

## Der Einfluss des Urin-pH auf die Aktivität von Urinenzymen

Die schwierige Interpretation einer klinischen Bedeutung höhermolekularer Urinenzyme ( $MG > 70\,000$ ) lässt es notwendig erscheinen, die Quellen solcher Enzyme und Faktoren, welche deren Aktivität im Urin beeinflussen können, weiter abzuklären. Neben Inhibitoren und Aktivatoren, deren Natur im einzelnen noch unbekannt ist, und dem Diuresezustand, bzw. der Urinkonzentration<sup>1</sup> darf ein Einfluss des Urin-pH auf die Enzymaktivität angenommen werden, da dieses – im Gegensatz zum Serum – starken Schwankungen unterworfen ist. So untersucht vorliegende Arbeit die Auswirkung unterschiedlicher pH-Werte des Urins auf die im Bereich der pH-Optima (Bestimmungsansatz) messbare Aktivität von ULDH, UAP und UAA<sup>2</sup> sowie die Isoenzyme der ULDH.

**Methodik.** ULDH, UAP, UAA und die Isoenzyme der ULDH wurden nach früher beschriebenen Methoden im dialysierten Urin nachgewiesen<sup>1,3</sup>. Die Bestimmungen erfolgten im Bereich der pH-Optima der 3 Enzyme – für ULDH bei pH 8,8, UAP bei pH 10,2 und UAA bei pH 7,2. Bei den experimentellen Untersuchungen wurden die pH-Werte mit einem pH-Meter (Metrohm) gemessen. Verschiebung des Urin-pH in vivo bei gesunden Probanden wurde durch Einnahme von  $NH_4Cl$  (Sauteramon®) – im Maximum je 6 g während 2 Tagen – und  $NaHCO_3$  – im Maximum 10–12 g am Tage vor der Sammelperiode – erreicht. Verschiebung des Urin-pH in vitro wurde in ergänzenden Untersuchungen mit 0,1 N HCl bzw. 0,1 N NaOH herbeigeführt.

**Ergebnisse.** Der Hinweis auf einen möglicherweise erheblichen Einfluss des Urin-pH auf die Enzymaktivität des Urins ergab sich aus einer Gruppierung der bisher gesammelten Bestimmungen von ULDH, UAP und UAA nach den pH-Werten (Indikatorpapier «Oxy Phen») der untersuchten Urine (Tabelle I). Die Gesamtaktivitäten der 3 Enzyme im 8-h-Nachturin von Gesunden und Patienten mit vorwiegend nephrologischen und urologischen, aber auch verschiedenen internistischen Krankheiten wurden unausgewählt zusammengefasst. Urine mit pH-Werten von 5,1–5,5 zeigten dabei für ULDH und UAP eine wesentlich geringere mittlere Aktivität als solche mit pH-Werten von 6,6–7,0, während sich für die UAA eine entsprechende Abhängigkeit vom Urin-pH nicht erkennen liess.

Zur Überprüfung dieser Feststellungen wurde bei 4 gesunden Probanden die Gesamtaktivität der 3 Enzyme in je einem in vivo stark angesäuerten und einem stark

alkalisierten 8-h-Nachturin bestimmt. Die Resultate bestätigten den aus Tabelle I ersichtlichen Einfluss des Urin-pH auf die Aktivität von ULDH und UAP sowie die pH-Unabhängigkeit der UAA-Aktivität (Figur 1). Bei pH-Werten des Urins von 4,8–5,1 betrug die nachweisbare Aktivität der ULDH 28–51%, diejenige der UAP 36–54% der bei einem Urin-pH von 7,0–8,1 messbaren Werte.

Enzymbestimmungen an insgesamt 36 4-h-Urinportionen der gleichen Versuchsperson (Sammelperioden 20.00–24.00, 24.00–04.00, 04.00–08.00 Uhr während 12 Tagen) bei Variation des Urin-pH durch Einnahme wechselnder Mengen von  $NH_4Cl$  bzw.  $NaHCO_3$  wurden statistisch ausgewertet (Figur 2). Die Berechnung der Regressionsgeraden ergab für die ULDH einen signifikanten linearen Anstieg der Aktivität von pH 5,0–8,1 ( $p < 0,001$ ). Auch die Aktivität der UAP zeigte einen signifikanten Anstieg im untersuchten pH-Bereich ( $p < 0,005$ ), doch erschien die Linearität der Regressionsgeraden nur als erste Annäherung. Möglicherweise

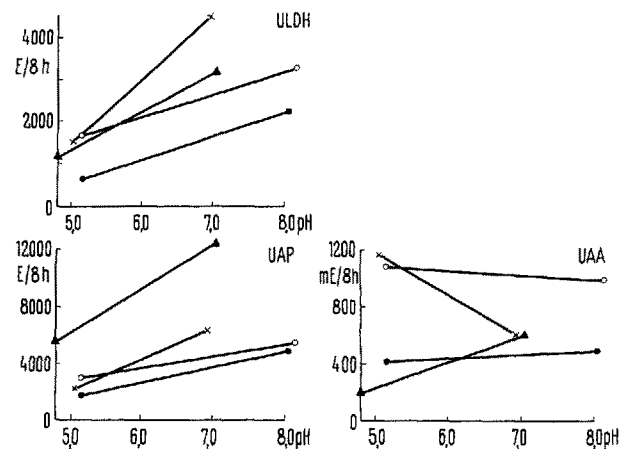


Fig. 1. ULDH, UAP und UAA: Gesamtaktivität/8 h im sauren und alkalischen Urin von 4 gesunden Erwachsenen.

<sup>1</sup> W. JöSCH und U. C. DUBACH, *Clinica chim. Acta* 15, 325 (1967).

<sup>2</sup> Abkürzungen: LDH = Lactatdehydrogenase; ULDH = im Urin. AP = Alkalische Phosphatase; UAP = im Urin. AA = Arylamidase (= sog. «Leucinaminopeptidase»); UAA = im Urin.

<sup>3</sup> U. C. DUBACH, *Helv. med. Acta* 33, 139 (1966).

Tabelle I. ULDH, UAP und UAA: Gesamtaktivität/8 h bei Gruppierung nach pH-Werten des Urins Mittel<sup>a</sup>- und Grenzwerte<sup>b</sup> bei Gesunden und Patienten

pH	Anzahl Bestimmungen	ULDH E/8 h	Anzahl Bestimmungen	UAP E/8 h	Anzahl Bestimmungen	UAA mE/8 h
5,1–5,5	45	3318 <sup>a</sup> (310–12115) <sup>b</sup>	56	4731 (370–15385)	12	708 (68–1485)
5,6–6,0	98	4915 (194–49270)	110	7240 (746–44607)	63	809 (34–5229)
6,1–6,5	50	5954 (567–45309)	65	8003 (1302–29743)	31	795 (100–3275)
6,6–7,0	42	5778 (448–31730)	54	10368 (731–68600)	8	820 (133–1643)

findet sich hier ein Maximum der Aktivität zwischen pH 6,0 und 7,0. Für die UAA ergab sich wohl eine lineare Regressionsgerade, die sich aber nicht signifikant von 0 unterschied ( $p < 0,30$ ). Die Urinvolumina dieser Versuchspersonen zeigten bei durchschnittlicher Diurese eine

Tabelle II. Häufigkeit der ULDH-Isoenzyme 1-5 im Urin von Gesunden und Patienten bei Gruppierung nach pH-Werten des Urins.

pH	Anzahl der Bestimmungen = N	ULDH-Isoenzyme Häufigkeit in % von N				
		1	2	3	4	5
5,1-5,5	35	100	85,7	42,9	37,1	37,1
5,6-6,0	88	100	95,5	62,5	53,4	44,3
6,1-6,5	48	100	100	68,8	60,4	39,6
6,6-7,0	38	100	94,7	76,3	73,7	60,5

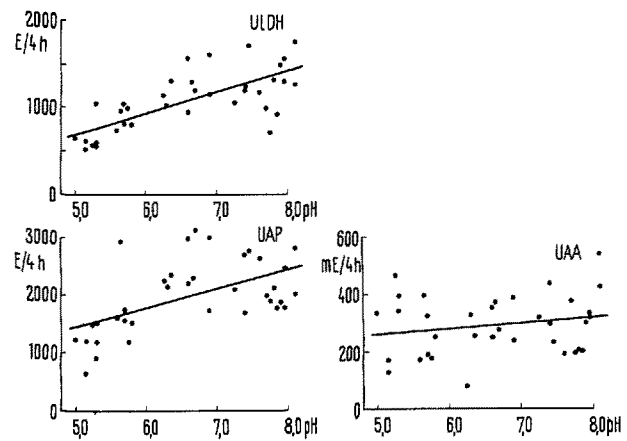


Fig. 2. ULDH, UAP und UAA: Gesamtaktivität in 36 4-h-Urinportionen verschiedener pH-Werte eines gesunden Erwachsenen.

gleichmässige Verteilung bei den verschiedenen pH-Werten, so dass ein Einfluss der Diurese, bzw. der Urinkonzentration auf die Resultate ausgeschlossen werden konnte.

Zur Abklärung der Beeinflussbarkeit der Aktivität von ULDH und UAP durch Veränderung des Urin-pH in vitro wurden saure Urinproben durch Zugabe von 0,1N NaOH innerhalb der im Urin physiologischerweise möglichen Grenzen alkalisiert, bzw. alkalische Proben durch 0,1N HCl angesäuert. Wegen der von Urin zu Urin wechselnden Pufferkapazität variierten die zu entsprechender pH-Veränderung benötigten Mengen Säure und Base. Der dadurch bedingte unterschiedliche Verdünnungseffekt wurde durch Vergleich der gemessenen Enzymaktivität mit derjenigen von Parallelbestimmungen mit H<sub>2</sub>O anstelle von Säure und Base korrigiert. Während nach Ansäuerung alkalischer Urinproben ein Abfall der Aktivität von ULDH und UAP auftrat, blieb die Aktivität der sauren Urine nach Alkalisierung erhalten oder nahm zu.

Bei der Mehrzahl der in Tabelle I aufgeführten Patienten wurden neben der Gesamtaktivität der ULDH im 8-h-Urin auch die ULDH-Isoenzyme bestimmt<sup>3</sup>. Eine Aufstellung nach % Häufigkeit der einzelnen Banden innerhalb der nach ihren pH-Werten gruppierten Urinproben zeigte, dass die Banden 3-5 mit abnehmender Urinacidität deutlich häufiger nachweisbar wurden (Tabelle II).

Nach der oben beschriebenen Variation des Urin-pH in vivo bei Gesunden (vgl. Figur 1) wurden die ULDH-Isoenzyme im stark sauren und alkalischen Urin untersucht. Bei annähernd vergleichbarer Gesamtaktivität nach entsprechend stärkerer Einengung des sauren Urins fand sich in diesem lediglich ULDH-1 vor, während im alkalischen Urin auch LDH 2-4 sichtbar waren (Figur 3).

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Untersuchungen, dass dem Urin-pH bei Enzymbestimmungen im Urin eine erhebliche Bedeutung zukommen kann: Im sauren Urin fand sich eine geringere Aktivität von ULDH und UAP als im alkalischen. Die Isoenzyme ULDH 2-4, die im alkalischen Urin gesunder Erwachsener nachweisbar waren, erschienen nicht in deren saurem Urin. Die Aktivität der UAA war im untersuchten pH-Bereich nicht beeinflusst<sup>4</sup>.

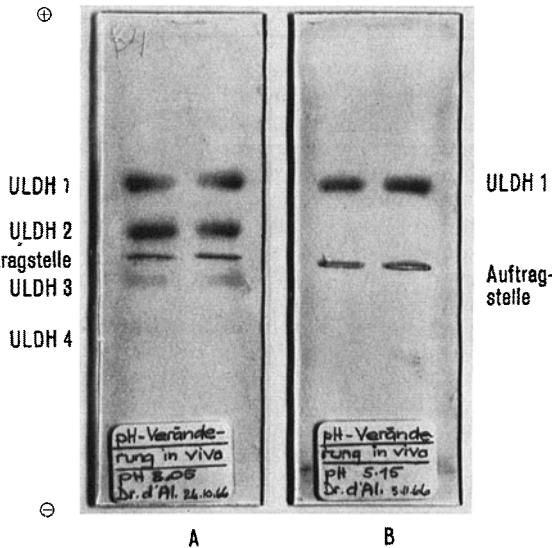


Fig. 3. ULDH-Isoenzyme im alkalischen (A) und sauren (B) Urin eines gesunden Erwachsenen.

**Summary.** The relationship between the pH of urine and the measured activity of ULDH, UAP and UAA was investigated in vivo and in vitro. The activity of ULDH and UAP is only half as much, or less, in acid urine (pH 4.8-5.1) as it is in alkaline urine (pH 7.0-8.1). The UAA activity, however, does not change in the pH range measured. The isoenzymes ULDH 2-4, present in alkaline urine of normal adults, does not appear in acid urine.

W. JÖSCH, U. C. DUBACH und M. STROBEL†

Medizinische Poliklinik der Universität Basel (Schweiz), 23. Januar 1967.

<sup>4</sup> Diese Arbeit wurde ermöglicht durch den Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung (Beitrag No. 4256). Technische Assistenz Fr. D. KELLER und Fr. I. NÖTZLI.