlung hat sich diese Welle in normalen Fällen auch normalisiert. Bei Herzinfarkt und Gefäßkrankheiten zeigte sich Positivität nur bei 24 %, bei Nierenkrankheiten bei 12 %, bei Malignitäten nur in 9 %. In anderen Gruppen waren positive Fälle nicht so häufig.

Bei dem heutigen Forschungsstand können wir bei den akuten Erkrankungen des Respiratoriumssystems diesen Test als ergänzende Untersuchungsmethode empfehlen. Mittels der beschriebenen Methode kann man das Vorhandensein des akuten Prozesses feststellen und die Normalisierung der gestörten Serum-eiweiße während der Heilung verfolgen.

Diese Untersuchungen können die Herkunft der Einschnitte nicht vollkommen erklären, aber es handelt sich um polarographisch aktive Substanzen, welche im Sulfosalicylsäure-Filtrat nach der Eiweißhauptfällung während des akuten Stadiums auftreten und deren Konzentration viel höher ist als in normalen Fällen.

Die Erklärung des Wesens der Reaktion und die Identifizierung der vermehrten Eiweißkomponenten könnten durch die anderen biochemischen Analysen wie Papierchromatographie, Immunelektrophorese, enzymatische Reaktionen und andere Methoden ergänzt werden.

OSCILOPOLAROGRAFICKÉ ŠTÚDIUM MODIFIKOVANEJ
BRDIČKOVEJ REAKCIE ZA PRÍTOMNOSTI ZINOČNATÝCH IÓNOV
PRI AKÚTNÝCH PĽÚČNYCH OCHORENIACH

F. Musil

Ústredné laboratórium ZÚNZ, nemocnica ZVIL,
Plzeň

Oscilopolarograficky sa skúmala modifikovaná Brdičkova reakcia po pridaní iónov Zn^{2+} . Zistil sa markantný rozdiel medzi krivkami filtrátov normálnych a patologických sér v prípade pľúcnych ochorení.

ОСЦИЛЛОПОЛЯРОГРАФИЧЕСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ
РЕАКЦИЙ ФИЛЬТРАТА СЫВОРОТКИ,
МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДОБАВКОЙ ЦИНК-ИОНОВ,
ПРИ ОСТРЫХ ЛЕГОЧНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЯХ

Ф. Музил

Центральная лаборатория больницы института народного здоровья
заводов В. И. Ленина, Пльзень

Oscilopolarograficky sa skúmala modifikovaná Brdičkova reakcia po pridaní iónov Zn^{2+} . Zistil sa markantný rozdiel medzi krivkami filtrátov normálnych a patologických sér v prípade pľúcnych ochorení.

Preložil I. Smoleť

LITERATUR

1. Šantavý F., *Chem. listy* **49**, 834 (1955).
2. Kalvoda R., *Technika oscilopolarografických měření*, 107. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1963.
3. Kaláb D., *Naturwiss.* **44**, 350 (1957).
4. Kaláb D., *Spisy Přírodovědecké fakulty M. U.*, No 387, 1. Brno 1957.
5. Büchner M., *Acta Biol. Med. German.* **5**, 423 (1960).
6. Hořejší J., Kandrác M., Michalec Č., Slavík K., *Základy chemického vyšetřování v lékařství*, 291. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1957.

Eingegangen am 18. September 1963