

Über die Bestimmung der Trypsin- und Chymotrypsinaktivität im Kot von Hunden und ihre Bedeutung für die Diagnose der chronische exokrinen Pankreasinsuffizienz

Autor(en): **Freudiger, U. / Berger, G.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **113 (1971)**

Heft 4

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-590310>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus der Medizinischen Tierklinik der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. U. Freudiger)

Über die Bestimmung der Trypsin- und Chymotrypsinaktivität im Kot von Hunden und ihre Bedeutung für die Diagnose der chronischen exokrinen Pankreasinsuffizienz

Von U. Freudiger und G. Berger

I. Einleitung

Die klinische Diagnostik der exokrinen Pankreasinsuffizienzen des Hundes basiert bis heute immer noch auf der Bewertung der klinischen Symptome (Abmagerung, schaumig-säuerliche, entfärbte massige Stühle, eventuell mit makroskopisch sichtbarer Fettbeimengung und häufig Heißhunger). Damit gelingt aber nur die Erfassung weit fortgeschrittener und meist irreversibler Insuffizienzen (chronische Pankreatitis), die auf dem morphologischen Substrat der Pankreasfibrose und Pankreasatrophie oder von Neoplasmen beruhen.

Selbst diese fortgeschrittenen Fälle entgehen nicht selten der klinischen Diagnose, oder die Diagnose kann nur den Grad einer Wahrscheinlichkeitsdiagnose beinhalten. Malabsorption, Leber- und Gallenwegstörungen, Enteritiden verschiedener Grade und Lokalisationen usw. können zu Fehldiagnosen verleiten. Versuche, durch biochemische und funktionelle Untersuchungen die Pankreaserkrankungen abzuklären, fehlen beim Hund weitgehend. Die wenigen Versuche basieren meist auf wenig aussagekräftigen (Amylase, Lipase) oder veralteten und durch viele andere Faktoren beeinflussbaren Methoden (makroskopische Kotbeurteilung auf Menge, Konsistenz, Fettgehalt und Verdauung, mikroskopischer Nachweis von Fett und Stärke und unverdauten Muskelfasern, tryptische Stuhlaktivität, zum Beispiel mit Hilfe der Röntgenfilm- oder Plattenverfahren usw). Serumenzymuntersuchungen haben sich als wenig ergiebig erwiesen. Wohl kommt es bei der akuten Pankreatitis und während der akuten Schübe chronischer Affektionen als Folge der Parenchymzerstörung zu einer vorübergehenden Erhöhung der Serumenzymaktivitäten der Lipase und Amylase. Bei chronischen Fällen bleiben aber die Serumenzyme innerhalb des Normbereiches.

Die beim Hund vorkommenden und in der Literatur vermeldeten Fälle betrafen fast ausschließlich chronische Pankreatitiden. Zudem stellen die Ergebnisse der experimentellen Untersuchungen von F. Largiadèr, H. Rosenmund und A. Jakob (1968) die Brauchbarkeit der Amylaseaktivitätsbeurteilung für die Pankreasdiagnostik überhaupt in Frage. Diese Autoren fanden nach totaler Pankreatektomie bei Versuchshunden keine signifikante Herabsetzung des Amylaseblutspiegels und ziehen daraus den Schluß, daß neben dem Pankreas noch andere Organe wesentlich zur Serumamylaseproduktion beitragen. Der Bestimmung der proteolytischen Stuhlenzyme ist wegen der Ungenauigkeit und Störungsmöglichkeit durch extrapankreatische Faktoren in den letzten Jahrzehnten in der Humanmedizin, mit Ausnahme der Pädiatrie, nur mehr geringe Bedeutung zugemessen worden. Als zuverlässigster Test zur Beurteilung der exkretorischen Funktionen gilt der Pankreozymin-Sekretin-Test. Dieser aufwendige Test, der nach Stimulierung durch die Hormone Pankreozymin und Sekretin die Duodenalsaftmenge, die Bikarbonatkonzentration und den Enzymgehalt pro Zeiteinheit erfaßt, ist, soweit uns bekannt, bisher in der Veterinärmedizin nicht geprüft worden.

Erst seitdem es möglich geworden ist, Trypsin und Chymotrypsin im Kot mit Hilfe spezifischer synthetischer Substrate quantitativ zu bestimmen, erhält die Stuhlenzymdiagnostik wieder vermehrte klinische Beachtung. Diese unseren Untersuchungen zugrunde liegenden Methoden wurden erstmals von Haverback in die Klinik eingeführt und seitdem von R. Ammann und Mitarbeitern (1964, 1966, 1967, 1968, 1969) an einem großen Krankengut der medizinischen Universitätspoliklinik Zürich auf ihre Zuverlässigkeit für die Pankreasdiagnostik untersucht. Einer der Vorteile gegenüber den älteren Methoden der Bestimmung der tryptischen Kotaktivität ist, daß die Trypsin- und Chymotrypsinaktivität im Kot fast ausschließlich pankreatogener Herkunft ist. Nach operativer totaler Trennung des Pankreas vom Duodenum fand M.I. Grossmann (1962) bei Vergleich mit den mittleren Kotenzymaktivitäten normaler Hunde noch 17% Lipaseaktivität und nur noch 2% bzw. 4% Chymotrypsin- bzw. Trypsinaktivität. R. Ammann (1968) verglich die Resultate der Stuhl-Chymotrypsin- und Trypsinaktivitäten mit denjenigen des Pankreozymin-Sekretin-Testes. Bei einer empirisch festgesetzten unteren Normgrenze für fäkale Chymotrypsinaktivität von 120 $\mu\text{g/g}$ Kot beobachtete er bei 100 pankreasgesunden Kontrollpersonen in etwa 10% pathologisch niedere (falsch positive) Chymotrypsinwerte, und von 60 Fällen mit exokriner Pankreasinsuffizienz unterschiedlicher Schweregrade wiesen 13% normal hohe (falsch negative) Chymotrypsinwerte auf. Die Häufigkeit der falsch negativen Werte sank mit zunehmender Schwere der Pankreasinsuffizienz.

Bedeutend ungünstiger ist die Aussagekraft der Trypsinaktivität. 21 der 100 pankreasgesunden Kontrollpersonen wiesen Werte auf, die unterhalb des empirisch festgesetzten minimalen Normbereichs von 30 $\mu\text{g/g}$ Kot lagen.

Falsch negative Trypsinwerte (über 30 $\mu\text{g/g}$ Kot) fand Ammann (1967) bei 27% der schweren exokrinen, bei 50% der mittelschweren und bei 25% der leichten exokrinen Pankreasinsuffizienzen. Die fäkalen Trypsinaktivitäten sind somit nur bei sehr schweren exokrinen Insuffizienzen pathologisch erniedrigt. Damit wird es aber möglich, durch Vergleich der Chymotrypsin- und der Trypsinaktivitäten Anhaltspunkte über die Schwere der Insuffizienz zu erhalten. Ammann schließt aus seinen Untersuchungen, daß die Mehrzahl der schweren bis mittelschweren PI durch die Stuhlenzymuntersuchung erfaßt und eine große Zahl von Fällen mit klinischem Verdacht auf Pankreasaffektionen auf Grund von konstant normalen Stuhlenzymwerten ausgeschlossen werden können. Ferner erlaubt die Stuhlenzymmethode eine relativ einfache Langzeit-Überwachung des Krankheitsverlaufes. Erst die Verlaufskontrolle des Pankreasprofils (Serum- und Urin-Enzymdiagnostik, Prüfung der exokrinen und endokrinen Pankreasfunktionen) gestattet eine zuverlässige Unterscheidung zwischen akut-reversiblen und chronisch-progressiven Pankreaserkrankungen.

Die Arbeiten des Arbeitskreises von Ammann veranlaßten uns, die Kotenzymdiagnostik an unserer Klinik einzuführen. Diese erste Mitteilung hat zum Ziel, die normalen Chymotrypsin- und Trypsinaktivitäten von Hundekot zu erarbeiten und erste Anhaltspunkte über die Zuverlässigkeit der Methode für die Diagnose chronischer Pankreasaffektionen des Hundes zu erhalten.

II. Material und Methode

In der Zeit vom Mai 1969 bis August 1970 wurden bei 88 Hunden 125mal die Chymotrypsin- und Trypsinaktivitäten bestimmt. Die Patienten stammten zum Teil aus der Poliklinik und zum Teil aus der Spitalabteilung unserer Klinik. Die Ernährung der Hunde war deshalb uneinheitlich. Eine spezielle makroskopische Kotbewertung nach Menge, Glanz, Konsistenz wurde nicht systematisch vorgenommen. Nur in einzelnen Fällen, aber regelmäßig bei Verdacht auf Pankreasinsuffizienz und häufig bei Durchfällen, wurde der Kot mikroskopisch (Lugol-, Sudanfärbung, Muskelfasern) und sehr häufig parasitologisch untersucht. Alle Patienten, auch die chirurgischen, wurden einer gründlichen Allgemeinuntersuchung unterworfen. Zusätzlich wurde die Erythrozytensedimentationsgeschwindigkeit sowie das rote und weiße Blutbild bestimmt und sehr häufig Serumenzymbestimmungen (SAP, SGOT, SGPT, GLDH, Serumamylase), Harnstagen und je nach Bedarf weitere biochemische Untersuchungen (Harnstoff, Gesamteiweiß, Bilirubin, Glukose, Cholesterin, Elektrolyte) vorgenommen.

Von 15 Fällen konnte das Pankreas histologisch untersucht werden (H.E.-, van-Gieson-Färbung). Auf Grund der Symptomatologie wurden die Patienten in folgende drei Gruppen unterteilt:

1. 54 Hunde ohne Magen-Darm-Störungen (Frakturen, Gelenkaffektionen, Diskusprolapse, Erkrankungen der Harn- und Geschlechtsorgane, Haut- und Ohrenleiden, Verletzungen, Neoplasmen, Rachitis, Leishmaniose, Leptospirose) mit 64 Kotenzymbestimmungen.

2. 26 Hunde mit Magen-Darm-Störungen mit 42 Kotenzymbestimmungen (5 Hunde mit Trichuren und/oder Ankylostomen, 1 Darmverwachsung, 7 rezidivierende Enteritiden, 2 Colitis ulcerosa, 1 Proctitis, 2 chronisch hyperazide, 1 normazide, 1 anazide Gastritis, 1 Achalasia, 3 Perinealhernien, 1 Leberneoplasma).

3. 8 Fälle von chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz (4 autoptisch gesichert) mit 19 Kotenzymbestimmungen.

Auf eine Aufgliederung nach Altersstufen wurde verzichtet.

Die *Kotenzymbestimmung* erfolgte nach den Anleitungen von R. Ammann, W. Dyck, H. Rosenmund und R. Ben Avraham (1964).

Prinzip der Methode: Die spezifischen, synthetischen Substrate N-azetyl-L-tyrosin-äthylester (ATEE) und p-Toluol-sulfonyl-L-arginin-methylester (TAME) werden durch Chymotrypsin bzw. Trypsin gespalten (s. Abb. 1). Die enzymatisch aus dem Substrat

freigesetzte Säure wird mit NaOH titriert (Titriograph-Radiometer Kopenhagen). Die zur Erhaltung eines konstanten, optimalen pH benötigte Menge NaOH pro Zeiteinheit ist proportional der im Kot enthaltenen Enzymaktivität, die mit Hilfe von Eichkurven direkt in μg kristallisiertes Chymotrypsin bzw. Trypsin umgerechnet werden kann.

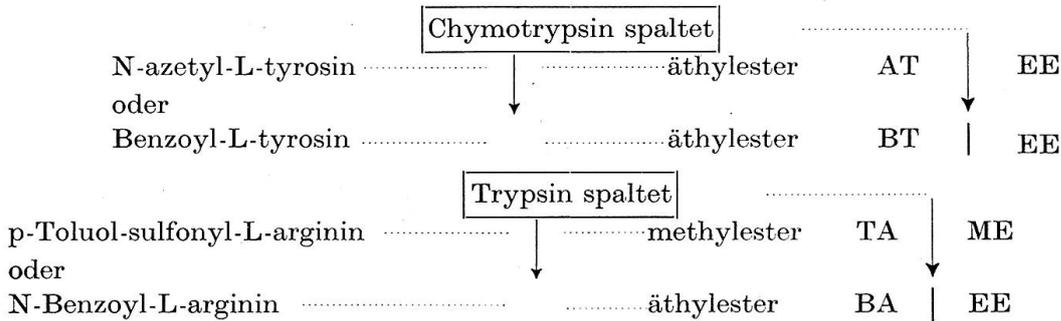


Abb. 1 · Aus R. Ammann: Schweiz. Med. Wschr. 99, 509 (1969).

Technik der Kotenzymbestimmungen

Reagenzien:

Substrate: TAME für Trypsin

ATEE für Chymotrypsin (Mann Research Lab. Neuyork, N.Y.)

Trispuffer für Chymotrypsin (0,005 mol. Tris-[hydroxymethyl]-aminomethan, enthaltend 0,5 mol. NaCl und 0,005 mol. CaCl_2)

Trispuffer für Trypsin (0,04 mol. NaCl und 0,02 mol. CaCl_2)

0,1n HCl

0,01 bis 0,0025n NaOH

Emulgierung und Homogenisierung von 3 bis 5 g Kot mit der zehnfachen Menge physiologischer NaCl-Lösung. Abweichend von R. Ammann verwenden wir bei sehr geringen Enzymaktivitäten statt der zehnfachen eine 5fache Verdünnung, um eine bessere Reproduzierbarkeit zu erhalten.

Chymotrypsinbestimmung: 0,05 bis 1,0 ml der Kotemulsion werden mit Trispuffer auf 4 ml verdünnt. Zugabe von 2,5 ml ATEE-Lösung, pH-Einstellung mit 0,1n HCl auf 7,8. Die Bestimmung der Fermentaktivität erfolgt bei konstanten pH von 7,8 und 25 °C durch automatische Titration der freigesetzten Säure mit 0,01 bis 0,0025n NaOH (automatisch registrierender Titriograph-Radiometer). Die pro Zeiteinheit verbrauchte Menge Titrierflüssigkeit zur Erhaltung eines konstanten pH wird als schräge Gerade aufgezeichnet, deren Winkel zur Horizontalen der Chymotrypsinaktivität entspricht. Die Chymotrypsinaktivität läßt sich mit Hilfe einer Eichgeraden in μg kristallisiertes Chymotrypsin umrechnen und wird ausgedrückt in μg pro Gramm Kot.

Trypsinbestimmung: 0,05 bis 1 ml Kotemulsion werden mit Trispuffer auf 5,25 ml verdünnt. Zugabe von 1,24 ml TAME-Lösung, pH-Einstellung mit 0,1n HCl auf 8,2, Titration. Auswertung wie bei Chymotrypsin unter Verwendung einer mit kristallisiertem Trypsin hergestellten Eichgeraden.

Serumamylasebestimmung: Die Amylase wurde mit den Reagenzien und Vorschriften des Schweizerhall-Testes (amyloklastische Methode) bestimmt und als Somogyi-Einheiten (SE) berechnet.

III. Ergebnisse

Die Ergebnisse der Trypsin- und Chymotrypsinaktivitäten von 125 Kot-

untersuchungen bei 88 Hunden sind auf Abb. 2 graphisch dargestellt. Da nicht nur der exokrine Funktionszustand des Pankreas, sondern unter anderem auch Störungen der Magen-Darm-Aktivität und der Gallenwege die Kotenzymaktivitäten beeinflussen können (Ammann, 1967), werden die Ergebnisse der drei Gruppen gesondert besprochen.

Gruppe 1: Hunde ohne Magen-Darm-Störungen

Als Mittelwert von 64 Bestimmungen bei 54 Patienten wurde eine Aktivität von 465 μg pro 1 g Kot für Trypsin und 144 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin gefunden. Die Streuung der einzelnen Werte mit 74 bis 1340 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 12 bis 550 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin sind beträchtlich. Wir haben deshalb darauf verzichtet, einen Normbereich zu berechnen; und uns bei der Festlegung der unteren Normalgrenze beider Enzyme auf die oberen Werte bei den Fällen von gesicherter Pankreasinsuffizienz bezogen. Auf Grund dieser Kriterien betrachten wir als untere Normalgrenze für Trypsin eine Aktivität von 150 $\mu\text{g/g}$ und für Chymotrypsin eine solche von 30 $\mu\text{g/g}$.

Wesentlich für die diagnostische Interpretation der Werte ist die Kenntnis der individuellen Schwankungsbreite. Bei 10 Hunden dieser Gruppe wurde im Abstand von einem bis mehreren Tagen ein- bis mehrmals die Kotuntersuchung wiederholt. Die Aktivitätsschwankungen waren beträchtlich. Deutlich geht die individuelle Schwankungsbreite auch aus der Abb. 2 hervor.

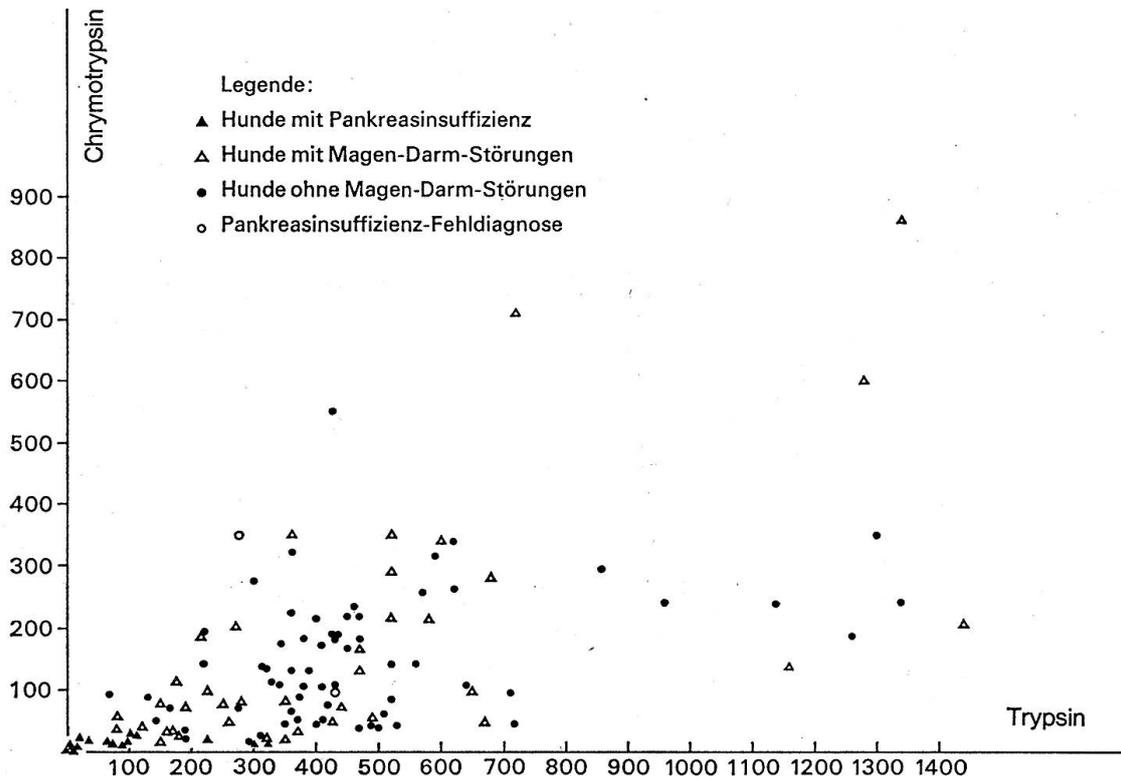


Abb. 2 Tagesschwankungen der Kotenzymkonzentrationen und deren Beeinflussung durch Fasten.

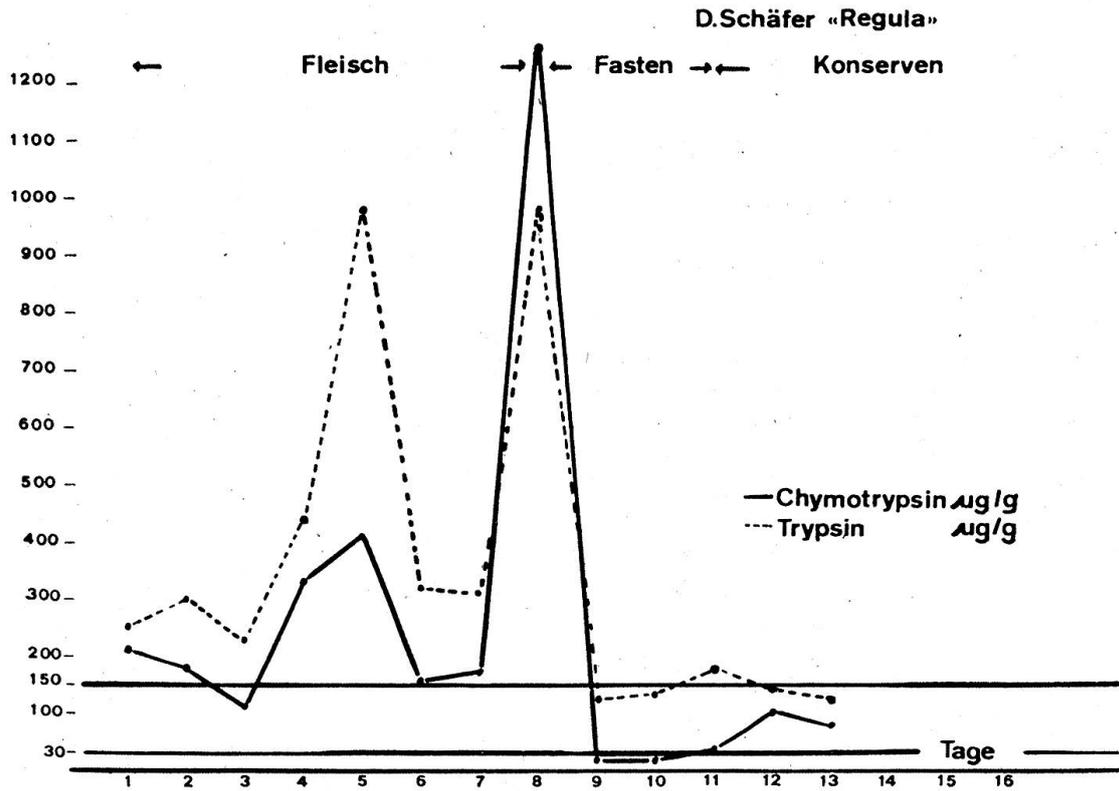
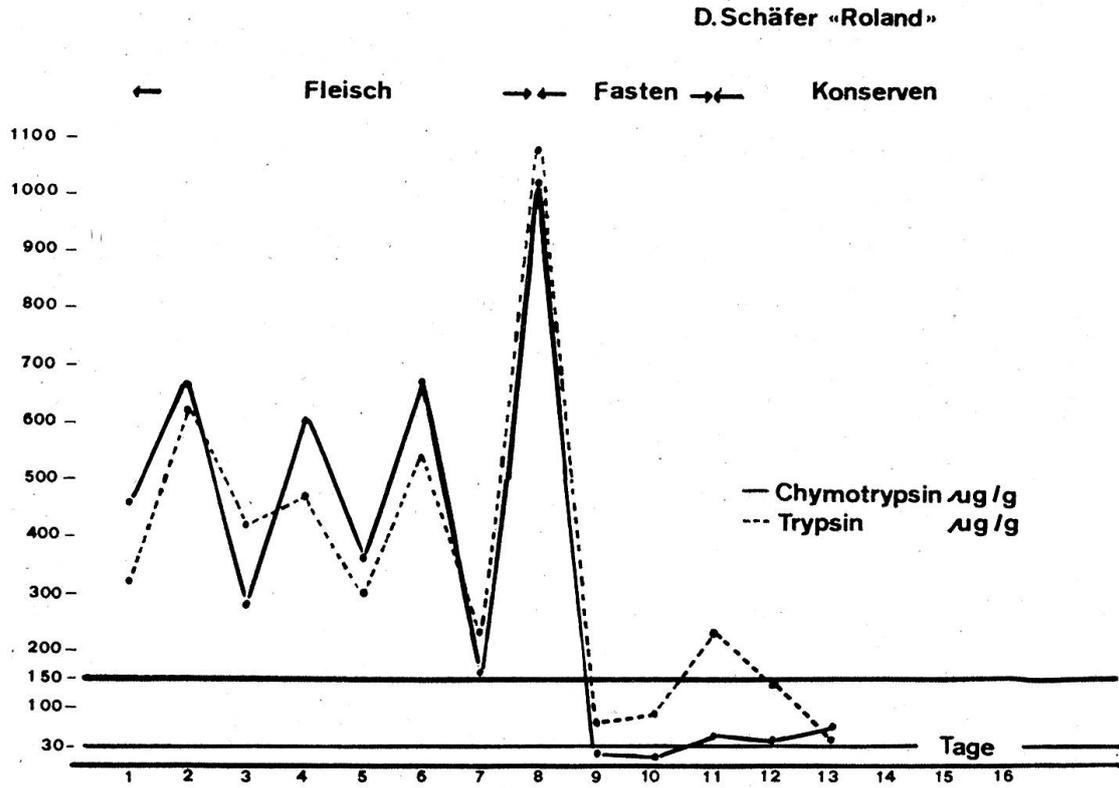


Abb. 2 Chymotrypsin- und Trypsinkonzentrationen ($\mu\text{g/g}$ Kot) von 122 Kotuntersuchungen.

Bei zwei Deutschen Schäferhunden wurden täglich die Enzymaktivitäten des Morgenkotes bestimmt. Beide Hunde wurden gleich gefüttert (Fleisch, Flocken, Teigwarengemisch). Inwieweit die Futterzusammensetzung einen Einfluß auf die Kotenzymaktivität ausübt, soll Gegenstand einer späteren Mitteilung sein. Hier sei nur erwähnt, daß aus unseren diesbezüglichen Untersuchungen hervorgeht, daß Fasten die Kotenzymaktivität deutlich, meist sogar auf Werte unterhalb der unteren Normgrenze senkt.

Bei zwei der 64 Kotenzymbestimmungen waren die Trypsinkonzentrationen mit 145 bzw. 130 $\mu\text{g/g}$ falsch positiv, das heißt unterhalb 150 $\mu\text{g/g}$. Die entsprechenden Chymotrypsinwerte fielen mit 88 bzw. 50 $\mu\text{g/g}$ normal aus. Eine Wiederholung der Kotenzymbestimmung unterblieb in beiden Fällen. Die Chymotrypsinbestimmungen weisen 3 falsch positive (12, 24, 21 $\mu\text{g/g}$) Werte bei normalen Trypsinkonzentrationen (200, 310, 185 $\mu\text{g/g}$) auf. Bei der Nachkontrolle waren alle Werte normal (370, 70, 204 $\mu\text{g/g}$).

Gruppe 2: Hunde mit Magen-Darm-Störungen

Als Mittelwert von 42 Bestimmungen bei 26 Hunden wurde eine Aktivität von 442 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und von 165 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin errechnet. Die Streuung der einzelnen Werte war auch bei dieser Gruppe beträchtlich, nämlich 80 bis 1440 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 14 bis 860 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin.

Falsch positiv, das heißt Enzymwerte unterhalb der unteren Normgrenze, waren 5 Trypsin- und 7 Chymotrypsinwerte von 12 Hunden. Bei nur einem dieser Fälle mit einem pathologischen Kotenzymwert waren beide Enzyme pathologisch erniedrigt. Bei den anderen lag die Aktivität des zweiten Enzyms im normalen Bereich, und Nachkontrollen ergaben bei 9 dieser Hunde normale Aktivitäten auch des ursprünglich pathologisch erniedrigten Enzyms.

Bei dem erwähnten Fall mit positiven Chymotrypsin- und Trypsinwerten scheint es sich retrospektiv um eine Pankreasinsuffizienz zu handeln:

1. Niederlaufhund, 4–5j. ♀. Am 14.7.69 wegen gehäuften, kurzzeitigen Durchfallepisoden vorgestellt. Während des Durchfalls Erbrechen und Inappetenz. Appetit sonst gut, leichte Obesitas. Trypsin 150 $\mu\text{g/g}$, Chymotrypsin 14 $\mu\text{g/g}$, nach Fütterung einer Büchse Sardinen: Trypsin 180 $\mu\text{g/g}$, Chymotrypsin 52 $\mu\text{g/g}$, übrige Laborbefunde o.B. außer leichter Eosinophilie (5,5%), tief normalem Gesamteiweiß (5,3 g%) und Cholesterin (142 mg%), Amylase 721 SE, SAP, SGOT, SGPT normal.

Nach Rückfrage erhielten wir folgenden Befund: «Durch Verabreichung von Pankreon® stellte sich zunächst eine wesentliche Besserung des Gesundheitszustandes ein, später verschlechterte sich derselbe so sehr, daß das Tier im Frühjahr 1970 abgetan werden mußte.» Leider unterblieb eine Sektion.

Die beiden weiteren Hunde mit anfänglich erniedrigter Enzymaktivität sind auf Grund der Verlaufsuntersuchungen ebenfalls sehr verdächtig für Pankreasinsuffizienz:

2. Deutscher Schäfer, 3 $\frac{1}{2}$ j. ♂. Am 14.7.69 wegen starker Abmagerung, Inappetenz und Gastroenteritis vorgestellt. Ankylostomiasis. Labor: Neutrophilie, Lymphopenie (12,5%), Cholesterin 137 mg%, SAP, SGOT, SGPT und weitere chemische Befunde normal. Kot: Trypsin/Chymotrypsin 14.7: 80/34 $\mu\text{g/g}$; 10.9: 80/23 $\mu\text{g/g}$.

3. Cockerspaniel, 10j. ♂. Im Oktober 1969 wegen Perinealhernie und Rektumdivertikel operiert. Anämie, Linksverschiebung und Lymphopenie. Laborbefunde sonst o.B. Kot: Trypsin/Chymotrypsin 8.10.69: 350/19 $\mu\text{g/g}$; 10.9.70: 106/26 $\mu\text{g/g}$.

Zur Diagnosesicherung der beiden Fälle sind weitere Verlaufuntersuchungen notwendig.

Auf eine Auswertung der Resultate nach Krankheitsgruppen wird wegen des noch zu kleinen Krankheitsgutes verzichtet. Zur diagnostischen Interpretation wäre es allerdings wertvoll zu untersuchen, ob und wie die Enzymwerte von der Darmpassagezeit (Durchfall-Leiden, Obstipation) abhängig sind.

Gruppe 3: Hunde mit exokriner Pankreasinsuffizienz

Die Werte dieser Gruppe, die 8 Hunde mit 19 Bestimmungen umfaßt, sind in Tab. 1 zusammengefaßt. Wir haben in dieser Gruppe nur diejenigen Patienten berücksichtigt, bei denen die Diagnose allein schon auf Grund der klinischen Symptome gestellt werden konnte. Die Kotenzymbestimmungen und bei 4 Hunden die Sektionsergebnisse erbrachten die Bestätigung der klinischen Diagnose. Zusätzlich zu dieser sind die drei unter der Gruppe 2 aufgeführten und besprochenen Verdachtsfälle zu erwähnen. Die gesicherten Insuffizienzen weisen einen Mittelwert von 82 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 12 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin auf. Die Trypsinwerte streuten von 1 bis 320 $\mu\text{g/g}$ und diejenigen von Chymotrypsin von 0 bis 33 $\mu\text{g/g}$. Bei einer unteren Normalgrenze von 150 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin sind 3 Werte falsch negativ. Alle 3 Werte entfallen auf denselben Patienten. Die gleichzeitig bestimmten Chymotrypsinwerte blieben bei diesem stets deutlich erniedrigt.

Von den drei unter Gruppe 2 besprochenen Verdachtsfällen wies Hund Nr. 3 bei erniedrigtem Chymotrypsin einen anfänglich falsch negativen Trypsinwert von 320 $\mu\text{g/g}$ auf. Im späteren Verlauf fiel die Trypsinkonzentration ebenfalls auf einen unternormalen Wert ab. Bei Patient Nr. 1 war der Trypsinwert mit 150 $\mu\text{g/g}$ an der Normgrenze und stieg am nächsten Morgen nach Verfütterung einer Büchse Sardinen auf 180 $\mu\text{g/g}$, Chymotrypsin 52 $\mu\text{g/g}$ an. Nur 1 Chymotrypsinwert der Fälle mit gesicherter Pankreasinsuffizienz überschritt mit 33 $\mu\text{g/g}$ knapp die untere Normalgrenze von 30 $\mu\text{g/g}$. Bei den drei unter Gruppe 2 besprochenen Verdachtsfällen waren 2 Werte falsch negativ (34 bzw. 52 $\mu\text{g/g}$).

IV. Besprechung der Ergebnisse

Im wesentlichen ergeben unsere Untersuchungen ähnliche Ergebnisse wie

diejenigen Ammanns für die Diagnose der exokrinen Pankreasinsuffizienz des Menschen.

Jedoch überwiegen gegenüber dem menschlichen Stuhl im Hundekot die Trypsinaktivitäten diejenigen des Chymotrypsins. Ammann (1967) fand für Trypsin einen mittleren Wert von $124 \mu\text{g/g}$ mit Streuungen von 6 bis $850 \mu\text{g}$ und für Chymotrypsin einen solchen von $290 \mu\text{g}$ mit Streuungen von 39 bis $1265 \mu\text{g/g}$. Als untere Normalgrenze nimmt er $30 \mu\text{g/g}$ Trypsin und $120 \mu\text{g/g}$ Chymotrypsin an. Die Kotenzymaktivitäten pankreasgesunder Hunde betragen für Trypsin $465 \mu\text{g/g}$ (74 bis 1340) und für Chymotrypsin $144 \mu\text{g/g}$ (12 bis 550). Die untere Normalgrenze haben wir empirisch mit $150 \mu\text{g/g}$ für Trypsin und mit $30 \mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin festgelegt. Nur 3 der 120 Kotenzymbestimmungen wiesen höhere Chymotrypsin- als Trypsinaktivitäten auf. Für die pankreasdiagnostische Interpretation der Kotenzymkonzentrationen ist eine Analyse der falsch positiven und falsch negativen Resultate wichtig. Falsch positiv waren bei Gruppe 1 2/64 der Trypsin- ($= 3,1\%$) und 3/64 ($= 4,7\%$) der Chymotrypsinwerte und bei Gruppe 2 5/42 ($= 12\%$) der Trypsin- und 7/42 ($= 17\%$) der Chymotrypsinwerte. Wichtig ist hervorzuheben, daß bei Gruppe 1 bei allen Fällen mit falsch positiven Trypsin- bzw. Chymotrypsinwerten die zugehörigen Chymotrypsin- bzw. Trypsinaktivitäten stets normal ausfielen, ferner daß, soweit eine Nachuntersuchung möglich war, diese wieder normale Aktivitäten des bei der ersten Untersuchung erniedrigten Enzyms ergab. Dieselben Feststellungen wurden bei den falsch positiven Werten der Gruppe 2 gemacht. Einzig bei den drei Fällen, die sich retrospektiv als äußerst verdächtig für eine chronische exokrine Pankreasinsuffizienz erwiesen, waren entweder beide Enzyme erniedrigt (Fall 1), oder die Nachkontrolle ergab, daß das ursprünglich noch normale Trypsin nun auch unter die Normgrenze absank. Somit sind sicher falsch positiv nur noch 2/42 ($= 4,8\%$) der Trypsin- und 5/42 ($= 12\%$) der Chymotrypsinwerte zu betrachten. Alle Fälle mit gesicherter chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz hatten deutlich erniedrigte Chymotrypsinaktivitäten. Mit Ausnahme eines Patienten, bei dem 3 der 6 Trypsinbestimmungen bei 6/6 pathologischen Chymotrypsinaktivitäten normale Resultate ergaben, waren auch die Trypsinaktivitäten stets deutlich erniedrigt. Wegen dieser Verhältnisse waren wir zuerst geneigt, die untere Normalgrenze für Trypsin mit $300 \mu\text{g/g}$ anzusetzen. Eine derart hoch angesetzte untere Normalgrenze würde aber unverhältnismäßig viele (10/63) für Gruppe 1 und (18/42) für Gruppe 2 falsch positive Werte ergeben und damit die diagnostische Verwertbarkeit in Frage stellen. Diese Überlegung und die Tatsache, daß die übrigen sieben Fälle mit gesicherter wie auch die drei Fälle mit vermuteter chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz Trypsinkonzentrationen von $150 \mu\text{g/g}$ und weniger aufweisen, läßt die Begrenzung des untern Normbereiches mit $150 \mu\text{g/g}$ als richtig erscheinen. Wegen der extrem starken Streuung verzichteten wir, einen statistischen Normbereich zu errechnen.

Wir folgern aus unseren Untersuchungen:

1. Einmalig erniedrigte Enzymaktivitäten sind diagnostisch nicht mit Sicherheit verwertbar. Ein- bis mehrmalige Wiederholungen sind unerlässlich.
2. Bei chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz sind in der Regel beide Enzyme dauernd oder doch zeitweise erniedrigt.
3. Die Chymotrypsinerniedrigung ist stärker und konstanter als die Trypsinerniedrigung.
4. Wiederholt deutlich normale Kotenzymwerte gestatten, eine exokrine Pankreasinsuffizienz auszuschließen.

Die Ursachen der falsch positiven Werte kennen wir nur ungenügend. Die Stuhlenzymaktivität hängt nach Ammann (1969) von zwei Faktoren, nämlich von der totalen täglichen Pankreasenzymausscheidung und von der im Verlauf der Darmpassage inaktivierten Enzymmenge, ab. Der erste Faktor ist somit durch den Funktionszustand der Pankreaszellen und durch die Durchgängigkeit der Ausführungsgänge bestimmt. Der zweite extrapancreatische Faktor wird durch den morphologischen und funktionellen Status des Magen-Darm-Kanals und der Gallenwege gegeben. Damit wird ersichtlich, daß nicht nur der Funktionszustand des Pankreas, sondern auch zahlreiche extrapancreatische Faktoren Einfluß auf die Konzentration der fast ausschließlich aus dem Pankreasgewebe herkommenden Enzyme, Trypsin und Chymotrypsin, nehmen. Für die Interpretation bedeutet das, daß wir unterscheiden müssen zwischen Enzymerniedrigung infolge Pankreasinsuffizienz und solchen infolge Enzymveränderungen im Darmlumen (sogenannte falsch positive Werte). Als Ursache solcher falsch positiver Werte kommen in Betracht: mangelnde neurohormonale Pankreasstimulation, Mangel an verfügbarem Eiweiß zur Enzymsynthese, Enzymkonzentrationsabnahme im Darminhalt infolge Verdünnung, verlängerte Verweildauer mit erhöhtem Enzymabbau (Obstipation) usw. Wegen der Kleinheit unseres Untersuchungsgutes verzichten wir darauf, den Einfluß der einzelnen Faktoren auf unsere Fälle zu analysieren.

Einzig sei, weil diesem bisher wenig Beachtung geschenkt wurde, der Einfluß des Fastens auf die Kotenzymkonzentrationen erwähnt. Bei mehrwöchigen Fütterungsversuchen konnten wir während der Fastenperioden regelmäßig signifikante Enzymaktivitätsabnahmen beobachten.

Auf Grund dieser Versuche haben wir die falsch positiven Resultate durchgesehen und feststellen können, daß, soweit in den Krankengeschichten genügende Angaben über die Futteraufnahme verzeichnet sind, bei den meisten Patienten mit falsch positiven Werten Anorexie oder doch ausgeprägte Inappetenz bestand. Wir neigen daher dazu, diesem Faktor eine wesentliche Bedeutung beizumessen, und empfehlen, ihn bei der Interpretation der Resultate genau zu beachten.

Bei 20 Fällen bestimmten wir gleichzeitig die Serumamylase. Der Amylase wird in der veterinär-medizinischen Literatur immer noch große Bedeu-

tung für die Pankreasdiagnostik beigemessen, obschon eine Erhöhung der Serum- und Urinamylase als Ausdruck der erhöhten Zellpermeabilität (Enzym-Entgleisung) nur bei destruktiven akuten Prozessen zu erwarten ist und zudem aus den Untersuchungen von Largiadèr und Mitarbeitern (1968) hervorgeht, daß selbst die totale Pankreatektomie bei Hunden nicht zu einer signifikanten Herabsetzung des Amylaseblutspiegels führt.

Erwartungsgemäß haben unsere Ergebnisse der Serumamylase keine für die Pankreasdiagnostik nur annähernd verwertbaren Resultate ergeben (Abb. 4).

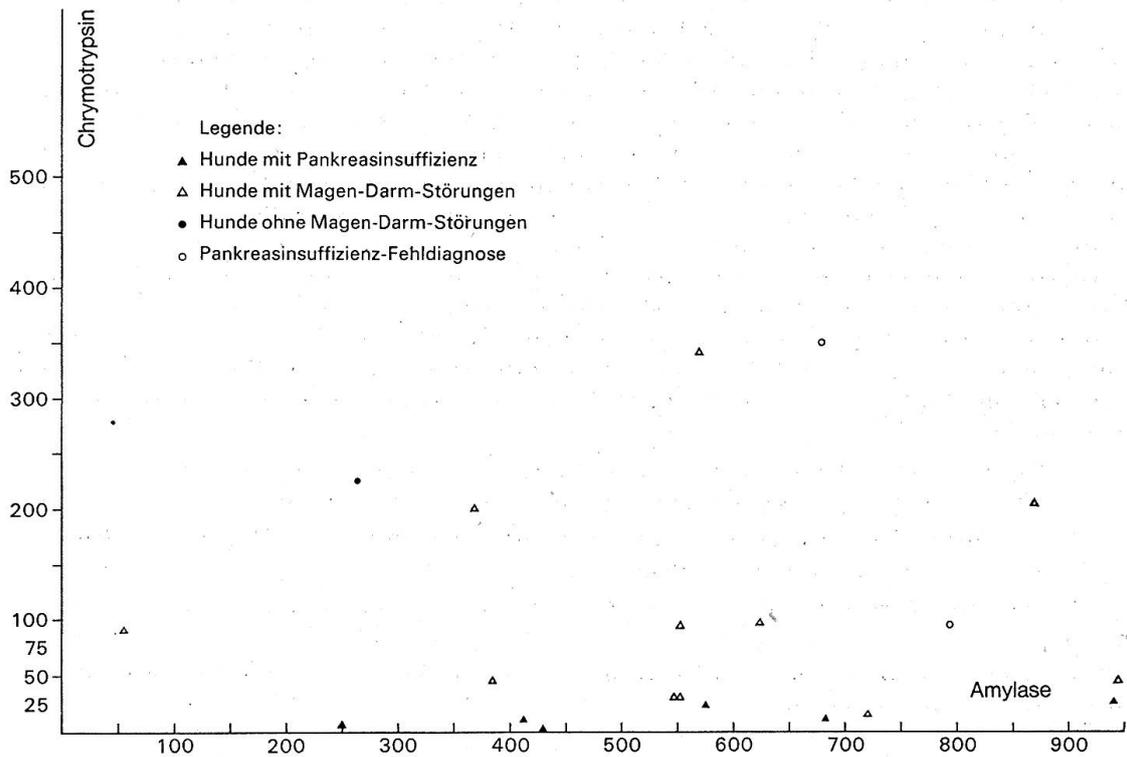


Abb. 4 Vergleich der Chymotrypsinkonzentrationen ($\mu\text{g/g}$) im Kot mit der Serumamylase (Somogyi-Einheiten).

Zusammenfassung

Einleitend wird kurz auf die Fragwürdigkeit der klinischen Pankreasdiagnostik eingegangen.

Die Serumenzymdiagnostik (Lipase, Amylase) versagt bei der chronischen exokrinen Pankreasdiagnostik, die mikroskopische Kotuntersuchung und die Bestimmung der tryptischen Kotaktivität sind unzuverlässig und durch verschiedene extrapancreatrische Faktoren beeinflussbar. Durch die Möglichkeit der quantitativen Bestimmung der Enzyme Trypsin und Chymotrypsin im Kot, die ausschließlich pankreatogener Herkunft sind, mit Hilfe der spezifischen synthetischen Substrate N-azetyl-L-tyrosin-äthylester (ATEE) für Chymotrypsin und p¹-Toluol-sulfonyl-L-arginin-methylester (TAME) hat die Kotenzymdiagnostik in der Humanmedizin wieder als zuverlässiger Suchtest und für die Langzeit-Verlaufsbeobachtung Bedeutung gewonnen. Die ausgedehnten Untersuchungen von R. Ammann beim Menschen veranlaßten uns, die Kotenzymaktivitäts-

ten beim Hund an 88 Tieren mit 125 Bestimmungen (Abb. 2) festzulegen und ihre Verwertbarkeit für die Diagnose der chronischen exokrinen Pankreasinsuffizienz zu verfolgen. Das Krankengut wurde in drei Gruppen eingeteilt. Als Mittelwert der Gruppe 1 (ohne Magen-Darm-Störungen) wurde eine Trypsinkonzentration von 465 $\mu\text{g/g}$ Kot und eine Chymotrypsinkonzentration von 144 $\mu\text{g/g}$ gefunden. Die Streuung der Werte war mit 74 bis 1340 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 12 bis 550 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin beträchtlich. Mit wenigen Ausnahmen war die Trypsinkonzentration größer als die des Chymotrypsins. Als untere Normgrenze wurde empirisch 150 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 30 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin festgelegt. Gruppe 2 (mit Magen-Darm-Störungen) wies einen Mittelwert von 442 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 165 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin und Streuungen von 80 bis 1440 $\mu\text{g/g}$ bzw. 14 bis 860 $\mu\text{g/g}$ auf.

Gruppe 3 (8 Fälle mit gesicherter chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz) wies einen Mittelwert von 82 $\mu\text{g/g}$ für Trypsin und 12 $\mu\text{g/g}$ für Chymotrypsin bei Streuungen von 1 bis 320 $\mu\text{g/g}$ bzw. 0 bis 33 $\mu\text{g/g}$ auf. Falsch positive Trypsinwerte wurden bei 2/63 (= 3,1%) Bestimmungen der Gruppe 1 und 2/42 (= 4,8%) der Gruppe 2 und falsch positive Chymotrypsinwerte bei 3/63 (= 4,7%) der Gruppe 1 und 5/42 (= 12%) der Gruppe 2 gesehen. Drei der Hunde mit anfänglich als falsch positiv bewerteten Werten der Gruppe 2 erwiesen sich bei den Nachkontrollen als äußerst verdächtig für das Bestehen einer chronischen exokrinen Pankreasinsuffizienz. Allgemein konnte festgestellt werden, daß bei mehrmaliger Verlaufskontrolle die Enzymaktivitäten stark variierten. Eine wichtige Ursache für falsch positive Werte dürfte dem Fasten zukommen (Abb. 3). Die Serumamylasebestimmung (Abb. 4) ist, wie erwartet, für die Diagnose der chronischen Insuffizienz von geringem Nutzen. Auffallend ist bei den Fällen mit gesicherter exokriner Pankreasinsuffizienz die Häufigkeit der Bluteosinophilie und der tiefe Blutcholesterinspiegel (Tab. 1). Es konnten folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

1. Einmalig erniedrigte Enzymaktivitäten sind diagnostisch nicht mit Sicherheit verwertbar. Ein- bis mehrmalige Wiederholungen sind unerlässlich.
2. Bei chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz sind in der Regel beide Enzyme dauernd oder doch zeitweise erniedrigt.
3. Die Chymotrypsinerniedrigung ist stärker und konstanter als die Trypsinerniedrigung.
4. Wiederholt deutlich normale Kotenzymwerte gestatten, eine exokrine Pankreasinsuffizienz auszuschließen.

Résumé

Les auteurs ont procédé à 125 déterminations de la concentration en chymotrypsine et en trypsine dans les selles de 88 chiens. Les patients ont été répartis en 3 groupes: sans altérations du tube digestif, avec altérations du tube digestif, insuffisance exocrine chronique du pancréas. Les chiens avec un tube digestif sain présentaient une concentration de 144 $\mu\text{g/g}$ (12–550) en chymotrypsine et de 465 $\mu\text{g/g}$ (74–1349) en trypsine. L'analyse des résultats obtenus chez les chiens avec altérations du tube digestif et avec insuffisance exocrine chronique du pancréas a permis de tirer les conclusions suivantes:

1. Une détermination unique d'une activité enzymatique réduite ne peut pas être utilisée en vue d'étayer le diagnostic. La détermination doit être répétée plusieurs fois.
2. Dans l'insuffisance exocrine chronique du pancréas, le taux des deux enzymes est, dans la règle, abaissé, soit en permanence, soit temporairement.
3. La diminution du taux de la chymotrypsine est plus importante et plus constante que la diminution du taux de la trypsine.

4. Une insuffisance exocrine du pancréas est exclue lorsque des déterminations répétées donnent des taux absolument normaux d'enzymes.

Riassunto

Da 88 cani vennero eseguiti 125 controlli della concentrazione della chimotripsina e tripsina delle feci. I pazienti vennero collocati in 3 gruppi: senza disturbi gastrointestinali, con disturbi gastrointestinali, insufficienza cronica exocrina del pancreas. Nei cani senza disturbi gastrointestinali si ebbero concentrazioni di $144\mu\text{g/g}$ (12-550) per la chimotripsina e di $465\mu\text{g/g}$ (74-1340) per la tripsina.

L'analisi dei reperti nei cani affetti da disturbi gastrointestinali e nei cani con insufficienza cronica exocrina del pancreas permette di trarre le seguenti deduzioni:

1. L'attività enzimatica diminuita come fatto unico non può esser valorizzata con sicurezza per la diagnosi. Una o due ripetizioni dell'analisi è indispensabile.
2. Nei casi di insufficienza cronica exocrina del pancreas, di regola i due enzimi sono ridotti per un periodo continuo od intermittente.
3. La riduzione della chimotripsina é più forte e costante che quella della tripsina.
4. Valori normali ripetuti degli enzimi nelle feci permettono di escludere una insufficienza exocrina del pancreas.

Summary

In 88 dogs 125 tests were carried out to determine the chymotrypsin and trypsin concentration in the faeces. The patients were divided into 3 groups: those without gastro-enteritic disturbances, those with, and those showing chronic exocrine pancreatic insufficiency. The gastro-enteritic healthy dogs showed concentrations of $144\mu\text{g/g}$ (12-550) for chymotrypsin and $465\mu\text{g/g}$ (74-1340) for trypsin. Analysis of the findings of the dogs with gastro-enteritis and those with chronic exocrine pancreatic insufficiency gave the following conclusions:

1. When the enzyme activities are reduced only once the result cannot be evaluated diagnostically with any certainty. There must be one or more repetitions.
2. In chronic exocrine pancreatic insufficiency both enzymes are usually reduced, either permanently or at least periodically.
3. Reduction of chymotrypsin is greater and more constant than that of trypsin.
4. If the faeces enzyme values are repeatedly clearly normal, an exocrine pancreatic insufficiency may be excluded.

Literatur

Ammann R., Dick W., Rosenmund H. und Ben Avraham R.: Bestimmung der Trypsin- und Chymotrypsinaktivität im Stuhl. Eine sensible, spezifische Methode zum Nachweis der exokrinen Pankreasinsuffizienz. *Klin. Wschr.* 42, 553-555 (1964). - Ammann R. und Kashiwagi H.: Pancreatic Exocrine Insufficiency and Proteolytic Enzymes in Stool. *Helv. Med. Acta* 33, 220-228 (1966). - Ammann R.: Fortschritte in der Pankreasfunktionsdiagnostik. *Exp. Medizin, Pathologie und Klinik*. Bd. 22, Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1967. - id: Die Differentialdiagnose zwischen akut-reversibler und chronisch-progressiver Pancreatitis. *Schweiz. Med. Wschr.* 98, 744-755 (1968). - id: Enzymdiagnostik der Pankreaserkrankungen. *Schweiz. Med. Wschr.* 99, 504-513 (1969). - Grossmann M.I.: Fecal enzymes of dogs with pancreatic exclusion. *Proc. Soc. exp. Biol.* 110, 41-42 (1962). - Largiadèr F., Rosenmund H. und Jakob A.: Das Verhalten der Serumamylase bei normalen, pankreatektomierten und pankreastransplantierten Hunden. *Schweiz. Med. Wschr.* 98, 323-327 (1968).

Kotbefunde

Patient	Krankheitsdauer	Datum	Trypsin μ g/g	Chymo- trypsin μ g/g	Fett (Sudan)	Stärke (Lugol)	M.-Fasern unverdaut	Parasitol
D. Sch., 8j. ♂	etwa 1 Jahr	14. 10. 69	24	21	wenig	neg.	wenig	neg.
Collie, 3j. ♂	?	27. 7. 69 28. 7. 69	110 95	24 11				neg.
D. Sch., 17 Mte. ♂	5 Wochen	11. 12. 69	6	9	wenig	viel	wenig	neg.
D. Sch., 4j. ♀	4 Monate	11. 5. 70	16	4,5	deutlich	neg.	wenig	neg.
D. Sch., 7j. ♀	?	1. 4. 70 6. 4. 70 10. 9. 70	34 102 52	15 28 33	neg. wenig wenig	neg. neg. neg.	keine keine wenig	Kokzidien neg. neg.
D. Sch., 6j. ♂	längere Zeit	11. 6. 70 16. 6. 70 3. 7. 70 10. 9. 70	3,5 1 7 32	0 0 0 14	wenig selten	pos. neg.	keine neg.	neg. neg.
Entlebucher, 7j. ♂	?	8. 6. 70	8,5	0	mäßig	wenig	reichlich	neg.
D. Sch., 2j. ♂	4 Monate	5. 2. 70 7. 2. 70 11. 2. 70 16. 2. 70 23. 2. 70 24. 2. 70	320 74 90 65 225 300	10 7 7 14 20 12	wenig wenig wenig mäßig	viel viel viel viel	wenig wenig selten selten	neg. neg. neg. neg. neg.

Tab. 1 Laborbefunde bei 8 Fällen mit gesicherter chronischer exokriner Pankreasinsuffizienz. Die mikroskopische Kotuntersuchung ergibt keine diagnostisch bedeutsamen Befunde. Auffällig sind die häufige Eosinophilie und die niedrigen Cholesterinwerte. Die Enzymaktivitäten der Amylase, SGOT, SGPT und SAP sind pankreasdiagnostisch nicht verwertbar.

Blutbefunde

Patient	Ec × 10 ⁶	Lc × 10 ³	Eos %	Eiweiß	Cholesterin	Glukose	Amylase SE	SAP IE	SGOT IE	SGPT IE	Datum
D. Sch., 8j. ♂	6,22	12,7	8	—	—	46	575	35	12	21	14.10.
Collie, 3j. ♂	5,83	7,7	13,5	5,5	220	50	940	1	27	30	27. 7.
D. Sch., 17 Mte. ♂	7,22	11,8	29,5	6,3	70	35	685 Harn: 195	1	3	15	11.12.
D. Sch., 4j. ♀	7,67	8,2	13,5	6,7	82	54	250	23	16	62	11. 5.
D. Sch., 6j. ♀	6,73	8,0	7,5	5,9	137	58	430	21	22	49	16. 6.
Entlebucher, 7j. ♂	4,31	11,0	0,5	—	276	497	—	616	28	15	8. 6.
D. Sch., 2j. ♂	6,8 6,9	14,45 12,3	4,0 4,0	6,4 6,4	106 77	56 84	412	18 8	15 27	27 27	5. 2. 23. 2.