

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 106 (1964)

Heft: 6

Artikel: Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

Autor: Gerber, Heinz

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-592527>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 02.04.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Summary

Description of the detection of Doping in the saliva of race-horses by means of thin layer chromatography, UV- and IR-spectrophotometry. The acuteness of this method was tested on specimens of saliva from horses doped experimentally.

Literatur

[1] Clarke E. G. C.: The Medico Legal Journ. XXX, 180 (1962). – [2] Luiz A. D. T., and C. R. B. Rey: Rev. Brasil Farm. 35, 53 (1954), cit. nach Chem. Abstr. 50, 10843f (1956). – [3] Schmid E. J.: Tesis. quim. Univ. Chile 2, 158 (1950), cit. nach Chem. Abstr. 47, 7159 h (1953). – [4] Moore P. H.: The Veterinary Record, 23. Nov. 1957. – [5] Bäumler J., S. Rippstein: Pharm. Acta Helv. 36, 382 (1961).

Aus der veterinärmedizinischen Klinik der Universität Bern
(Prof. Dr. W. Steck)

Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

III. Eigene Untersuchungen bei Pferden

A. Alkalische Serumphosphatase (SAP)¹

Von Heinz Gerber

1. Einleitung
2. Grundlagen und Problemstellung
3. Material und Methodik
4. Resultate
 - a) Zur Methodik
 - b) Organhomogenate
 - c) Histochemie
 - d) Serumaktivitäten
 - e) Aktivitätsbestimmungen im Harn
 - f) Aktivitätsbestimmungen im Kot
5. Diskussion
 - a) Kritik der Methode
 - b) Klinische Beobachtungen
 - c) Praktische Konsequenzen
6. Zusammenfassung
7. Literatur

¹ Herrn Prof. Dr. W. Steck zum 70. Geburtstag gewidmet.

1. Einleitung

Im I. und II. Teil unserer Beiträge zur Enzymdiagnostik in der Veterinärmedizin haben wir wiederholt auf die klinisch-diagnostische Bedeutung der SAP-Aktivitätsbestimmung aufmerksam gemacht. Es wurde darauf hingewiesen, daß die organische Herkunft des Enzyms umstritten ist und daß die Interpretation pathologischer Resultate sich auf Hypothesen stützen muß.

Auf Grund unserer damaligen Erfahrungen haben wir uns die Ansicht Gutmans [9] als Arbeitshypothese zur systematischen Untersuchung von Seren kranker Pferde zunutze gemacht und sie, als wahrscheinlich zutreffender, anderen Erklärungsversuchen vorgezogen.

2. Grundlagen und Problemstellung

In der klinischen Diagnostik menschlicher Erkrankungen hat die Bestimmung der SAP vorerst Bedeutung erlangt bei Knochenerkrankungen, kurze Zeit später auch bei Hepatopathien. Die Methode wurde als Leberfunktionsprobe angesehen und propagiert. Nach den Erfahrungen beim Menschen und nach allen experimentellen Befunden beim Hund (Choledochusligatur, Hepatektomie usw.) ist die SAP-Aktivitätsbestimmung zum mindesten bei diesen beiden Species als «Indikator für die Integrität der Gallenwege» anzusehen [13b]: Die Gutmansche Hypothese, die sich im wesentlichen mit der Retentionstheorie [13a] deckt, darf als gültig betrachtet werden. Sie besagt zusammengefaßt folgendes:

Dem Knochen beziehungsweise den Osteoblasten kommt als Quelle der normalen SAP-Aktivität unbestritten die wichtigste Rolle zu. Abweichungen von der Norm scheinen bei Knochenerkrankungen allein bedingt durch eine Aktivierung oder Inaktivierung der Enzymsynthese in den Osteoblasten. Die Aktivitätserhöhung bei Hepatopathien hingegen läßt sich auf eine Schädigung der Gallenwege zurückführen, die zur Folge hat, daß nur ungenügende Phosphatasekonzentrationen durch die Galle ausgeschieden werden können. Die Exkretion der AP scheint nur über eine sehr geringe oder keine Reservekapazität zu verfügen. Der Mechanismus der Exkretion ist unbekannt.

Bei der Untersuchung tierischer Seren sind des weitern die folgenden Erkenntnisse zu berücksichtigen: Die Messung der Gesamtaktivität der SAP vernachlässigt die Tatsache, daß es sich bei der SAP um ein Enzymgemisch verschiedenen Ursprungs handeln kann. Die Darmmucosa kommt bei der Ratte offenbar als Quelle eines Teils der SAP in Frage, beim Hund jedoch wahrscheinlich nicht. Andere Species wurden unseres Wissens in dieser Hinsicht nicht untersucht. Das Pferd weist nach den Befunden von Kolb [10c] als einzige der berücksichtigten Haustiergattungen in der Dickdarmschleimhaut höhere Phosphatasekonzentrationen auf als in der Dünndarmschleimhaut. Die Rolle dieser alkalischen Darmphosphatasen des Pferdes als Anteil an der SAP-Gesamtaktivität ist nicht abzuschätzen. Ausgeschieden wird die SAP beim Menschen, Hund und Kaninchen durch die Galle. Die Katze und wahrscheinlich auch das Meerschweinchen scheiden das Enzym durch die Nieren im Urin aus. Die geringen beim Menschen gemessenen Phosphataseaktivitäten im Urin stammen aus desquamierten Epithelzellen der proximalen Nierentubuli, die sehr enzymreich sind [13a]. Die im Pancreassekret ausgeschiedene Phosphatase wird offenbar in den Gang-

zellen synthetisiert und scheint in keinem Zusammenhang mit der SAP zu stehen. Im Kot ausgeschiedene alkalische Phosphatase besteht wohl aus nicht inaktiviertem, durch die Galle ausgeschiedenem Enzym und aus AP von desquamierten Epithelzellen und Mikroorganismen.

Das Leberparenchym ist eines der AP-armen Gewebe des tierischen Organismus. Der histochemische Nachweis der AP in der Leber kann beim Hund zur Darstellung der Gallenkapillaren verwendet werden, das Parenchym zeigt keine Reaktion; daneben sollen auch die Kupferschen Sternzellen und die Sinusoide AP enthalten. (Siehe hierzu besonders [13a].)

Arbeiten über *das Verhalten der SAP beim Pferd* sind nur in geringer Zahl zu finden. Earle beschreibt die Veränderungen des SAP-Spiegels bei Fohlen im Alter von einem Tag bis zu sechs Monaten [4], und auch aus den Normalwertbestimmungen Ungers läßt sich eine Altersabhängigkeit des SAP-Spiegels ersehen [14]. Kolb gibt in seinen Arbeiten [10a, b] auch Normalwerte für das Pferd an. Klinische Beobachtungen sind uns mit Ausnahme vereinzelter Angaben nicht bekannt. Die Schachtelhalmvergiftung soll nach Forenbacher beim Pferd zu einem SAP-Aktivitätsanstieg führen [6]. Pajtl hat am Modell der experimentellen Periostitis das Verhalten der SAP studiert: es kam bei seinen Versuchen im besten Fall zu relativen Erhöhungen der SAP-Aktivität [12]. Cornelius gibt in seiner Arbeit über das Verhalten der SGOT und der SICDH bei Lebererkrankungen des Pferdes einzelne SAP-Werte an, ohne auf ihre eventuelle Bedeutung einzutreten [3a]. Derselbe Autor erwähnt die alkalische Serumphosphatase als diagnostisches Hilfsmittel bei Pferdekrankheiten in seinem Buch über klinische Biochemie nicht [3b]. Sova und Jícha fanden bei chronischen und degenerativen Hepatopathien erhöhte SAP-Werte, bei CCl₄-Vergiftung in einem Fall einen leichten Anstieg. Die Autoren beurteilen die Methode beim Pferd als von begrenztem Wert (Sova Z., J. Jícha, Zbl. Vet. Med. Reihe A 10, 357, 1963).

Nach diesen Angaben scheint das Vorkommen der AP im Knochen des Pferdes sicher zu sein. Während des Wachstums lassen sich bei Fohlen erhöhte Aktivitäten messen. Wichtig scheint uns in diesem Zusammenhang, daß die Knochenphosphatase nicht dem Grundsatz der Enzymweichung, wie er als wahrscheinliche Hypothese im I. Teil erläutert wurde, zu folgen scheint: verantwortlich für die erhöhte SAP-Aktivität ist hier offensichtlich – im Gegensatz zum Verhalten anderer zellulärer Enzyme – nicht eine Zellschädigung, sondern allein eine vermehrte Enzymsynthese.

Problemstellung: Es ging uns bei unseren Untersuchungen darum, die Verwendbarkeit einer in der Humanmedizin bewährten Methode zur Aktivitätsbestimmung der SAP in Pferdeserum zu prüfen, Normalwerte für gesunde Pferde verschiedenen Alters zu errechnen und vor allem darum, abzuklären, ob sich die SAP-Aktivitätsbestimmung ähnlich wie beim Menschen und beim Hund zur Ikterusdifferentialdiagnose und eventuell zur Diagnose von Knochenerkrankungen heranziehen läßt. Wir versuchten, unsere empirisch gewonnenen und zum Teil an anderer Stelle schon kurz beschriebenen Resultate durch Organanalysen und durch histochemische Untersuchungen einiger Organe zu stützen. Ferner sollte auch der Weg der Ausscheidung von SAP beim Pferd einigermaßen geklärt werden.

3. Material und Methodik

Die untersuchten Pferde waren als Patienten während längerer Zeit in der stationären Klinik des Tierspitals Bern eingestellt.

Zur Technik der Serumgewinnung und -verarbeitung verweisen wir auf unsere früheren Angaben (7c).

Die Aktivitätsbestimmung erfolgte nach den Angaben von Bessey, Lowry und Brock [1] mit der Mikromethode «Schweizerhall» (siehe auch Richterich und Gautier [13c]). Alle Messungen erfolgten auf dem Spectrallinienphotometer «Eppendorf» bei 405 m μ .

Einheiten: internationale Einheiten (I.U.).

Organhomogenate: Organentnahme in frischem Zustand bei entbluteten, eben getöteten Pferden, zugleich Sektion. Die Organstücke wurden in Plastikbeuteln in ein eisgefülltes Dewargefäß gebracht. Möglichst rasch nach der Entnahme wurden aus dem Inneren der Organstücke 1 g schwere Teile mit einer Saccharoselösung (0.25 M, 5mM EDTA) zu 1:10 Homogenaten verarbeitet (Glashomogenisator nach Potter-Elvehjem, Homogenisierungsdauer 30 bis maximal 90'' bei Eiskühlung). Die Homogenate wurden sofort anschließend in einer Kühlzentrifuge bei 0–2°C während 10 Minuten zentrifugiert (18.000–20.000 g). Der Homogenatüberstand entspricht dem C-Raum nach Bücher [2]. Bis zum Zeitpunkt der Bestimmung wurden die Überstände in kleinen Portionen bei –16 bis –20°C eingefroren.

Harnproben: Frisch gewonnener Harn wurde durch Watte filtriert und anschließend eingefroren. Aktivitätsbestimmung wie im Serum.

Kotproben: Frischer Kot wurde im Verhältnis 1:10 in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt, gut durchmischt und eingefroren. Nach dem Auftauen Zentrifugieren während fünf Minuten bei 3000 U/min. Aktivitätsbestimmung sofort anschließend im Überstand.

Histochemische Untersuchungen: Methodik nach den Angaben von Grünfeld [8]. Ersatz des Substrates durch beta-Glycero-Phosphat. Inkubationsdauer für Leberschnitte 120 min, Niere 30 min, Darmmucosa 60 min.

Statistische Angaben: N_P = Anzahl Pferde, N_B = Anzahl Bestimmungen, m = arithmetisches Mittel, s = Standardabweichung, $m \pm 2s$ = physiologische Schwankung, $VK = \text{Variationskoeffizient } \frac{s}{m} \cdot 100$.

4. Resultate

a) Zur Methodik

Die methodische Schwankung der SAP-Aktivitätsbestimmung wurde an zwei verschiedenen Seren mit hoher Aktivität überprüft. Die Seren wurden in je 24 kleinen Portionen eingefroren. An acht Tagen wurden pro Serum je drei Bestimmungen durchgeführt. Die Ergebnisse des Versuches sind in Tabelle 1 aufgeführt.

Tabelle 1 Methodische Schwankung der SAP-Aktivitätsbestimmung

	m	s	VK
Serum A	72.75 I.U.	5.5	7.56%
Serum B	84.0 I.U.	7.5	8.9 %

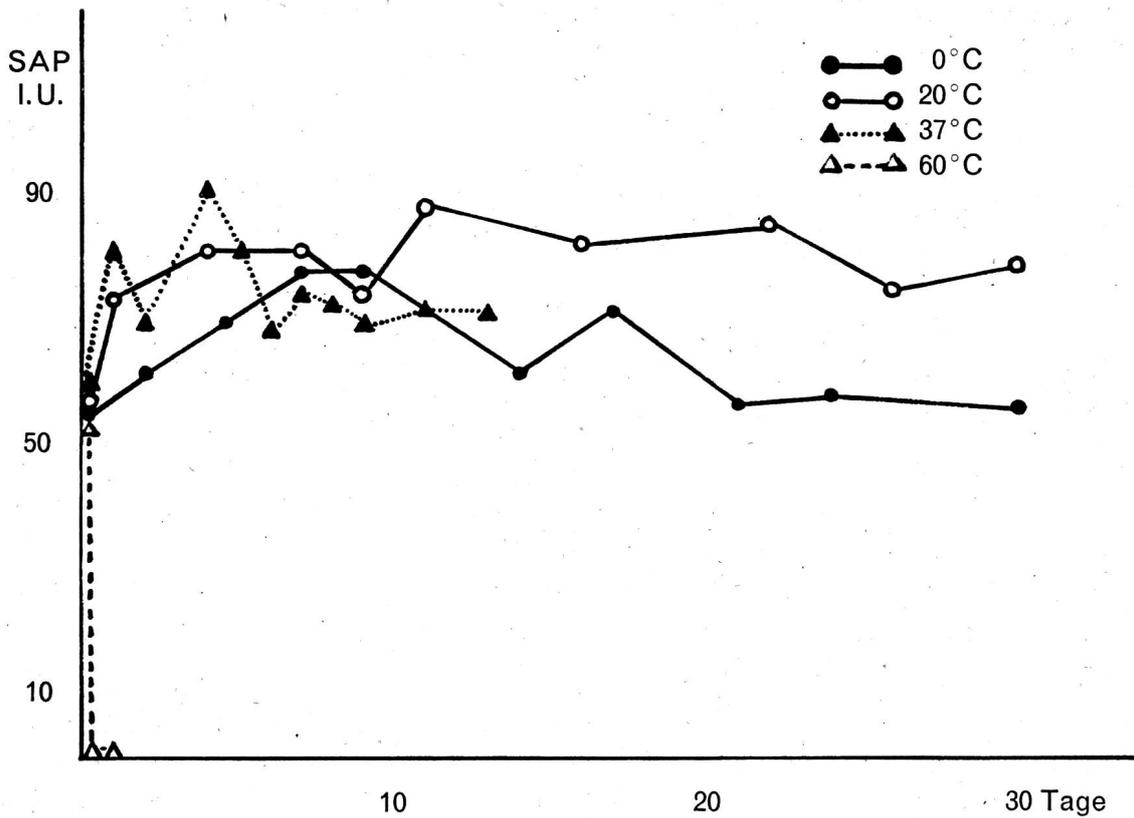


Abbildung 1 Der Einfluß verschiedener Lagerungstemperaturen auf die Aktivität der alkalischen Serumphosphatase des Pferdes

An einem Serumpool untersuchten wir die Verschiebungen der SAP-Aktivität bei verschiedenen Lagerungstemperaturen. Abbildung 1 veranschaulicht den Verlauf der beobachteten Schwankungen. Den Einfluß des Einfrierens und der Aufbewahrung in gefrorenem Zustand suchten wir an zehn willkürlich gewählten Seren verschiedener Pferde abzuklären. Die Seren waren 4–7 Monate eingefroren. Die Resultate sind in Tabelle 2 dargestellt.

Tabelle 2 Effekt des Einfrierens auf die SAP-Aktivität

	frisches Serum	gefrorenes Serum
m	60.7 I.U.	58.75 I.U.
Schwankung . . .	39–100 I.U.	40–91 I.U.

Da die Serumgewinnung beim Pferd immer mehr oder weniger Zeit in Anspruch nimmt, besteht die Möglichkeit einer Enzymdiffusion aus Blutzellen ins Serum. Wir haben versucht, den Einfluß der Blutzellen wenigstens einigermaßen zu erfassen. Zu diesem Zweck wurde gleichzeitig entnomme-

nes Blut von fünf Pferden auf verschiedene Weise verarbeitet. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 3 festgehalten.

Tabelle 3 Einfluß von Blutzellen auf die SAP-Aktivität

	Zitratplasma, sofort zentrifugiert	Serum		hämolytisches Serum (Kälte)
		nach 6 h vom Blutkuchen getrennt	nach 24 h	
m	53	75	82	304
NP		5		
NB		je 15		

b) Organhomogenate

In den wichtigsten Organen des Pferdes wurde nach dem beschriebenen Vorgehen die AP-Aktivität gemessen. Es ist nicht außer acht zu lassen, daß der heterogene Aufbau der Organe dabei vernachlässigt wurde und daß die submikroskopische Struktur des Zytoplasmas und die Wechselwirkungen zwischen den morphologischen Einheiten der Zelle nicht berücksichtigt werden. Diese Einwände, die v. Fellenberg et al. [5] gegen eine ähnliche von ihnen verwendete Versuchsanordnung anbringen, werden von den betreffenden Autoren ergänzt durch die Bemerkung, daß bestimmte Enzyme in verschiedenen molekularen Species (Isoenzyme) mit unterschiedlichen Substratoptima vorliegen. Wiewohl die einzelnen alkalischen Organphosphatasen nicht genau dem Begriff der Isoenzyme zu entsprechen scheinen, ist nicht zu erwarten, daß wir in allen Organen die tatsächliche Gesamtaktivität zu erfassen imstande sind. Tabelle 4 faßt unsere Untersuchungsergebnisse

Tabelle 4 AP-Aktivität in Organhomogenaten

Organ	relative Aktivität
Stammhirn	1.7%
Myokard (Septum)	0.7%
Skelettmuskel (Glutaeus)	1.0%
Milz	8.4%
Leber	7.3%
Pancreas	20.7%
Dünndarmmucosa ¹ (Duodenum)	22.0%
Dickdarmmucosa ¹ (Colon descendens)	4.3%
Nierenrinde	100.0%

¹. schlecht homogenisierbar

zusammen. Die angeführten Werte haben relative Bedeutung, indem die höchste gemessene Aktivität gleich 100 gesetzt und die übrigen Werte als Prozente dieser Aktivität angegeben werden. Die absoluten Werte wurden auf 1 g Feuchtgewicht bezogen. Die maximale Aktivität wurde in allen Fällen in der Nierenrinde gemessen (durchschnittlich 10,20 μ M Nitrophenol pro g Feuchtgewicht).

c) Histochemie

Dank der Unterstützung des veterinär-anatomischen Instituts war es uns möglich, in einigen der interessierenden Organen die zelluläre Lokalisation der AP zu untersuchen. Wir müssen allerdings gegen den Vergleich der histochemischen Resultate mit unseren übrigen Untersuchungen folgende Vorbehalte anbringen:

– es wird ein anderes Substrat verwendet. Es ist deshalb unsicher, ob wir histochemisch und kolorimetrisch dasselbe Enzym oder Enzymgemisch nachweisen.

– bei der Präparation der Schnitte geht ein großer Teil der Aktivität verloren. Eine quantitative Auswertung würde der Grundlage entbehren.

Tabelle 5 stellt der relativen Gesamtaktivität im Homogenat die zelluläre Lokalisation der AP im histochemischen Präparat gegenüber.

Tabelle 5 AP-Aktivität und zelluläre Lokalisation der AP in Leber, Nierenrinde und Darmepithel

Organ	rel. Aktivität	Lokalisation
Leber . . .	7	Gallenkapillaren und Wandungen der Sinusoide positiv. Ebenfalls Leukozyten. Leberzellen negativ.
Nierenrinde	100	Tubuli stark positiv. Glomerula negativ.
Darmepithel	22 bzw. 4	Stäbchensaum positiv.

d) Serumaktivitäten

Über unsere Normalwertbestimmungen und die Gesichtspunkte, nach denen wir eine Triage zwischen gesunden und erkrankten Pferden vorgenommen haben, wurde an anderer Stelle berichtet [7c]. Wir fanden bei gesunden, mehr als vierjährigen Pferden ohne Berücksichtigung von Rasse und Geschlecht die folgenden Normalwerte:

$$\begin{array}{l} N_p \quad m \pm 2s \quad \text{Schwankungsbereich} \\ 110 \quad 51 \pm 26 \quad 17-87 \text{ I.U.} \end{array}$$

Unsere Normalwerte stimmen ungefähr mit den umgerechneten Mittelwerten von Kolb (64 I.U.) und von Unger (75 I.U.) überein, allerdings ist der Vergleich wegen der abweichenden Methodik nicht schlüssig.

Nach Unger unterliegt der SAP-Spiegel nur geringen individuellen Schwankungen. Wir haben bei gesunden Pferden zum Teil ein sehr konstantes Verhalten, zum Teil

aber auch recht erhebliche Abweichungen innerhalb der physiologischen Schwankungsbreite gefunden. Bei vier über längere Zeit beobachteten Pferden mit verschiedenen Krankheitszuständen hat sich der SAP-Spiegel ebenfalls innerhalb der physiologischen Schwankung zum Teil beträchtlich verschoben.

Earle hat die Abhängigkeit des SAP-Spiegels vom Wachstum bei jungen Fohlen beschrieben, und Unger fand einen deutlichen Unterschied zwischen Pferden unter drei Jahren beziehungsweise über drei Jahren (98 bzw. 75 I.U. mit Schwankungen von etwa 65–170 bzw. 33–116 I.U.)¹. Wir haben nun alle Pferde, deren Phosphataseaktivität innerhalb der physiologischen Schwankung liegt und deren Zustand nicht auf eine pathologische Beeinflussung großer Parenchyme deutete, nach Altersklassen aufgetrennt (Tabelle 6).

Tabelle 6 Altersabhängigkeit der SAP-Aktivität beim Pferd

Alter	Np	m (SAP)	Schwankung
< 1 j.	1	123	—
1– 2	5	89.5	50–132
2– 3	16	60.0	38– 85
3– 6	34	57.2	28– 88
6– 9	57	56.9	27– 82
9–12	31	52.7	28– 82
12–15	31	45.0	26– 61
>15	2	44.5	—

Anderorts haben wir erwähnt, daß unsere Untersuchungen über das Verhalten der SAP beim erkrankten Pferd den Schluß zulassen, die SAP sei auch beim Pferd als Indikator für Schädigungen der Gallenwege und nicht des Leberparenchyms zu betrachten, vorausgesetzt, daß eine osteoblastische Hyperaktivität ausgeschlossen werden könne. Wir haben an jener Stelle diese Annahme tabellarisch zu stützen versucht und mit einer Kasuistik von sechs Leberfällen belegt [7c]. Wir möchten Wiederholungen vermeiden und unser erweitertes Material nach anderen Gesichtspunkten ordnen.

Tabelle 7 Aufteilung des verarbeiteten Materials (Krankheiten irgendwelcher Art)

	$< m - 2s$	$m \pm 2s$	$> m + 2s$ $< m + 3s$	$> m + 3s$	total
Np	4	137	17	27	185
NB	4	218	25	34	281

¹ Siehe auch Sova und Jicha.

Unser Material ist zu klein, um irgendwelche Folgerungen auf die praktische Bedeutung erniedrigter SAP-Aktivitäten zuzulassen. Wir beschränken uns auf die Zusammenstellung der erhöhten Werte, wobei die Resultate von Fohlen unter zwei Jahren nicht berücksichtigt werden sollen. Niedrige Werte wurden bei Erschöpfungszuständen und gewissen Knochenkrankheiten gefunden. Den Bereich zwischen $m + 2s$ und $m + 3s$ betrachten wir als verdächtig, Werte über $m + 3s$ als sicher erhöht.

Geordnet nach Krankheitsgruppen ergibt sich unter Einbezug aller

Tabelle 8 Erkrankungen des Skelettsystems

Diagnose	NP	$< m - 2s$	$m \pm 2s$	$\begin{matrix} > m + 2s \\ < m + 3s \end{matrix}$	$> m + 3s$
Frakturen					
Griffelbein	1	—	1	—	—
Strahlbein	1	—	1	—	—
Ulna	1	—	1	—	—
Darmbein	1	—	1	—	—
Rippen	1	—	—	—	1
akute Periostitis	2	—	1	1	—
Spat	2	—	2	—	—
Podotrochl. chr.	5	—	5	—	—
Carpitis traum.	1	—	1	—	—
Gonitis traum.	1	—	1	—	—
Coxitis?	2	1	—	1	—

Tabelle 9 Hautkrankheiten

Diagnose	Alter	SAP in I.U.
begrenzte lokale Dermatitis	10	41/39
Dermatitis chronica nodosa	6	80/78/82/70/70/ 54/////131
akutes, lokales Ekzäm	10	87
Ekzema squam. chronic. general.	5	113/114
leichtgradige Trichophythie	5	54
	12	54
hochgradige, ausgebreitete Trichophythie	5	100
Parafilariosis	5	123
Quecksilberexanthem, generalisiert	10	162
Pododermatitis traumatica	10	63
	10	87
akute Hufrehe	13	43 (seit 10 Tagen)
	9	79
	6	102
	9	104
	9	107
	6	117

untersuchten Pferde das in den folgenden Tabellen dargestellte Bild (Tabellen 8–12).

In den Tabellen 8, 9, 10 und 11 sind 32 Fälle mit erhöhter SAP-Aktivität enthalten (14 Pferde mit Aktivitäten zwischen 77 und 90 I.U., 19 Pferde

Tabelle 10 Infektion mit dem Virus der infektiösen Anämie

Diagnose	Alter	SAP in I.U.
latente bis subklinische Infektion (gesichert)	16	61
	18	82/86
	18	85
	20	87
chron. I.A. (Verdachtsdiagnose)	6	52/52
	8	74
	8	80
	12	50
	12	52

Tabelle 11 Verdauungskrankheiten, einschließlich aller Zustände mit sicherer sekundärer Leberbeteiligung

Diagnose	Alter	SAP in I.U.
rezidivierende Kolik nach Anamnese; hier ohne Befund	7	50
Intoxikation mit leichter Kolik, Fieber und gesichertem Leberschaden (BSP)	12	48–74
leichte spastische Obstipation und geringe Magenüberladung	30	89
spastische Obstipation	11	98
spastische Obstipation mit anschließendem Darmkatarrh	16	173
Dünndarmulkus mit ausgedehnter bindegewebiger Reaktion, terminal Kolik	4	130/123
Dünndarmulkus?	4	140/210
Dünndarmstriktur mit sicherer schwerer Gallenwegschädigung	7	1000/1250
Kolonanschoppung (durch unreifes Pankreasblastom mit mittelgradigem Gallenwegschaden	2½	259/410/411
Grasobturation (Kolon)	13	155
febriliter Darmkatarrh	9	63–69
chronischer Darmkatarrh	5	80/88
	6	88
	11	62
Allgemeininfektion mit Leberbeteiligung	9	26–57
Pleuritis mit Leberbeteiligung	5	108
Aspirationspneumonie, alter Leberschaden	16	52 (197
Bronchopneumonie, I.A., Leberschaden (Zirrhose)	6	hämolytisch) 24–89

91 und mehr I.U. Der Fall von Dermatitis chronica nodosa wurde in jeder Gruppe gezählt. Vgl. Tabelle 9). Tabelle 12 gibt eine Übersicht über die restlichen kranken Pferde mit erhöhten Aktivitäten.

Tabelle 12 Weitere Zustände mit erhöhter SAP-Aktivität

Diagnose	Alter	SAP in I.U.
Inappetenz ev. durch Futterschädlichkeit . . .	7 j.	80
neurogene Ataxie der Hinterhand (?)	11 j.	81/82
Untersuchung nach Kopperoperation	2½ j.	85/65/67/67/65/41/64/59
Kastration vor 2 Tagen (männl.)	2 j.	91
Kastration vor 2 Tagen (männl. Pony)	9 j.	116
Oesophagusektasie	5 Mo.	123
Kastration vor 2 Tagen (männl.)	2 j.	132
Trächtigkeit (Pony)	4 j.	135
chron. Herz- und Kreislaufschwäche mit akutem Kollaps (Leber: chron. enterogen- toxisch bedingte, portobiliäre Hepatitis mit mäßiger Zirrhose; siehe auch unten).	2 j. 2 j. 2 j.	138 165 218

e) Aktivitätsbestimmungen im Harn

Wir haben Harn einer kleineren Anzahl Pferde untersucht und dabei immer eine meßbare AP-Aktivität festgestellt. Die Ergebnisse der Bestimmungen sind in Tabelle 13 zusammengefaßt.

Tabelle 13 AP-Aktivität im Pferdeharn

	Np	m	Schwankung
gesunde Pferde	18	6.3	3-12 I.U.
Pferde m. erhöhter SAP	9	8.7	5-15

f) Aktivitätsbestimmungen im Kot

Tabelle 14 gibt die in der zentrifugierten Kotalaufschwemmung einiger Pferde gemessenen AP-Aktivitäten an.

Tabelle 14 AP-Aktivität in Pferdekot

	Np	m	Schwankung
gesunde Pferde	15	5.7	2-6 I.U.
Pferde m. Darmkatarrh	4	7.0	0-14

5. Diskussion

a) Kritik der Methode

Prinzipiell ist gegen jede Methode zum Nachweis der AP-Aktivität einzuwenden, daß dem Enzym ein unphysiologisches Substrat angeboten wird. Das physiologische Substrat ist unbekannt, und auch über die physiologische Funktion der AP in den einzelnen Organen können nur Vermutungen angestellt werden.

Die methodische Schwankung der Bestimmungen mit dem hier verwendeten Verfahren ist für eine kolorimetrische Methode zum Nachweis von Enzymaktivitäten gering. Auch wenn angenommen wird, daß im Routinebetrieb der Variationskoeffizient etwa doppelt so groß werden kann, ist die erzielte Genauigkeit befriedigend (Tabelle 1).

Unsere ersten Versuche mit Serumpools zur Abklärung der Stabilität der SAP-Aktivität im Pferdeserum bei längerer Lagerung mußten nach einigen Tagen wegen bakterieller Verunreinigung abgebrochen werden. Steril gewonnene und abgefüllte Serumproben bestätigten dann allerdings, daß die Aktivität innert der ersten Tage bei Zimmertemperatur unregelmäßig ansteigt. Bei Kühlschranks- und Körpertemperatur ist das Verhalten ähnlich. Erstaunlich und befremdend wirkt aber die Tatsache, daß nach dreißig Tagen das Niveau des SAP-Spiegels von frischem Serum noch nicht wieder erreicht ist (Abb. 1). Die Schwankungen innerhalb der einzelnen Messungen gehen zum Teil über die methodische Fehlerbreite hinaus. Der Anstieg kann offenbar von völlig normalen bis zu verdächtigen oder sogar knapp pathologischen Werten erfolgen. Diese Umstände ließen uns am Enzymcharakter der Reaktion zweifeln. Immerhin ist hervorzuheben, daß eine Temperatur von 60°C eine Reaktion verunmöglicht und daß sofortiges Einfrieren von Seren auch nach Monaten ausschließlich Werte ergeben hat, die innerhalb des methodischen Fehlers liegen. Es besteht jedenfalls die Möglichkeit, Seren so lange gefroren aufzubewahren, bis eine genügende Anzahl beisammen ist und dann Serienmessungen mit demselben Standard durchzuführen (Tabelle 2).

Eine Enzymdiffusion aus Blutzellen ins Serum während der Spontanausscheidung scheint nach unseren Befunden stattzufinden (Tabelle 3). Es ist aber nicht ausgeschlossen, daß Antikoagulantien auch die SAP-Aktivität etwas zu hemmen vermögen. Wir sind jedenfalls bei der Methode der spontanen Serumausscheidung geblieben. Hämolytisches Serum liefert in jedem Fall erheblich zu hohe Werte.

Es sind bei der Durchführung von SAP-Aktivitätsbestimmungen folgende Regeln zu beachten:

1. Ein Hinausschieben der Bestimmung, ohne daß das Serum eingefroren wird, führt zu falschen hohen Werten.
2. Aktivitätsverluste treten bei eingefrorenem Serum praktisch nicht auf.
3. Fälschlich erhöht scheinende Werte treten auch auf bei allzu langem

Warten mit der Trennung von Serum und Blutkuchen. Es ist mit einer möglichst konstanten Gewinnungszeit zu arbeiten, um vergleichbare Resultate zu gewährleisten.

4. Hämolytische Seren sind zu verwerfen.

Die beschriebene Methode eignet sich bei Beachtung dieser Regeln gut zum Nachweis der SAP-Aktivität im Pferdeserum. Es kann mit einer guten Reproduzierbarkeit der Resultate gerechnet werden.

b) Klinische Beobachtungen

Eine Altersabhängigkeit der SAP-Konzentration kommt auch bei erwachsenen Pferden zum Ausdruck, jedoch mit dermaßen breiten Übergangszonen, daß von einer diagnostischen Verwertung abgesehen werden muß. Wir haben schon erwähnt, daß Werte zwischen 77 und 90 I.U. als verdächtig anzusehen seien – um so mehr natürlich, je älter das betreffende Pferd ist –, daß aber als sicher pathologisch nur die Aktivitäten über 90 I.U. gewertet werden dürfen (Tabelle 6).

Die Organuntersuchungen in Homogenatüberständen haben ergeben, daß die Nierenrinde in allen Fällen bei weitem die höchste Aktivität der untersuchten Organe aufweist. Pankreas und Dünndarm zeigen ebenfalls eine recht hohe Aktivität. Zu den Homogenaten von Darmmucosa ist allerdings zu sagen, daß uns nur in einem Fall ein brauchbares Homogenat gelungen ist; die Werte sind nicht schlüssig, immerhin ist der Unterschied zwischen Kolon und Duodenum beträchtlich. Milz und Leber sind enzymarm, die vorhandene Aktivität ist möglicherweise in der Milz auf Blutzellen zurückzuführen und in der Leber auf Blut, Galle, Gallengangs- und Sinusoidwandungen. Am wenigsten meßbare Aktivität haben wir im Gehirn, Skelettmuskel und im Myokard gefunden (Tabelle 4).

Die histochemischen Untersuchungen von Leber, Niere und Darmepithel haben gezeigt, daß das Leberparenchym des Pferdes praktisch enzymfrei zu sein scheint, hingegen werden die Gallengänge sehr deutlich dargestellt. Daneben reagieren auch die Sinusoide und vereinzelt Blutzellen positiv (Leukozyten). In der Nierenrinde fällt auf, daß die Glomerula negativ reagieren, gewisse Tubuli (proximale?) jedoch stark positiv. Im Dünndarm- und im Dickdarmepithel ist vorwiegend der Stäbchensaum deutlich AP-positiv (siehe Abb. 2 und 3, Tabelle 5).

In 27 Harnproben konnten wir immer eine meßbare AP-Aktivität feststellen. 9 Pferde mit erhöhter SAP-Aktivität zeigen im Mittel auch eine etwas höhere Aktivität im Harn, doch schließen die geringe Anzahl Untersuchungen und das sehr ausgeprägte Überschneiden der Werte beider Gruppen jede diagnostische Interpretation aus. Ob AP durch die Nieren ausgeschieden wird oder nicht, läßt sich kaum sagen. Wahrscheinlich scheint uns aber auch beim Pferd, daß die Harnaktivität von Tubulusepithelien her-

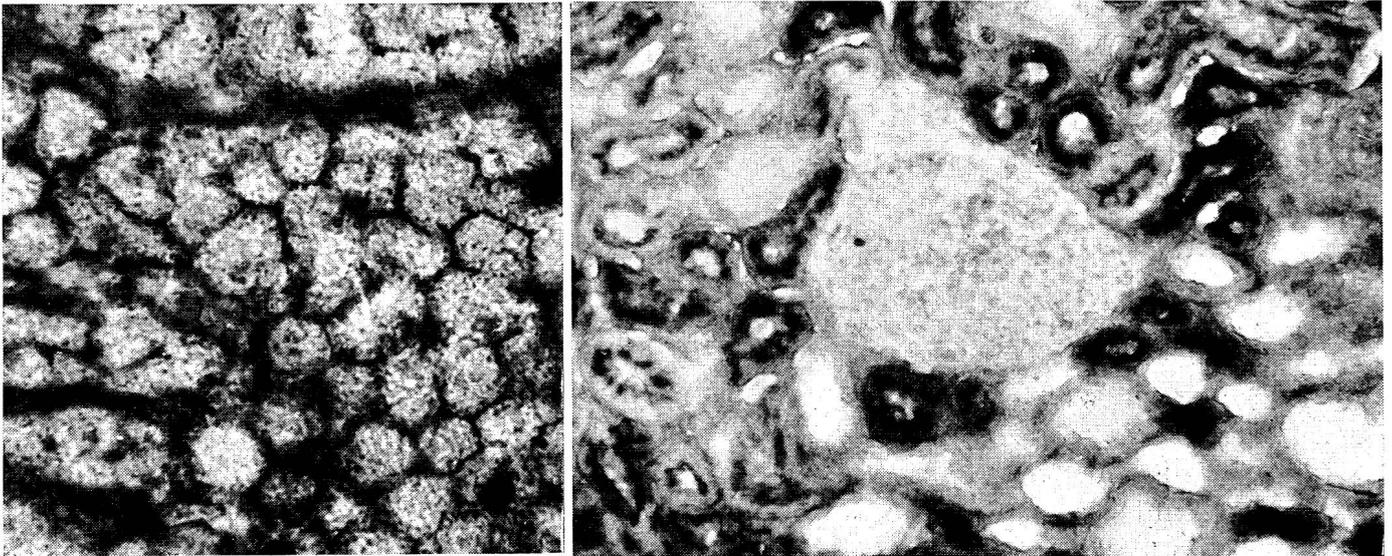


Abbildung 2

Abbildung 3

Abbildung 2 AP-Reaktion im Lebergewebe des Pferdes. Leberzellen negativ (Vergleich mit negativen Kontrollen), Gallenkanälchen deutlich positiv. Vergrößerung $550\times$. Photo Prof. Mosimann.

Abbildung 3 AP-Reaktion in der Nierenrinde des Pferdes. Glomerulum negativ, gewisse Tubuli stark positiv. Vergrößerung $135\times$. Photo Prof. Mosimann.

(Die Schnitte wurden alle mit negativen Kontrollen ohne Substrat verglichen.)

kommt und nicht auf einer eigentlichen Ausscheidung beruht (negative Glomerula im histochemischen Präparat) (Tabelle 13).

Die Aktivitätsbestimmungen im Kot (Zentrifugierüberstand einer Aufschwemmung) ergaben ebenfalls mit einer Ausnahme immer meßbare Aktivitäten. Eine eigentliche SAP-Ausscheidung durch die Darmmucosa ist nicht anzunehmen. Es dürfte sich um nicht inaktiviertes Enzym aus der Galle handeln. Daneben sind wohl auch desquamierte Darmepithelien und Mikroorganismen beteiligt. Bei längerer Aufbewahrung der Aufschwemmung vor dem Einfrieren steigt die Aktivität etwas an (Tabelle 14).

Aus den Tabellen 8–12 geht hervor, daß sich die Fälle mit erhöhten SAP-Aktivitäten in bestimmte Krankheitsgruppen einordnen lassen. Um den diagnostischen Wert und die mögliche Signifikanz der Resultate objektiver beurteilen zu können, haben wir in diesen Zusammenstellungen auch alle anderen Pferde mit ähnlichen Krankheiten aufgeführt. Wir kommen bei der Beurteilung der Resultate zu folgenden Schlüssen:

In der Diagnostik der üblichen Knochenkrankheiten dürfte die SAP-Aktivitätsbestimmung beim Pferd von keinem Nutzen sein. Unkomplizierte Frakturen und lokale akute und chronische Periostitiden ergeben etwa verdächtige und hochnormale Werte, die aber unter allen Umständen insignifikant ausgefallen sind. Eine Ausnahme macht eine Rippenfraktur oder Rippenexartikulation (101 I.U.): bei diesem Pferd ist aber eine innere Ursache für die Erhöhung nicht sicher ausgeschlossen.

Eigentümlich muten die Ergebnisse unserer Untersuchungen bei gewissen Hautkrankheiten an (aus bestimmten Gründen sind hier die Fälle von Pododermatitis mitberücksichtigt). Es fällt auf, daß ausnahmslos alle Fälle mit deutlich erhöhter SAP-Aktivität auf allergischer, auch toxischer oder infektiöser Ursache beruhen. Als Allergien sind wohl die akuten Fälle von Hufrehe zu werten, ferner das ausgebreitete squamöse Ekzem (Insektenallergie), möglicherweise auch der Fall von Parafilariosis. Das Quecksilberexanthem (Abusus von grauer Salbe) entwickelt sich vermutlich ebenfalls auf allergischer Grundlage. Schlecht einzuordnen ist der als Dermatitis nodosa chronica bezeichnete Fall, bei dem zu Beginn immer verdächtige Werte gemessen wurden, unter der Behandlung dann normale und 2 Monate nach der Entlassung wieder ein sehr deutlich erhöhtes Resultat erhalten wurde. Bei diesem Pferd entsprach das klinische Bild ungefähr der als tuberkulös geschilderten Hautkrankheit (Mocsy und Jarmai, 11). In unserem Fall kommt allerdings ein aus excidiertem Gewebe isolierter Candidastamm als Erreger in Frage (Nicolet, Steck und Gerber, in Vorbereitung). Der Mechanismus der SAP-Aktivitätserhöhung in diesen Fällen ist unklar. Als hyperergisch reagierende Elemente kommen die Osteoblasten, eventuell die Erythrozyten, am wahrscheinlichsten jedoch das Gallenwegsystem in Frage (sog. Schockorgane). Wir neigen dazu, das Gallenwegsystem als verantwortlich für die beobachteten Phänomene anzusehen.

Wir haben bei dreien von vier sicher mit dem Virus der infektiösen Anämie infizierten Pferden (latente bis subakute Infektion) erhöhte Werte gefunden. Da es sich um sehr alte Tiere handelt, ist die Erhöhung wahrscheinlich signifikant, keineswegs jedoch typisch für infektiöse Anämie, wie die Gegenüberstellung von fünf weiteren chronisch erkrankten Tieren zeigt (vier normale, ein verdächtiger Wert).

Alle Fälle von Verdauungskrankheiten, die mit einer Hyperphosphatämie einhergegangen sind, ließen Veränderungen enterogener Natur im portobiliären Raum vermuten. Reine hepatozelluläre Veränderungen scheinen auch beim Pferd zu keiner SAP-Aktivitätserhöhung zu führen. Die Aktivität steigt graduell mit zunehmendem Ausmaß der Veränderungen im Gallengangsystem und der umgebenden Gewebe an, wie die folgende Zusammenstellung demonstriert (Tabelle 15).

Veränderungen im portobiliären Raum scheinen demnach ursächlich mit SAP-Aktivitätserhöhungen zusammenzuhängen. Histochemisch können im portobiliären Raum keine andern phosphatasepositiven Strukturen nachgewiesen werden als Gallengangendothelien und Sinusoide. Es ist deshalb anzunehmen, daß auch bei morphologisch nicht sichtbaren Veränderungen der eigentlichen Gallenwege, diese in ihrer physiologischen Funktion durch mesenchymale Prozesse im portobiliären Raum soweit beeinträchtigt werden können, daß eine verminderte Phosphataseausscheidung resultiert. Der Befund spricht jedenfalls auch dafür, daß die SAP-Exkretion in die Galle kaum über eine Reservekapazität verfügt. Wir nehmen deshalb an, daß die

Tabelle 15 SAP-Aktivität und Leberveränderungen

Diagnose	Sicherung	Alter	SAP-Akt. max.	Gesamt-bilirubin max.
schwere allgemeine Infektion mit Leberschaden	BSP	9 j.	57 I.U.	6.0 mg%
fiebrhafte Kolik mit Leberschaden	BSP	12	74	5.8
geringe portobiliäre und diffuse Hepatitis	hist.	17	72	1.7
Infiltration der portobiliären Interstitien	hist.	6	89	2.9
mäßige portobiliäre Reizung und Zirrhose	hist.	4½	108	5.5
mittelgr. chronische portobiliäre Hepatitis mit Infiltration	hist.	4	130	0.6
chronische portobiliäre Hepatitis mit Stauungsinduration und Zirrhose	hist.	2	138	3.7
		2	165	2.3
		2	218	3.1
Fibroblastenproliferation und Wucherung der Gallengänge in portobiliären Raum, gestaute Gallengänge	hist.	2½	411	12.9
schwere Gallengangproliferation	hist.	7	1250	12.65

bei Verdauungskrankheiten auftretenden, in ihrem Grad offensichtlich von der Schwere pathologischer Veränderungen im portobiliären Raum abhängenden SAP-Aktivitätserhöhungen auf einer enterogenen Beeinflussung des Gallenwegsystems beruhen. Weit weniger wahrscheinlich scheint uns eine direkte Beteiligung der Darmphosphatase an der Erhöhung im Serum. Enterogene Faktoren spielen möglicherweise bei den Fällen von leichter Steigerung bei infektiöser Anämie eine Rolle, wenn auch Veränderungen des portobiliären Raumes, wie sie bei infektiöser Anämie auftreten können, ursächlich daran beteiligt sein mögen.

Die Fälle von Tabelle 12 lassen sich einigermaßen zwanglos aus dem bisher Gesagten erklären:

Der erste und die drei letzten Fälle gehören zu den enterogenen Schädigungen des Gallenwegsystems. Die drei letzten sind auch in Tabelle 15 aufgenommen worden. Der 3., 4. und 6. Fall sind dem jugendlichen Alter der Tiere zuzuschreiben. Möglicherweise spielt die Narkose, eventuell auch die Operation an sich, bei den Kastrationen eine Rolle (siehe 7. Fall). Ponies scheinen höhere SAP-Aktivitäten aufzuweisen als Pferde. Wir untersuchten bisher drei Tiere, wovon nur eines mit einem Darmkatarrh: alle Ponies wiesen Aktivitäten über 100 I.U. auf (Fälle 5 und 8). Im Fall 2 sind wir um eine Interpretation der erhöhten Aktivität verlegen. Die Erkrankung des Pferdes konnte nicht mit Sicherheit diagnostiziert werden.

Die Bestimmung der Aktivität der alkalischen Serumphosphatase ist beim Pferd demnach geeignet, eine Ikterusdifferentialdiagnose zu erleichtern. Wenn parallel zur SAP-Bestimmung die Messung der Bilirubinkonzentrationen

tration durchgeführt wird, lassen sich in einigen Fällen noch etwas weitergehende Schlüsse verantworten. Allein ist die Bilirubinkonzentration im Pferdeserum von sehr geringer diagnostischer Bedeutung, zusammen mit der SAP-Bestimmung gewinnt sie an Wert. Wie jedoch aus Tabelle 15 schon hervorgeht, gehen Bilirubin- und Phosphataspiegel keineswegs parallel. Unsere Untersuchungen erstrecken sich noch nicht über genügend Fälle, als daß wir in der Lage wären, über die Zusammenhänge und die diagnostische Bedeutung der Relation Bilirubin-SAP sicher zu urteilen. In einer späteren Arbeit werden wir auf die Ikterusdifferentialdiagnose näher eingehen im Zusammenhang mit Transaminasebestimmungen und Aktivitätsbestimmungen relativ gut leberspezifischer Enzyme.

c) Praktische Konsequenzen

Wenn auch der strikte Beweis der SAP-Ausscheidung durch die Galle in diesem Beitrag nicht geführt werden konnte (wir hatten keine Gelegenheit, Galle direkt zu untersuchen), glauben wir doch auf Grund der histochemischen Untersuchungen und der empirisch gewonnenen Erfahrungen in der Klinik, zur Annahme berechtigt zu sein, daß die SAP-Aktivitätsbestimmung zur Erfassung von Gallenwegschäden beim Pferd beitragen kann. Insbesondere sind hohe Werte von diagnostischem Nutzen. Geringere Erhöhungen bei Verdauungskrankheiten bedürfen zur Erhärtung ihrer diagnostischen Bedeutung der Bestätigung an umfangreichem Material. Vielmehr noch trifft dieser Vorbehalt zu auf die Gruppe von Krankheiten, bei denen eine hyperergische Reaktion vorzuliegen scheint. Für die bisher untersuchten Knochenkrankheiten ist die Methode diagnostisch wertlos. Die Ikterusdifferentialdiagnose erfährt durch die SAP-Bestimmung bestimmt eine Bereicherung, vor allem auch, weil die SAP bei chronischen Prozessen im portobiliären Raum in erhöhter Serumkonzentration vorliegt, während doch die zellulären Enzyme jeweils nur bei akuten Zellschäden gesteigerte Aktivitäten aufweisen.

Zusammenfassung

Es wird über die Bestimmung der alkalischen Serumphosphatase (SAP) beim Pferd berichtet. Einige methodische Probleme werden gestreift, die für die Bestimmung im klinischen Labor von Bedeutung sein können. Mit erhöhten SAP-Werten ist nach dem ausgewerteten Material besonders zu rechnen bei Verdauungskrankheiten mit sekundärer, enterogener Beeinflussung der portobiliären Gebiete, ferner offenbar auch bei allergisch bedingten Erkrankungen (Hautkrankheiten). Physiologisch erhöhte Werte finden sich bei jungen Tieren. Das Problem der Ikterusdifferentialdiagnose beim Pferd wird kurz erwähnt.

Résumé

Rapport sur la détermination de la sérophosphatase alcaline (SAP) chez le cheval. On effleure quelques problèmes méthodiques qui peuvent présenter quelque intérêt pour cette détermination en laboratoire clinique. Il faut compter sur une élévation des valeurs SAP, selon le matériel apprécié, surtout lors d'affections des organes

digestifs, avec influence secondaire, entérogène, sur les zones portobiliaires et lors de maladies allergiques (affections cutanées). On trouve des titres accrus physiologiquement également chez de jeunes animaux. On rappelle brièvement le diagnostic différentiel d'ictéris chez le cheval.

Riassunto

Si fa riferimento alla determinazione della fosfatasi sierica alcalina (fsa) nel cavallo. Si sfiorano alcuni problemi metodici che potrebbero essere importanti per la determinazione nel laboratorio clinico. In relazione ai valori elevati di tale fosfatasi sulla base del materiale sfruttato si deve pensare soprattutto a malattie digerenti con effetto enterogeno secondario delle regioni portobiliari, inoltre in modo manifesto anche a malattie allergiche (forme cutanee). Dei valori fisiologici elevati si riscontrano nei giovani animali. Si accenna brevemente, in diagnosi differenziale all'itterizia nel cavallo.

Summary

A report is given of the diagnosis of alkali serumphosphatase (SAP) in the horse. Some problems of method are mentioned, which may be of importance for the diagnosis in the clinical laboratory. According to the material dealt with, increased SAP values are to be expected particularly in digestive disorders with secondary enterogenous affection of the portobiliary areas, and also apparently in allergic conditions (skin diseases). Physiologically higher values are found among young animals. The problem of icterus differential diagnosis in the horse is briefly mentioned.

Literatur

[1] Bessey O. A. et al.: *J. Biol. Chem.* 164, 321 (1946). – [2] Bücher Th., M. Klingenberg: *Angew. Chem.* 70, 552 (1958). – [3a] Cornelius C. E.: *Cornell Vet.* 51, 559 (1961). – [3b] Cornelius C. E.: *Clin. Biochemistry of Domestic Animals*, Acad. Press, NY u. London, 1963. – [4] Earle I. P.: *J. Anim. Sci.* 11, 191 (1952). – [5] Fellenberg v. R., et al., *Biochem. Z.* 336, 334 (1962). – [6] Forenbacher S.: *Schweiz. Arch. Thk.* 94, 153 (1952). – [7a] Gerber H.: *Schweiz. Arch. Thk.* 105, 529, (1963). – [7b] Gerber H.: *Schweiz. Arch. Thk.*, 106, 85 (1964). – [7c] Gerber H.: *Zbl. Vet. Med., Reihe A*, 11, 135 (1964). – [8] Grünfeld J. F.: *Diss. vet.*, Bern (1963). – [9] Gutman A. B.: *Amer. J. Med.* 27, 875 (1959). – [10a] Kolb E.: *DTW* 62, 342 (1955). – [10b] Kolb E.: *Naturwissenschaften* 42, 418 (1955). – [10c] Kolb E., G. Wujanz, *Zbl. Vet. Med.* 6, 118 (1959). – [11] Mocsy u. Jarmai, in: *Hutyra – Marek – Manninger – Mocsy, Spez. Path. u. Ther. d. Hst.*, 2. Bd., 11. Aufl., S. 867; Fischer, Jena (1959). – [12] Pajtl M.: *Ber. XVII. Welt-Tierärztekongreß*, S. 1223, Hannover (1963). – [13a] Richterich R.: *Enzymopathologie*, Springer, Berlin usw. (1958). – [13b] Richterich R.: *Enzymdiagnostik in der Praxis*; in: *Alm. f. ärztl. Fortbildg.*, S. 137, Lehmann, München (1962). – [13c] Richterich R., E. Gautier: *Schweiz. Med. Wschr.* 92, 781 (1962). – [14] Unger G.: *Diss. vet.*, Berlin FU (1957). – Weitere Literatur ist zu finden bei [3b, 7a, 7b, 9, 13a, 14].

Besonderen Dank schulden wir den Herren: Prof. Dr. H. Aebi und PD Dr. R. Richterich für die Erlaubnis, im medizinisch-chemischen Institut arbeiten zu dürfen, Prof. Dr. H. Hauser und seinen Mitarbeitern für die Überlassung der histologischen Untersuchungsberichte (veterinär-pathologisches Institut), Prof. Dr. W. Mosimann und cand. vet. P. Weber für die Herstellung und Interpretation der histochemischen Präparate (veterinär-anatomisches Institut, Prof. Dr. H. Ziegler). Herrn Prof. Mosimann sind wir auch für die Anfertigung der Photographien verpflichtet.