

Die Bedeutung der Aktivitätsbestimmung des Enzyms Dipeptidyl-Peptidase IV (DP IV) im klinischen Laboratorium

G. Küllertz

Institut für Laboratoriumsdiagnostik des Bezirkskrankenhauses Brandenburg, DDR

Zusammenfassung:

Das proteolytische Enzym Dipeptidyl-Peptidase IV (DP IV) kann in verschiedenen humanen Geweben und Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden. In lymphatischen Geweben, peripheren Blutzellen und Knochenmark befindet sich DP IV hauptsächlich in den T-Zellen.

Einige Befunde weisen auf die mögliche Einbeziehung des Enzyms in die Konvertierung biologisch aktiver Peptide wie Substanz P, β -Casomorphin aber auch des endogen gebildeten Interleukin-2 hin. Das chromatografische Muster der Serum-DP IV-Aktivität lässt auf Leber und Lymphozyten als Herkunftsorgane schließen. Bei Lebererkrankungen steigt die Serum-DP IV-Aktivität an. Patienten mit malignen Geschwülsten, akuter lymphoblastischer Leukämie, M. Hodgkin, Rheumatoider Arthritis, Multipler Sklerose, Lupus erythematoses visceralis, Multiplen Myelom und Gravidität weisen verminderte Serumaktivität auf. Benigne Geschwülste und Hypertonie haben keinen Einfluss auf die Serumaktivität. Eine Verschlechterung des klinischen und paraklinischen Bildes bei Patienten mit Rheumatoider Arthritis geht einher mit einer Abnahme der DP IV-Aktivität von Serum und Synovialflüssigkeit.

Die höchsten Dipeptidyl-Peptidase-Aktivitäten im Liquor cerebrospinalis wiesen Patienten mit bakterieller Meningitis auf. Alle Bakterien, welche aus dem Liquor cerebrospinalis isoliert wurden, zeigten hohe post-Prolin spaltende Enzymaktivitäten.

Schlüsselwörter:

Dipeptidyl-Peptidase IV – DP IV – Diagnose, Labor – Klinische Chemie – Enzym-Test

Summary:

The proteolytic enzyme dipeptidyl-peptidase IV (DP IV) exists in various tissues and body fluids of human organism. In lymphatic tissues, peripheral blood cells and bone marrow, DP IV occurs only in lymphocytes and predominately on the T μ or CD-4 subset.

Some hints exist for the involvement in the degradation of proline-containing biological active peptides e.g. substance P, β -casomorphine, endogenous interleukin-2. The source of the serum-DP IV is not yet clear, but the chromatographic pattern of the serum activity suggested, that liver and lymphocytes are strongly involved in the enzyme excretion. There is a high activity of DP IV in human serum if hepatic disorder occur. On the other hand in the patients with cancer, acute lymphocytic leukemia, Hodgkin's disease, rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, systemic lupus erythematosus, multiple myeloma and pregnancy the activity of the enzyme is low. No influence could be observed in the case of hypertension or benign neoplasm. If the activity stage of rheumatoid arthritis (clinical and paraclinical picture) is on the increase, the DP IV-activity in serum and synovial fluid decreases.

Characterizing cerebral diseases, there is a surprisingly high activity of the enzyme in the cerebrospinal fluid of patients with bacterial meningitis. Furthermore, all bacteria which could be isolated from cerebrospinal fluid show high activities of post-proline cleaving hydrolases.

Keywords:

Dipeptidyl-peptidase IV – DP IV – Diagnosis, Laboratory – Clinical Chemistry – Enzyme Test

Einleitung

Dipeptidyl-Peptidase (IV)-Aktivität lässt sich im humanen Organismus sowohl fest strukturgebunden an Zellmembranen zahlreicher Organe und Gewebe als auch in gelöster Form in allen Körperflüssigkeiten mit unterschiedlichen Aktivitäten nachweisen. Im Vergleich zu anderen Peptidasen, die zumeist ein breites Spektrum von Peptid-

substraten katalysieren, besitzt DP IV eine große Substratspezifität (22).

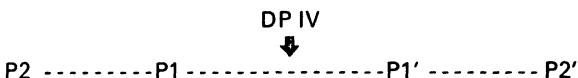
Erste Untersuchungen über die Verwendbarkeit der DP IV-Aktivitätsbestimmung als diagnostisches Hilfsmittel wurden schon kurz nach Entdeckung dieser Katalyse-spezifität (13) durchgeführt. Angaben zur diagnostischen Relevanz dieser Enzymaktivität im Blutplasma bzw. Serum, Urin, Liquor cerebrospinalis, Seminalplasma und Sy-

novialflüssigkeit liegen von mehreren Arbeitsgruppen vor. Während Aktivitätszunahmen des Enzyms in diesen Körperflüssigkeiten überwiegend auf Membranschädigungen DP IV enthaltender Gewebe hinweisen, werden Veränderungen der DP IV-Aktivität immer dann beobachtet, wenn sich die Erkrankung mit einer Störung der zellulären Immunabwehr auf dem Niveau der T-Zellen in Verbindung bringen lässt.

Folgende Ausführungen können Grundlage für den gezielten Einsatz der DP IV in der Laboratoriumsmedizin sein.

Biochemische Charakteristika

Dipeptidyl-Peptidase IV (EC 3.4.14.5) ist ein dimeres Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von etwa 280 kD. Von Peptiden werden nur dann Dipeptide vom N-terminalen Ende abgespalten, wenn sich in P1-Stellung L-Alanyl- oder L-Prolylreste befinden:



Im pufferfreien Medium weist DP IV des Serums wie auch in Hepes oder Tricin ein pH-Optimum von 7,8 auf. Puffer wie Tris/HCl können das Optimum bis pH 8,9 verschieben. Mit elektrophoretischen (z.B. Zelluloseazetatfolien-elektrophorese), nicht aber reaktionskinetischen Methoden, lassen sich im Serum 4 multiple DP IV-Formen unterscheiden. Die Differenzen werden auf verschiedene Kohlenhydratanteile zurückgeführt. Serum DP IV besitzt einen isoelektrischen Punkt von etwa 4,2.

Irreversibel kann DP IV als Serinpeptidase mit Diisopropylfluorophosphat (DFP) inhibiert werden. Dipeptide mit Substratsequenzen wie z.B. Gly-Pro inhibieren DP IV kompetitiv ($K_i = 0,1 \text{ mM}$). Als bester kompetitiver Inhibitor gilt z.Zt. ϵ -(4'-NO₂-Z)-Lys-Pro mit einem K_i von etwa $3 \times 10^{-4} \text{ M}$.

Mit ionischen Detergzentien wie Natriumdodezylsulfat (SDS) dissoziert DP IV in 2 identische Untereinheiten, die keinerlei Peptidaseaktivität aufweisen. Triton oder Harnstoff (bis 3%ig) inhibieren das Enzym nicht.

DP IV des Serums und verschiedener Organe oder anderer Körperflüssigkeiten ist temperaturstabil bis 56°C (30 min Inkubation).

Enzymaktivitätsbestimmung

In Körperflüssigkeiten

Der Meßansatz besteht aus 0,1 M Tricinpuffer pH 7,4 und 750 μM Glycyl-L-Prolyl-p-Nitroanilid. Meßtemperatur 37°C. Wellenlänge 405 nm. Substrat/Puffervolumen 500 μl. Probenvolumen 20 μl. Bei 1 cm Schichtdicke der Kuvette beträgt der Faktor am Spektrallinienfotometer (Eppendorf-Enzymmeßplatz) 2620. Ergebnis der Enzymaktivität in μM/I · s. Serum, Urin, Liquor, Synovialflüssigkeit, Pleurapunktat können unverdünnt verwendet werden. Seminalplasma mit physiologischer Kochsalzlösung 1 + 20 verdünnen. Auch extrem pathologische Proben (Ausnahme Seminalplasma) brauchen bei üblichen Meßzeiten unter 10 min nicht verdünnt zu werden.

Arbeitskurzanleitung

Erforderliche Menge Puffersubstanz mit H₂O und KOH auf pH 7,4 einstellen und nach 20 min kontrollieren (Puf-

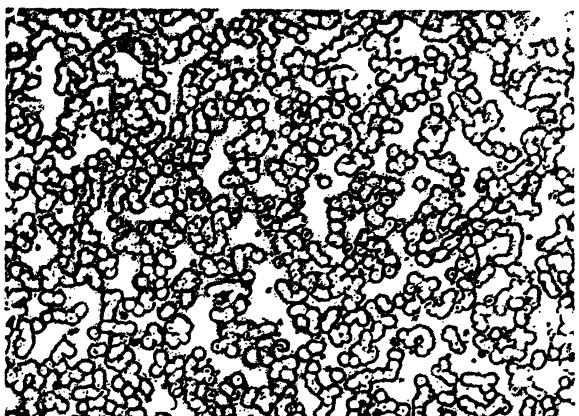


Abb. 1: Lokalisation der DP IV-Aktivität im Blutausstrich anhand der Fluoreszenz; Substrat Gly-Pro-β-Naphthylamid; kupplungsfreies Verfahren; Markierung der Lympho- und Thrombozyten

fer titriert nach), danach Substrat zugeben und Endvolumen einstellen. Fertiges Substrat/Puffergemisch in Plastampullen zu je 500 μl portionieren und bei –20°C lagern. Die Enzymaktivitätsbestimmung erfolgt nach Temperieren des fertigen Ansatzes auf 37°C durch Zugabe der Enzymprobe. Aufgetautes unbenutztes Substrat/Puffergemisch kann wieder eingefroren werden. Nach visueller Gelbfärbung der Substratproben müssen diese verworfen werden.

Thrombozyten/Lymphozyten (Enzymaktivität pro Partikel)

Nach Isolierung der Blutzellen mittels des üblichen Dichtezentrifugationsverfahrens (Ficoll) und 3maligem Waschen mit physiolog. Kochsalzlösung werden die Blutzellen im obigen Meßansatz, der zusätzlich 3% Triton X-100 enthält, für 5 Std. bei 37°C inkubiert. Nach Zentrifugation wird der Überstand gegen einen Leerwert (Berücksichtigung der nichtenzymatischen Substrathydrolyse) vermessen.

(Zahl der DP IV-positiv reagierenden Zellen)
Methode nach Lojda (25): 4 mg Glycyl-L-Prolyl-4-methoxy-β-naphthylamid werden in 0,5 ml N,N-Dimethylformamid gelöst und mit 10 ml 0,1 M Phosphatpuffer, pH 7,0, in dem 10 mg Fast Blue B gelöst wurden, versetzt. Die luftgetrockneten Blutausstriche werden mit einer Lösung aus 5% Ameisensäure in Methanol durch Eintauchen für 3 sec fixiert, luftgetrocknet und für 30 min in die frisch zubereitete Reaktionslösung getaut. DP IV-positiv reagierende Zellen (T-Lymphozyten) lassen sich an ihrer Rotfärbung erkennen. Höhere Empfindlichkeit weisen kupplungsfreie Verfahren mittels fluorogenen Substraten wie Glycyl-L-Prolyl-β-Naphthylamid bzw. -coumarinamid auf (21), mit denen sich in Blutausstrichen sowohl DP IV-positive Lymphozyten als auch Thrombozyten quantifizieren lassen (Abb.1).:

Lagerung der Proben

Urin, Serum und Plasmaproben können bei Raumtemperatur mehrere Stunden, bei 5°C etwa 24 Std. ohne Aktivitätsverlust gelagert werden. Tiefgefrorene Proben sind ohne Aktivitätsverlust mindestens ein Jahr lagerfähig. Luftgetrocknete und bei Raumtemperatur gelagerte Blutausstriche lassen sich mittels der aufgeführten histochimischen Methoden noch nach einem Jahr visualisieren.

Spermazellen in bei Raumtemperatur gelagerten Textilproben ließen sich noch nach 3jähriger Lagerzeit DP IV-spezifisch anfärben (23).

Physiologische Bedeutung

Ausgehend von der Substratspezifität und der Lokalisation des Enzyms werden sowohl Beziehungen zum Kollagenstoffwechsel als auch zur Konvertierung von Peptidhormonen diskutiert. So z.B. zum Neuromodulator Substanz P (Arg-Pro-Lys-Pro-Glu-Glu-Phe-Gly-Leu-Met-NH) (22), zum natürlichen Peptidhormon Kentsin (Thr-Pro-Arg-Lys), welches komplexe biologische Wirkungen auf kultivierte Fibroblasten zeigt (27), zum β -Casomorphin (Tyr-Pro-Phe-Pro-Gly-Pro-Ile), einem natürlichen Fragment des Caseins, welches opiatartige Wirkungen aufweist (9), zum Thyroliberin (1) und der Hämooestase (10). Obwohl sich in vitro die spezifische Konvertierung des jeweils eingesetzten Hormones durch DP IV zeigen lässt, fehlen schlüssige Beweise für die in vivo-Beteiligung von DP IV an diesen Prozessen. Die relativ hohen DP IV-Aktivitäten in Niere und Darm weisen auf die sicherlich bestehende katabole Bedeutung des Enzyms (Abbau von Peptiden des Primärharns, finale Verdauung prolinhaltiger Peptide wie z.B. Gliadin) hin.

Besonders die Entdeckung der DP IV-Aktivität der T-Lymphozyten (25) und die nachfolgende Subklassifizierung dieser Zellen als Interleukin II produzierende Zellen (11) zusammen mit dem Wissen, daß das Signalpeptid des Interleukin II Substrat der DP IV ist (28) und daß die Gabe von DP IV-Antikörpern auf Lymphozytenkulturen die Interleukin-2-Produktion dieser Zellen unterdrückt (31), fokussiert das Interesse auf die Bedeutung des Enzyms innerhalb der zellulären Immunität.

Referenzbereiche der DP IV-Aktivität

Die in Tab.1 zusammengestellten Bereiche konnten bei Serum, Urin und Seminalplasma von Gesunden ermittelt werden. DP IV-Aktivitäten von Synovialflüssigkeit und Liquor wurden aus ethischen Gründen nur in Patientenproben bestimmt, die zu Diagnosezwecken ohnehin entnommen wurden. Die DP IV-Aktivität des Urins wurde in den Harnproben direkt vermessen ohne vorher, wie für andere Urinenzymaktivitätsbestimmungen üblich, zur Abtrennung von Effektoren eine Sephadex-G10-Filtration vorzunehmen, da bisher keinerlei Effektoren im Harn nachgewiesen werden konnten. Auf Angaben von Geschlechtsdimorphismen wurde verzichtet, da die Unterschiede in Serum und Harn bei großen Probandenzahlen zwar statistisch signifikant, jedoch absolut nur geringfügig sind.

Statistisch signifikante intra-individuelle Unterschiede zwischen Serum und Plasma (Heparin bzw. Zitratplasma) konnten nicht festgestellt werden.

Diagnostische Bedeutung der DP IV-Serum/Plasmaaktivität

- Krankheiten mit diagnostisch verwertbaren DP IV-Aktivitätsveränderungen.
- Sonstige Erkrankungen, Gravidität, sportliche Belastung.
- Mögliche Ursachen der Serum-DP IV-Aktivitätsveränderungen.

a) Diagnostisch verwertbare DP IV-Aktivitätsveränderungen

Benigne abdominelle Erkrankungen

DP IV ist in hoher Konzentration in den Membranen der Sinusoidalzellen und Hepatozyten der Leber und den Kapillarendothelen von Blut- und Gallekapillaren lokalisiert. Bei einer komplikationslosen Cholezystolithiasis kann nicht mit einer massiven Zerstörung bzw. Alterierung dieser Zellen und anschließender Enzymausschwemmung in das Blut gerechnet werden (Tab.2). Im allgemeinen ist die Gallenblasenentzündung mit einer Cholezystolithiasis kombiniert und in vielen Fällen eine schwere Erkrankung, die den Allgemeinzustand des Patienten erheblich beeinträchtigt. Die durchschnittlichen Serum-DP IV-Aktivitätswerte der untersuchten 109 Patienten liegen deutlich unterhalb des Referenzbereiches und ließen sich statistisch sichern (Tab.2). Solange es bei der Choledocholithiasis nicht zu einem vollständigen Verschluß des Gangsystems oder zumindest einer Abflußbehinderung und somit zu einem Rückstau der Gallenflüssigkeit in den intrahepatischen Gallenwegen kommt, werden prinzipiell keine Unterschiede zum Verhalten der DP IV-Aktivität bei komplikationsloser Cholezystolithiasis beobachtet. Nach dem Verschluß der Gallenwege steigt die Serum-DP IV-Aktivität an. Nach Beseitigung der Abflußbehinderung liegt der DP IV-Wert wieder erwartungsgemäß innerhalb des Referenzbereichs (Abb.2).

Benigne Lebererkrankung

Sowohl eigene (22, 23) als auch Untersuchungen anderer Autoren (14, 16) belegen die deutlichen Serumaktivitätszunahmen bei dieser Patientengruppe, wenn Leberzellenschädigungen auftreten. Die bisher beobachtete höchste Serumaktivität mit 240 $\mu\text{M}/\text{min}$ wies ein Patient mit einer Pilzvergiftung auf. Die Ergebnisse einer multivariaten Diskriminanzanalyse unter Einbeziehung für die Diagnostik von Lebererkrankungen üblicher Parameter (wie z. B. ALAT, ASAT, GGT, AP, Bilirubin) zeigte keine erhöhte Sensitivität oder Spezifität der DP IV-Serumaktivitätsbestimmung im Vergleich zu den bisher erprobten paraklinischen Parametern (23).

Tab.1: DP IV-Aktivität in Körperflüssigkeiten (Angaben in $\mu\text{M}/\text{min} \cdot \text{min je Perzentile}$)

	5%	50%	95%	Probanden
Serum/Plasma	36	48	65	600 Blutsprender
Urin	5	8	11	500 Gesunde
Synovialflüssigkeit	10	27	55	18 Patienten
Liquor	0,120	0,144	0,168	20 Patienten
Seminalplasma	1000	1500	2000	100 Personen

Probanden beiderlei Geschlechts; Synovialflüssigkeit wurde von Patienten mit Rheumatoider Arthritis (Aktivitätsstufe 1), Liquor von Patienten, die retrospektiv dem Referenzbereich entsprechende Liquorbefunde aufwiesen, gewonnen.

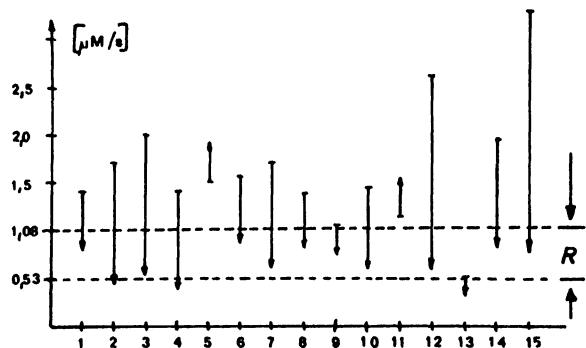


Abb. 2: Benigner Verschlußikterus; DP IV-Serumaktivität vor und nach Therapie (Nr. 1 – 15 Patienten, R = Referenzbereich)

Proliferative Erkrankungen

1975 konnte von einer japanischen Arbeitsgruppe erstmals eine Veränderung der Serum-DP IV-Aktivität bei verschiedenen proliferativen Prozessen nachgewiesen werden (12). Mit allerdings teilweise sehr kleinen Fallzahlen wurde in den folgenden Jahren eine statistisch signifikante Veränderung der Serum/Plasma-DP IV-Aktivität bei Karzinomen der Leber (11, 12, 14, 16, 19, 23, 34), des Pankreas (11), der Lunge (2) und bei unterschiedlichen Leukämieformen von verschiedenen Arbeitskreisen (3, 6, 23–25, 29) beschrieben. DP IV-Aktivitätserhöhungen werden innerhalb der malignen Erkrankungen nur bei denen der Leber beobachtet. Bei allen anderen malignen Geschwülsten treten ausschließlich Verminderungen der Serumaktivität auf.

Wie eigene Untersuchungen zeigen (23), unterscheiden sich Patienten mit malignen Geschwülsten anhand ihrer DP IV-Aktivität statistisch signifikant von denen mit benignen Geschwülsten (Tab. 2); die Patienten mit Rectumpolyphen von denen mit einem Rectumkarzinom bzw. mit Colonpolyphen von denen mit einem Colonkarzinom.

Tab. 2: Percentilenangabe der Dipeptidyl-Peptidase IV-Aktivität im Serum, unterteilt nach Diagnosegruppen (Meßansatz wie in der „Arbeitskurzanleitung“ beschrieben)

Patienten bzw. Diagnosegruppen	An- zahl	Enzymaktivität in nM/s Percentilenangabe		
		5%	50%	95%
Gesunde Blutspender	600	540	800	1090
Multiple Sklerose	23	250	500	620
Cholezystolithiasis	239	450	670	1020
Cholecystitis	109	330	450	1100
Choledocholithiasis	65	370	1003	2030
Gastroduodenalulzera	74	280	580	970
Versch. Lebererkrankungen	26	570	1170	2030
Magen-Darm-Malignom ohne Lebermetastasen	228	200	380	750
Magen-Darm-Malignom mit Lebermetastasen	106	300	780	2250
Desophagus-Malignom	9	100	320	490
Mamma-Karzinom	73	200	380	870
Kolorektale Karzinome	59	160	410	720
Kolorektale Polypen	32	460	750	920
Kolitis Ulcerosa	20	150	380	500
Polyposis	12	210	600	900
Rheumatoïd Arthritis	46	380	550	850
Gravide der 8.–38. Schwangerschaftswoche	300	300	480	870
Hypertoniker	120	550	790	1110
Paraproteinämie	13	300	450	900

Die Patienten mit Polyposis, deren Befund eine obligate Präkanzerose für Colonkarzinome darstellt, entsprechen mit ihren Werten teilweise den Patienten mit einem kolorektalen Karzinom (Abb. 3). Unterteilt man die große Gruppe der Patienten mit Magenkarzinom entsprechend der TNM-Nomenklatur wie in Abb. 3 angegeben, zeigt sich eine Verminderung der DP IV-Aktivität in Abhängigkeit vom Stadium. Bei an Ratten experimentell ausgelösten Tumoren, die unter Behandlung mit Lentinan, einem Anti-Tumor-Polysaccharid, mit der Regression des Tumorwachstums reagieren, beschreiben Kato et al. (18) eine zum Tumorwachstum parallele Zu- oder Abnahme der Serum-DP IV-Aktivität. Übereinstimmend mit Untersuchungen von Yoshii et al. (34) beobachten auch wir nach erfolgreicher Tumorresektion innerhalb der nächsten Monate einen normalisierenden Anstieg der DP IV-Serumwerte. Beim Auftreten von Rezidiven (Ausnahme Geschwülste der Leber) sinkt die Serum/Plasma-DP IV-Aktivität wieder ab.

Gleichfalls verminderte Serum-DP IV-Aktivitäten beobachteten wir bei Patientinnen mit einem Mammakarzinom. Bei diesen Patientinnen konnten gleichfalls die Serumaktivitäten der Phosphohexoisomerase (PHI) und der Titer des Carcinoembryonalen Antigens (CEA) bestimmt werden. Die berechneten diagnostischen Empfindlichkeiten sind in den Tab. 3a und b zusammengefaßt.

Im Unterschied zur Verminderung der DP IV-Aktivität steigen die Werte sowohl für CEA als auch für PHI an. Gemessen am zeitlichen und ökonomischen Aufwand der Bestimmung des CEA-Titers, erlaubt sowohl der Nachweis des Glykolyseparameters PHI als auch die DP IV-Aktivitätsbestimmung ein um Größenordnungen schnelleres und ökonomisch interessantes Vorgehen.

Autoimmunerkrankungen

Autoimmunerkrankungen werden in solche mit sicherer und wahrscheinlicher Immunpathogenese unterteilt. Zur ersten Gruppe gehören solche Erkrankungen wie Lupus erythematoses visceralis (LSE) und Rheumatoïder Arthritis (RA), zur zweiten Colitis ulcerosa und Multiple Sklerose (MS). Bei all diesen Erkrankungen werden signifikante Serum-DP IV-Aktivitätsverminderungen festgestellt (Tab. 2).

Für die Überlassung von PHI-Bestimmungsbestecks sind wir Prof. D. Kutter (Luxembourg) zu Dank verpflichtet.

Tab. 3a: Diagnostische Empfindlichkeit der Bestimmung von DP IV, PHI und CEA im Serum bei 73 Patientinnen mit Brustkrebs; TNM-Stadien 2 bis 4

CEA	51%	PHI + DP IV	88%
PHI	63%	PHI + CEA	81%
DP IV	65%	CEA + DP IV	88%
		PHI + CEA + DP IV	92%

Tab. 3b: Diagnostische Empfindlichkeit und Spezifität der Serum-DP IV-Aktivitätsbestimmung bei einigen der in Tab. 2 aufgeführten Tumoren

	Magen- karzi- nom	Darm- karzi- nom	Brust- krebs
Patientenzahl	56	59	73
Diagnostische Empfindlichkeit	65%	72%	69%
Spezifität	95%	95%	95%

Leukämien und maligne Lymphome

Statistisch signifikant verminderte Serum-DP IV-Aktivitäten lassen sich bei Patienten mit akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL), Mb. Hodgkin (6) und bei der Ausbildung von Plasmozytomen nachweisen (Tab.2). Keine Abweichungen vom Referenzbereich wurden bei den granulozytären Myelosen, akuten myeloischen (AML) und chronisch myeloischen Leukämien (CML) beobachtet (6).

b) Sonstige Erkrankungen, Gravidität, sportliche Belastung

Myokardinfarkt

Innerhalb 5 Tagen nach dem Infarkt konnten geringe nichtsignifikante Verminderungen der DP IV-Aktivitäten festgestellt werden (22).

Pankreaserkrankungen

Nakayama et al. (26) fanden im Tierversuch (mehrwochige Alkoholdiät bei Ratten) hochsignifikante DP IV-Aktivitätszunahmen des Pankreas, während die Serumaktivität nahezu konstant blieb. Dies wurde als Ergebnis einer sich einstellenden Pankreasfibrose gedeutet.

Hypertonie

Nachdem Fuyamada et al. (8) signifikante Serum-DP IV-Aktivitätsveränderungen gegenüber einem normotonen Kontrollkollektiv feststellten und diese Befunde auch theoretisch mit der entdeckten Substanz P in vitro Konvertierung durch DP IV in Verbindung gebracht werden konnten, wurden umfangreiche Kontrolluntersuchungen vorgenommen. Sowohl im Tierversuch (22) als auch in einer umfangreichen Studie bei 244 Patienten mit der Diagnose „essentielle Hypertonie“ (23) konnten die Ergebnisse der japanischen Arbeitsgruppe nicht bestätigt werden. Die Serumaktivitäten entsprachen weitgehend dem Referenzbereich.

Myopathien

Kar et al. (15) berichten über Zunahmen der DP IV-Aktivität im Muskelhomogenat bei Patienten mit Dystrophien des Typs „Becker-Kiener“ bzw. „Gliedergürtel“ um das Vierfache, sowie bei verschiedenen Denervationsprozessen.

Bei 40 Patienten mit Muskeldystrophie (M. Duchenne) mit z.T. stark erhöhten Kreatinkinasewerten (10fache des Referenzbereiches) (23) wurden Veränderungen der Serumaktivität nicht gefunden.

Gravidität

Bei Graviden nimmt die DP IV-Serumaktivität kontinuierlich bis zur 22. Schwangerschaftswoche bis auf etwa 50% des Referenzbereiches ab und erreicht diesen z.Zt. der Entbindung wieder (22).

Sportliche Belastung

Bei Leistungssportlern, bei denen durch entsprechende Betätigung eine Erhöhung der Kreatinkinase um etwa 20% auftrat, wurden gleichsinnige Aktivitätserhöhungen um etwa 17% auch für die DP IV nachgewiesen (22).

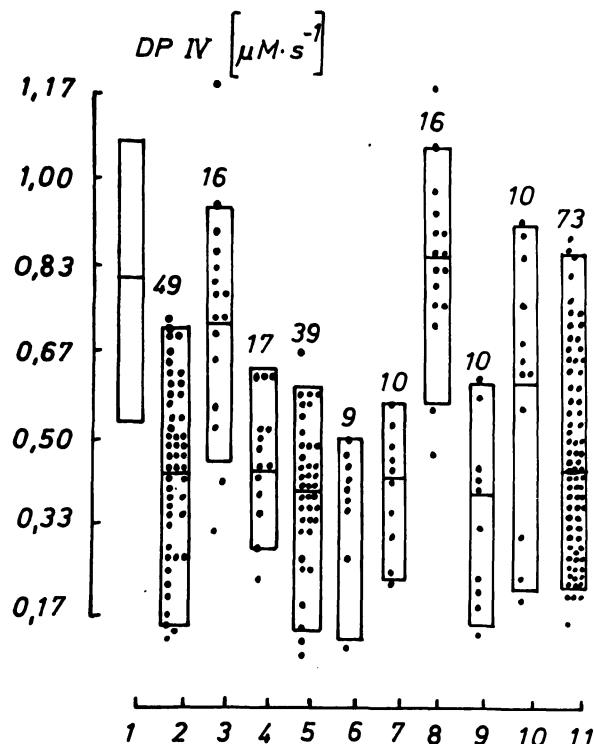


Abb. 3: Auftragung der Referenz- bzw. Vertrauensbereiche (5–95% Perzentile) der Serum Gly-Pro-p-Nitroanilid-Hydrolyseaktivität einzelner Patientenkollektive (TNM-Stadien): 1 = Referenzbereich, 2 = Rektumkarzinom, 3 = Rektumpolypos, 4 = Magenkarzinom (I, II), 5 = Magenkarzinom (III, IV), 6 = Oesophaguskarzinom (II–IV), 7 = Kolonkarzinom (II–IV), 8 = Koliopolypos, 9 = Koliitis ulzerosa, 10 = Polyposis, 11 = Mammakarzinom

c) Mögliche Ursachen der Serum-DP IV-Aktivitätsveränderungen

Endogene DP IV-Inhibitoren konnten bisher nicht nachgewiesen werden. Elektrophoretische und Untersuchungen mittels Ionenaustauschchromatographie (16, 23) belegen, daß beim Gesunden die DP IV-Aktivität des Plasmas/Serums zum großen Teil mit der multiplen Form der Lymphozyten-DP IV übereinstimmt. Bei Patienten mit

Tab. 4: Perzentilenangabe der Dipeptidyl-Peptidase-Aktivitäten in Liquorproben unterteilt nach Diagnosegruppen. (Meßansatz wie in der „Arbeitskurzanleitung“ beschrieben); Enzymaktivität in nM/s

Diagnosegruppen	Patientenzahl	Enzymaktivität in Perzentilen		
		5%	50%	95%
Neuritis/Polyneuritis	39	1,1	3,3	5,5
Wurzelreizsyndrom	30	1,0	2,4	2,8
Diskopathie	37	2,0	2,9	4,8
Raumfordernder Prozeß	26	1,5	2,1	3,2
Traumatische Schädigung	9	2,2	2,8	4,2
Bakterielle Meningitis	8	6,1	13,2	47,3
Abakterielle Meningitis	6	2,0	2,4	4,9
Enzephalitis	23	2,0	3,5	6,9
Endogene Psychose	30	1,7	2,1	2,8
Psychopathie	11	1,9	2,3	3,0
Oligophrenie	15	2,0	2,3	3,1
Neurose	8	2,0	2,2	2,6

Alterationen der Leber, bei denen DP IV-Aktivitätserhöhungen des Serums festgestellt werden, läßt sich eine DP IV-Fraktion im Serum nachweisen, die mit der aus Leberhomogenaten identisch ist. Bei allen von uns untersuchten Patienten (maligne Geschwülste, MS, RA, Paraproteinämie, Gravide), bei denen Serum-DP IV-Aktivitätsverminderungen nachgewiesen wurden, ist die den Lymphozyten entsprechende multiple Form quantitativ vermindert (Abb. 4). Patienten mit Serum-DP IV-Aktivitätserhöhungen und malignen Geschwülsten (einschließlich Leberzellkarzinom) zeigen ebenfalls eine verminderte Aktivität dieser multiplen Form.

Die bisherigen Kenntnisse weisen auf eine enge Beziehung zwischen der Aktivitätsverminderung der Serum/Plasma-DP IV-Aktivität und der quantitativen Zahl von DP IV-positiv reagierenden T-Lymphozyten bzw. deren Aktivitätszustand hin (23). Eine verminderte Serum-DP IV-Aktivität kann als Ausdruck einer spezifischen Veränderung des zellulären Immunsystems auf der Stufe der T-Lymphozyten verstanden werden.

Zelluläre Elemente des Blutes

Obwohl die DP IV-Aktivitäten in T-Lymphozyten und Thrombozyten nachgewiesen wurden (23), liegen gesicherte und diagnostisch verwertbare Kenntnisse nur für die T-Zellen vor.

Sowohl durch Antikörpertechniken als auch mittels Aktivitätstesten ließ sich zeigen, daß hauptsächlich eine Subfraktion der Lymphozyten, nämlich T_μ bzw. OKT-4 positiv reagierende T-Lymphozyten DP IV-Aktivität aufweisen. Scholz et al. (30, 31) fanden Hinweise, daß die Interleukin-2-Produktion der T-Lymphozyten eng mit der DP IV-Aktivität verknüpft ist. Da Interleukin-2 einen der wichtigen Faktoren der zellulären Immunologie auf der Stufe der T-Lymphozyten darstellt, sind bei Erkrankungen, die mit einem Defekt dieser Zellen einhergehen, Veränderungen der Quantität der DP IV-positiven Zellen ebenso zu erwarten, wie eine qualitative Veränderung der spezifischen DP IV-Aktivität je DP IV-positive Zelle. Die Quantifizierung DP IV-positiver Zellen im Blutausstrich ermöglicht über die Bestimmung des funktionellen Parameters DP IV eine Subklassifizierung von T-Zellen unter Umgehung üblicher immunologischer Techniken.

Erwartungsgemäß wurden in ersten Untersuchungen mit teilweise sehr geringen Fallzahlen (20), aber auch in größeren Studien (32) solche diagnostisch verwertbaren Abweichungen vom Referenzbereich bei Patienten mit immunologisch gesicherter HIV-Infektion nachgewiesen.

Signifikante Abnahmen der Zahl der DP IV-positiv reagierenden Lymphozyten wurden in Blutausstrichen von Patienten mit M. Hodgkin und chronisch lymphatischer Leukämie (B-Zell-Typ) nicht aber bei Patienten mit granulozytären Myelosen (akute myeloische Leukämie bzw. chronisch myeloische Leukämie) entdeckt (4, 6, 22, 25). Patienten mit Mycosis fungoides, einem T-Zell-Lymphom, welches eine maligne Systemerkrankung darstellt, die vorwiegend von der Haut ausgeht und auf diese meist begrenzt bleibt, zeigen in den betroffenen Bereichen eine verminderte Zahl von DP IV-positiv reagierenden Lymphozyten (33).

Anzahl und spezifische DP IV-Aktivität der DP IV-positiv reagierenden Lymphozyten sind ebenfalls bei Patienten mit malignen Geschwülsten des Gastrointestinaltraktes und der Mamma verändert (23).

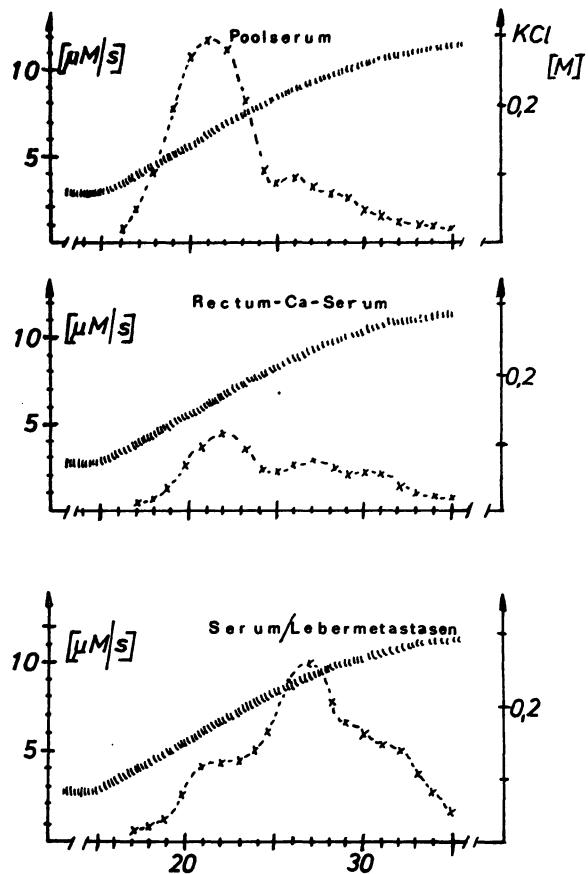


Abb. 4: Ionenaustausch-Elutionsprofil der DP IV-Aktivitäten von Referenz- und Patientenserum mit gastrointestinalen Karzinomen:
a = Referenzserum, b = Kolonkarzinomserum, c = Kolonkarzinomserum mit Lebermetastasen (Sephacel A-50, Mikrosäulen 6 x 60 mm, Barbituratpuffer 0,05 M, pH 8,4, KCl-Gradient, Fraktionen zu 500 µl, 14 ml/h)

DP IV-Aktivität im Harn

Wie vergleichende Untersuchungen mit anderen im Urin nachzuweisenden Enzymen zeigen (4, 23), verhält sich die DP IV als membrangebundenes Enzym (hauptsächlich in den Mikrovilli der proximalen Tubuli lokalisiert) ähnlich wie die Alaninaminopeptidase (AAP). Korrelationen der Serum-DP IV-Aktivität mit denen des Harns können nicht nachgewiesen werden, da das Enzym mit seinem großen Molekulargewicht normalerweise nicht filtriert wird. Die hohen DP IV-Aktivitäten des Harns bei Patienten mit Lebererkrankungen (M. Laennec) lassen sich aufgrund der Elutionsprofile am Ionenaustauscher ebenso wie die Normalaktivitäten des Urins dem Ursprungsorgan Niere zuordnen (23). Dies weist auf die seit längerer Zeit bekannte Tatsache hin, daß bei Lebererkrankungen durch sekundäre Beeinflussung der Niere membrangebundene Enzyme in den Harn freigesetzt werden.

Endogene Effektoren der DP IV, die eine Aktivitätsbestimmung im nativen Harn verfälschen könnten, wurden bei Untersuchungen an über 1000 Harnproben nicht festgestellt. Ein Monitoring der Gabe nierenschädigender Therapeutika wie z.B. Cis-Platin bei Tumoren der Eileiter mittels DP IV-Aktivität erübriggt eine vorherige Aufbereitung der Urinprobe mittels Gelfiltration.

Bei einer erhöhten DP IV-Aktivität des Harns muß bei geschlechtsreifen Personen auch an eine mögliche Kon-

tamination mit Samenflüssigkeit gerechnet werden, da die spezifische Aktivität des humanen Seminalplasmas etwa 200mal größer als die des Urins ist.

Dipeptidyl-Peptidase-Aktivität im Liquor cerebrospinalis

Um die diagnostische Validität der DP IV bei Liquor-Untersuchungen einschätzen zu können, wurden bei 650 Patienten, sofern die punktierte Menge für die komplette Routineuntersuchung ausreichend war, zusätzlich die Dipeptidylpeptidaseaktivität bestimmt. 70 Liquores konnten als Referenzkollektiv verwendet werden, da alle Routineuntersuchungen Normalbefunde ergaben und sich die Verdachtsdiagnosen besonders für die neurologischen Erkrankungen nicht bestätigten. Die Ergebnisse sind in Tab. 4 zusammengestellt (23).

Statistische Beziehungen zwischen der Dipeptidyl-Peptidaseaktivität von Liquor und Serum bei Patienten ohne neurologische Erkrankungen konnten nicht nachgewiesen werden (23). Allerdings muß bei erheblichen Blutungen in die Liquorräume hinein, bzw. bei Störung der Blut-Liquor-Schanke mit einer Beeinflussung der Liquor-Peptidase-Aktivität gerechnet werden.

Die deutlichen Aktivitätserhöhungen bei den Patienten mit bakterieller Meningitis können diagnostisch genutzt werden. Mittels Gelverteilungsuntersuchungen werden bei Liquores dieser Patienten Peptidaseanteile als Bakterienenzym charakterisiert.

Alle bisher aus Liquor isolierten Bakterien (*E. coli*, Menigokokken, Pneumokokken, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas*) wiesen post-Prolin spaltende Aktivitäten (Substrate: Glycyl-Prolyl-p-Nitroanilid, Prolyl-Glycyl-Prolyl-p-Nitroanilid) unterschiedlicher Substratspezifität auf (23). Bei allen untersuchten Liquorproben, die von Patienten mit bakterieller Meningitis erhalten wurden, konnten mit einem Gemisch dieser Substrate Enzymaktivitäten beobachtet werden, die deutlich außerhalb des Referenzbereiches des abakteriellen Liquors lagen (Tab. 5) und nach Therapie signifikant abfielen (Abb. 5).

Die in Tab. 5 und Abb. 4 dargestellten Ergebnisse wurden teilweise von Patienten erhalten, die mit Chemotherapeutika behandelt wurden. Für die meisten Medikamente ist es bei oraler oder intravenöser Applikation unwahrscheinlich, daß sich eine Liquorkonzentration einstellt, die den hundertsten Teil der täglichen Maximaldosis (TMD) beträgt.

Von den wichtigsten, bei dem Patientengut angewendeten Medikamenten wurden mittels Poolliquor die mögliche *in vitro*-Effektuierung der Glycyl-Prolyl-p-Nitroanilid-Hydrolyse bei pH 7,4 untersucht. Bei einer TMD-Konzentration der Medikamente von 10^{-2} effektuierte keines der nachfolgend beschriebenen Medikamente die enzymatische Hydrolyse. Bei einer Konzentration, die der TMD entsprach, konnte für Acesal, Aminophenazon, Dexamethason, Dihydtamin, Jupal, Phenobarbital, Prednisolon, Primidon, Radecol, Vitamin B₁ und B₆ keinerlei Effekt und für Azamun (7%), Chloramphenikol (12%), Penizillin G (25%) und Profenamin (5%) eine geringe Inhibition nachgewiesen werden (A2).

Dipeptidyl-Peptidase-Aktivität in der Synovialflüssigkeit

Bei über 90 Patienten mit gesicherter Rheumatoide Arthritis (RA) konnte die DP IV-Aktivität bestimmt werden

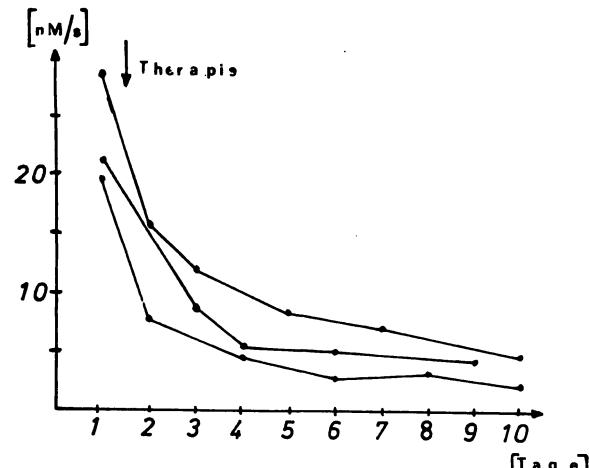


Abb. 5: Verlauf der Gly-Pro-p-Nitroanilid spaltenden Aktivität im Liquor bei pH 7,4 bei 3 Patienten mit bakterieller Meningitis nach Therapie

(RA). Bei Zunahme des Aktivitätsgrades der RA (klinisches und paraklinisches Bild) verringert sich die Enzymaktivität (Tab. 6).

Mögliche Enzymaktivitätsverminderungen, die durch katabole Prozesse verursacht sein könnten, ließen sich ebensowenig nachweisen, wie die Wirkung endogener Inhibitoren.

Im allgemeinen werden bei entzündlichen Gelenkerkrankungen sowohl für lysosomale als auch für Enzyme des Zitronensäurezyklus bzw. der Glykolyse erhöhte Enzymaktivitäten beschrieben.

Obwohl die DP IV aufgrund des Molekulargewichtes nur bei einer extrem erhöhten Blut-Synovia-Schanke filtriert werden sollte, lassen sich statistische Beziehungen zwischen der DP IV-Aktivität von Synovialflüssigkeit und Serum bei den genannten Patienten (Korrelationskoeffizient $r = 0,51$) nicht aber zwischen dem Gesamteiweißgehalt beider Körperflüssigkeiten nachweisen (23).

Diese Untersuchungen deuten auf eine systemische Beeinflussung der DP IV-Aktivität durch die RA, da bei dieser Krankheit zwar hauptsächlich die Gelenke befallen sind, aber Auswirkungen auch auf andere Systeme beobachtet werden.

DP IV-Aktivität im humanen Seminalplasma

Wie elektrophoretische, morphologische und Untersuchungen mittels der Gelchromatographie zeigen, können an der Bildung der Seminalplasma-DP IV Hoden, Neben-

Tab. 5: Enzymaktivitäten im Liquor von Patienten mit Meningitis (Substratgemisch Gly-Pro-NH₂/Pro-Gly-Pro-NH₂ jeweils 5×10^{-4} M, pH 7,4, 0,1 M Hepes-Puffer)

Liquorproben	Anzahl	Enzymaktivität (nM/s) Perzentilenangabe		
		5%	50%	95%
Abakterielle Meningitis	17	4,7	10,0	14,8
Bakterielle Meningitis	23	27,3	48,6	251,9

Tab. 6: DP IV-Aktivitäten in Gelenkpunkaten von Patienten mit Rheumatoïd Arthritis in Abhängigkeit vom Entzündungsgrad (A1 – A3); Enzymaktivitätsbestimmung wie in der „Arbeitskurzanleitung“ beschrieben

Patienten/ Entzündungsgrad	An- zahl	DP IV-Aktivität in nM/s je Perzentile		
		5%	50%	95%
Synovialflüssigkeit aller Patienten	90	89	293	709
A1	18	167	453	912
A2	29	106	258	736
A3	43	45	250	607

hoden, Samenblase, Samenleiter und Prostata beteiligt sein. Mittels Zelluloseazetafolien-Elektrophorese lassen sich anhand des Elektrophoresemusters einzelne Enzymaktivitätsgipfel Herkunftsorganen zuordnen (23).

Im Gegensatz zu anderen Körperflüssigkeiten existieren im Seminalplasma zwei DP IV-Formen mit unterschiedlichem Molekulargewicht (265 und > 1400 kD). Die relativen Volumenaktivitäten der 265 kD-Form betragen bei 50 gesunden Spendern zwischen 9 und 22% (5–95% Perzentile). Von 30 Patienten der andrologischen Sprechstunde wies nur ein Patient Abweichungen mit gleichhohen Enzymaktivitäten für beide Formen auf. Alle anderen üblichen Spermaqualitätsparameter befanden sich bei diesen Patienten im Referenzbereich (23).

Bei 200 Patienten der andrologischen Sprechstunde mit Fertilitätsproblemen konnte keine Korrelation zwischen der Seminalplasma-DP IV-Aktivität und anderen Spermaqualitätsparametern wie Spermamotilität, Fruktosegehalt, Eiweißgehalt und der Anfärbbarkeit mit Phenolrot gefunden werden. Die Korrelation der DP IV-Aktivität des Seminalplasmas mit der Spermadichte ist mit $r = 0,56$ schlechter als die für Acrosin ($r = 0,87$) beschriebene.

Schrifttum:

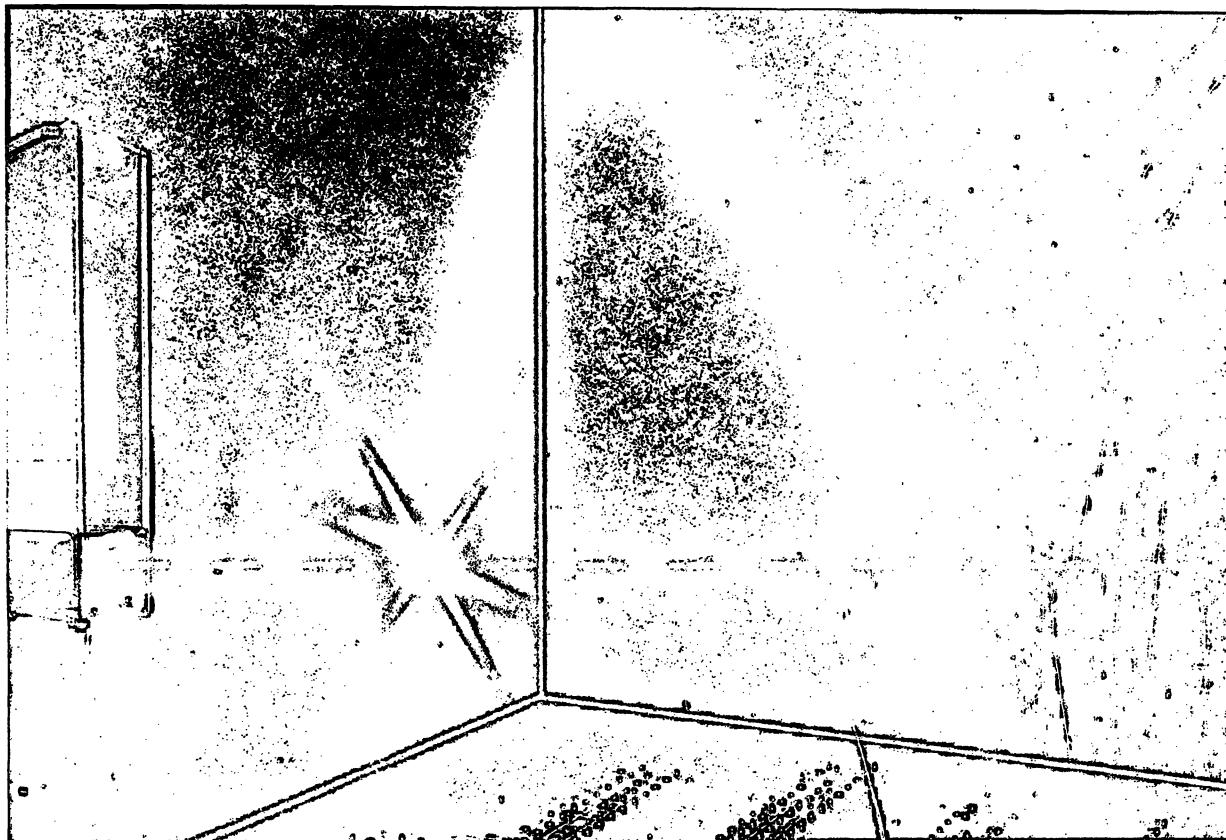
- BROWNE, P., O'CUINN, G.: An evaluation of the role of a pyroglutamyl peptidase, a post-proline cleaving enzyme and a post-proline dipeptidyl aminopeptidase, each purified from the soluble fraction of guinea-pig brain, in the degradation of thyroliberin in vitro. *Eur. J. Biochem.* **137**, 75–87 (1983).
- BURCHARDT, U., KLAGGE, M., VON KLITZING, K. L., NEUBERT, K., BARTH, A.: Serum-Dipeptidylpeptidase IV-Aktivität bei Patienten mit Bronchialkarzinom. *Z. Klin. Med.* **40**, 613–614 (1985).
- FELLER, A. C., PARWARESCH, M. R., LENNERT, K.: Subtyping of chronic lymphocytic leukemia of T-type by dipeptidylaminopeptidase IV. *Cancer* **52**, 1609–1612 (1983).
- FRANCKE, M., BURCHARDT, U., KRAUSS, J., NEEF, L., BARTH, A.: DP IV-, AAP-, β -Glucuronidase- und Proteinausscheidung mit dem Harn bei Nierenalterationen. In (23) S.165–169.
- FUJITA, K., HIRANO, M., OCHIAI, J., FUNABASHI, M., NAGATSU, I., NAGATSU, T., SAKAKIBARA, S.: Serum glycylproline p-nitroanilidase activity in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Clin. Chim. Acta* **88**, 15–20 (1978).
- FUJITA, K., HIRANO, M., TOKUNAGA, K., NAGATSU, I., NAGATSU, T., SAKAKIBARA, S.: Serum glycylproline p-nitroanilidase activity in blood cancers. *Clin. Chim. Acta* **81**, 215–217 (1977).
- FUJIWARA, K., KATYAL, S. L., LOMBARDI, B.: Influence of age, sex and cancer on the activities of gammaglutamyl-transpeptidase and of dipeptidyl-aminopeptidase IV in rat tissues. *Enzyme* **27**, 114–118 (1982).
- FUYAMADA, H., HINO, M., NAGATSU, T., OGAWA, K., SAKAKIBARA, S.: Serum glycylproline p-nitroanilidase activity in human hypertension. *Clin. Chim. Acta* **74**, 177–181 (1977).
- HARTRODT, B., NEUBERT, K., FISCHER, G., DEMUTH, U., YOSHIMOTO, T., BARTH, A.: Decodation of β -Casomorphine-5 by proline specific endopeptidase (PSE) and post proline cleaving enzyme (PPCE). *Pharmazie* **37**, 72–73 (1982).
- HEYMANN, E., MENTLEIN, R.: Is DP IV involved in the regulation of blood pressure and coagulation? *Klin. Wochenschrift* **62**, 30–35 (1984).
- HINO, M., FUYAMADA, H., HAYAKAWA, T., NAGATSU, T., OYA, H., NAKAGAWA, Y., TAKEMOTO, T., SAKAKIBARA, S.: X-prolyl dipeptidyl-aminopeptidase activity with X-proline p-nitroanilides as substrates in normal and pathological human sera. *Clin. Chem.* **22**, 1256–1261 (1976).
- HINO, M., NAGATSU, T., KAKUMU, S., OKUYAMA, S., YOSHII, Y., NAGATSU, I.: Glycylprolyl- β -naphthylamidase activity in human serum. *Clin. Chim. Acta* **62**, 5–11 (1975).
- HOPSU-HAVU, V. K., GLENNER, G. G.: A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycylprolyl- β -naphthylamide. *Histochemistry* **7**, 197–201 (1966).
- HUTCHINSON, D. R., HALLIWELL, R. P., LOCKHARDT, J. D. F., PERKE, D. V.: Glycylprolyl p-nitroanilidase in hepatobiliary disease. *Clin. Chim. Acta* **109**, 83–89 (1981).
- KAR, N. C., PEARSON, C. M.: Dipeptidyl-peptidases in human muscle disease. *Clin. Chim. Acta* **82**, 185–192 (1987).
- KASAHA, Y., FUJII, N., NAKA, H., NAGATSU, T.: Multiple forms of glycylprolyl-dipeptidyl-aminopeptidase in human sera from patients with hepatitis. *Biomed. Res.* **3**, 265–269 (1982).
- KASAHA, Y., LEROUX-ROELS, G., NAKAMURA, N., CHISARI, F.: Glycylprolyl-diaminopeptidase in human leucocytes: selective occurrence in T lymphocytes and influence on the total serum enzyme activity. *Clin. Chim. Acta* **139**, 295–302 (1984).
- KATO, T., NAGATSU, T., SHIOI, T., SAKAKIBARA, S.: Reduction of serum x-prolyl dipeptidyl-aminopeptidase activity in tumour-bearing mice and reversal of reduced enzyme activity by lentinan, an anti-tumour polysaccharide. *Experientia* **35**, 409–410 (1979).
- KOJIMA, J., KANATANI, M., KATO, M., TOHJOH, F., NAKAMURA, N.: Serum glycyl-proline dipeptidyl-aminopeptidase activity in human hepatic cancer. *Clin. Chim. Acta* **93**, 181–187 (1979).
- KÜLLERTZ, G., FISCHER, G., KÜLLERTZ, Gabriele, BARTH, A., SCHILLER, W., BAUMGARTEN, R.: Verfahren zum Nachweis einer verminderten Lymphozyten-T-Zellfunktion. *Patentschrift WP C Q 286475* (1985).
- KÜLLERTZ, G., FISCHER, G., KÜLLERTZ, Gabriele, FISTLER, U.: Verfahren zur Differenzierung von T-Lymphozyten in Zellsastrichen. *Patentschrift WP C 12 Q 296931* (1987).
- KÜLLERTZ, G., OEHME, P., BARTH, A.: Dipeptidyl-Peptidase IV — Chemie, Biochemie und physiologische Aspekte. Heft 11 d. Reihe „Beiträge zur Wirkstofforschung“, Berlin-Friedrichsfelde; 192 S. (1981).
- KÜLLERTZ, G., FISCHER, G., KÜLLERTZ, Gabriele, FISTLER, A.: Dipeptidyl-Peptidase IV — Biochemie, Physiologie und Pathobiologie. Heft 27 d. Reihe „Beiträge zur Wirkstofforschung“. Berlin-Friedrichsfelde; 223 S. (1986).
- LOJDA, Z.: Studies on dipeptidyl(amino)peptidase IV/blood vessels. *Histochem.* **59**, 153–166 (1979).
- LOJDA, Z.: Studies on glycyl-proline naphthylamidase. *Histochemistry* **54**, 299–309 (1977).
- NAKAYAMA, K., YAMADA, M., HIRAYAMA, C.: The effect of ethanol on glycyl-prolyl dipeptidyl-aminopeptidase activity in the rat pancreas and liver. *Biochem. Pharmacol.* **29**, 3210–3211 (1980).
- PÜSCHEL, G., MENTLEIN, R., HEYMANN, E.: Isolation and characterisation of dipeptidyl-peptidase IV from human placenta. *Eur. J. Biochem.* **126**, 359–365 (1982).
- ROBB, R. J., KUTNY, R. M., PANICO, M., MORRIS, H., DeGRADO, W. F., CHOWDHRY, V.: Posttranslational modification of human T-cell growth factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **116**, 1049–1055 (1983).
- SCHÖN, E., DEMUTH, H. U., BARTH, A., ANSORGE, S.: Dipeptidyl peptidase IV of human lymphocytes — evidence for specific hydrolysis of gly-pro-p-nitroanilide in T-lymphocyte. *Biochem. J.* **223**, 255–258 (1984).
- SCHOLZ, W., FELLER, A. C., ULMER, A. J., FLAD, H. D.: Association of IL-2 production with the expression of dipeptidyl-peptidase IV (DP IV) on human T-lymphocytes. *Proc. 2nd Intern. Workshop and Conference on Leucocyte-Differentiation Antigens*, Boston, September 1984.
- SCHOLZ, W., MENTLEIN, R., HEYMANN, E., FELLER, A. C., ULMER, A. J., FLAD, H. D.: IL-2 product by human T-lymphocytes identified by antibodies to DP IV. *Cellular Immunol.* **93**, 199–212 (1985).
- SMITH, R. E., WINKLER, J. R.: Part II. Dipeptidyl peptidase IV zymograms of peripheral blood T-lymphocytes of homosexual with AIDS differ from heterosexual controls. *Proceedings of the Histochemical Society 37th Annual Meeting*. (Juni 1986), 1369.
- STERRY, W., STEIGLEDER, G. K., GOOS, M., MEISTERERNST, E.: In situ identification and enumeration of helper T lymphocytes in cutaneous malignant lymphomas by DP IV. *J. Cutaneous Pathology* **9**, 119–120 (1982).
- YOSHII, Y., KASUGAI, T., KATO, T., NAGATSU, T., SAKAKIBARA, S.: Changes in serum dipeptidyl-aminopeptidases IV activity of patients with gastric carcinoma after surgical excision and the enzyme activity in the carcinoma tissue. *Biochem. Med.* **25**, 276–282 (1981).

Anschrift des Verfassers:

Dr. sc. nat. G. Küllertz
Fachbiochemiker d. Medizin
Institut für Laboratoriumsdiagnostik
des Bezirkskrankenhauses Brandenburg/DDR
Hochstraße
DDR-1800 Brandenburg

Behring TurbiTimeSystem

Einstieg in eine neue Dimension der Plasmaproteinbestimmung



Der Behring Turbitimer und speziell auf das Gerät abgestimmte Turbiquant®-Reagenzien bilden das TurbiTimeSystem. Ein neues, fortschrittliches System, das die Plasmaproteinbestimmung in Ihrem Labor noch einfacher und schneller macht.

Modernste Technik

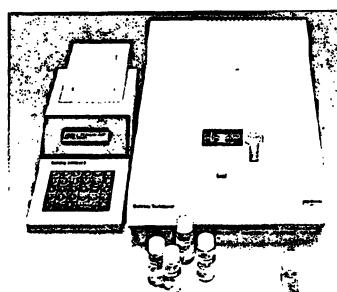
- Eingabe der Referenzkurve über Barcode-Leser
- Automatische Reagenzien-Identifikation
- Automatische Temperatur-Korrektur
- Messung auf beiden Seiten der Heidelberger Kurve
- Bidirektionales Interface

Schnelle und zuverlässige Analytik

- Vorkalibrierte Reagenzien mit langer Haltbarkeit
- Extrem große Meßbereiche
- Meßergebnisse innerhalb von Sekunden
- Integriertes Qualitätskontrollprogramm

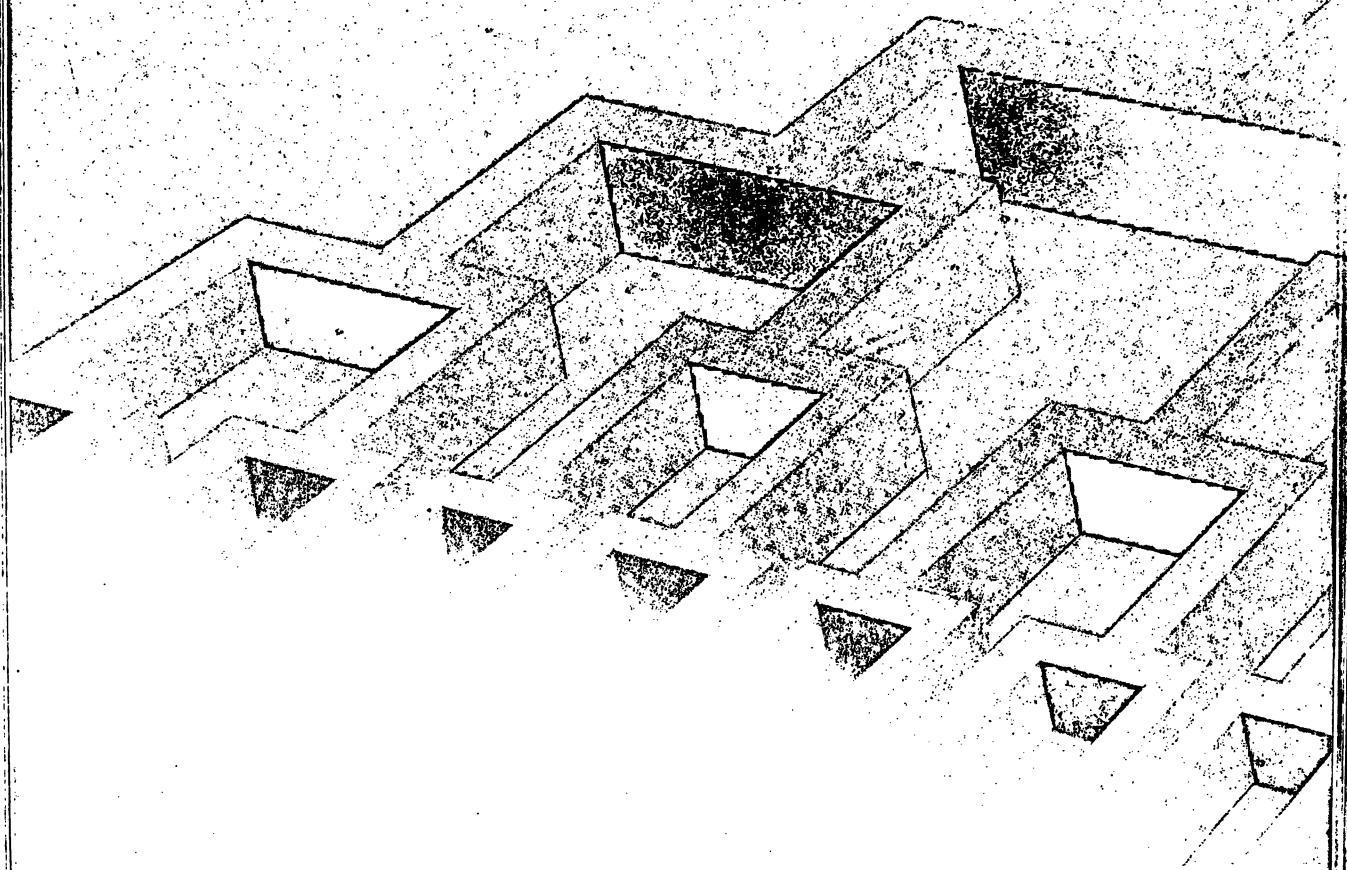
Einfache Durchführung.

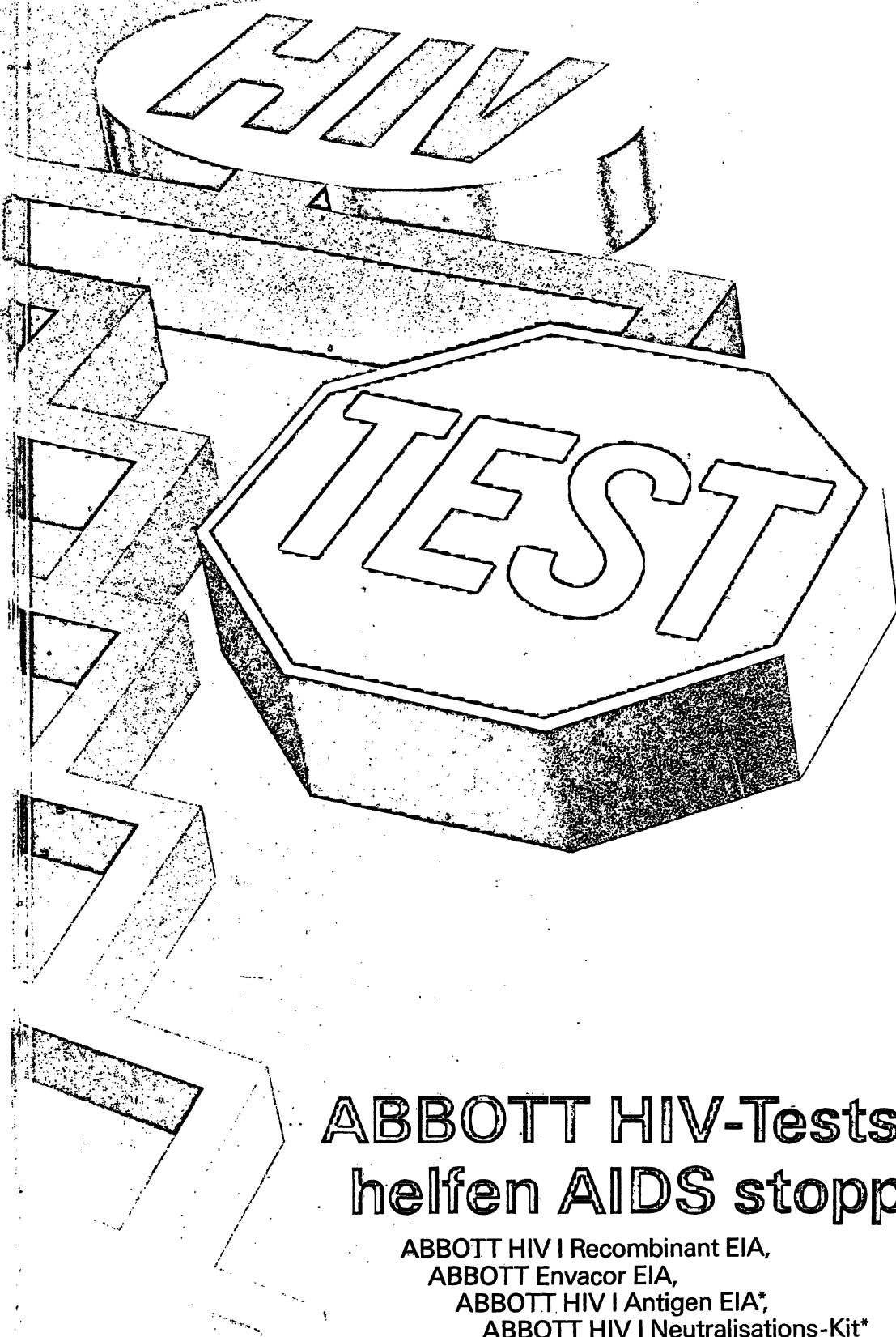
- Bedienung im Dialogverfahren
- Gebrauchsfertige Turbiquant®-Reagenzien
- Einheitliche Probenverdünnung und Reagenzvolumina
- Automatische Durchmischung und Start der Messung



Behringwerke AG
Medizinische Information
und Vertrieb
6230 Frankfurt am Main 80

BEHRING
G. Behring





ABBOTT HIV-Tests helfen AIDS stoppen.

ABBOTT HIV I Recombinant EIA,

ABBOTT Envacor EIA,

ABBOTT HIV I Antigen EIA*,

ABBOTT HIV I Neutralisations-Kit*

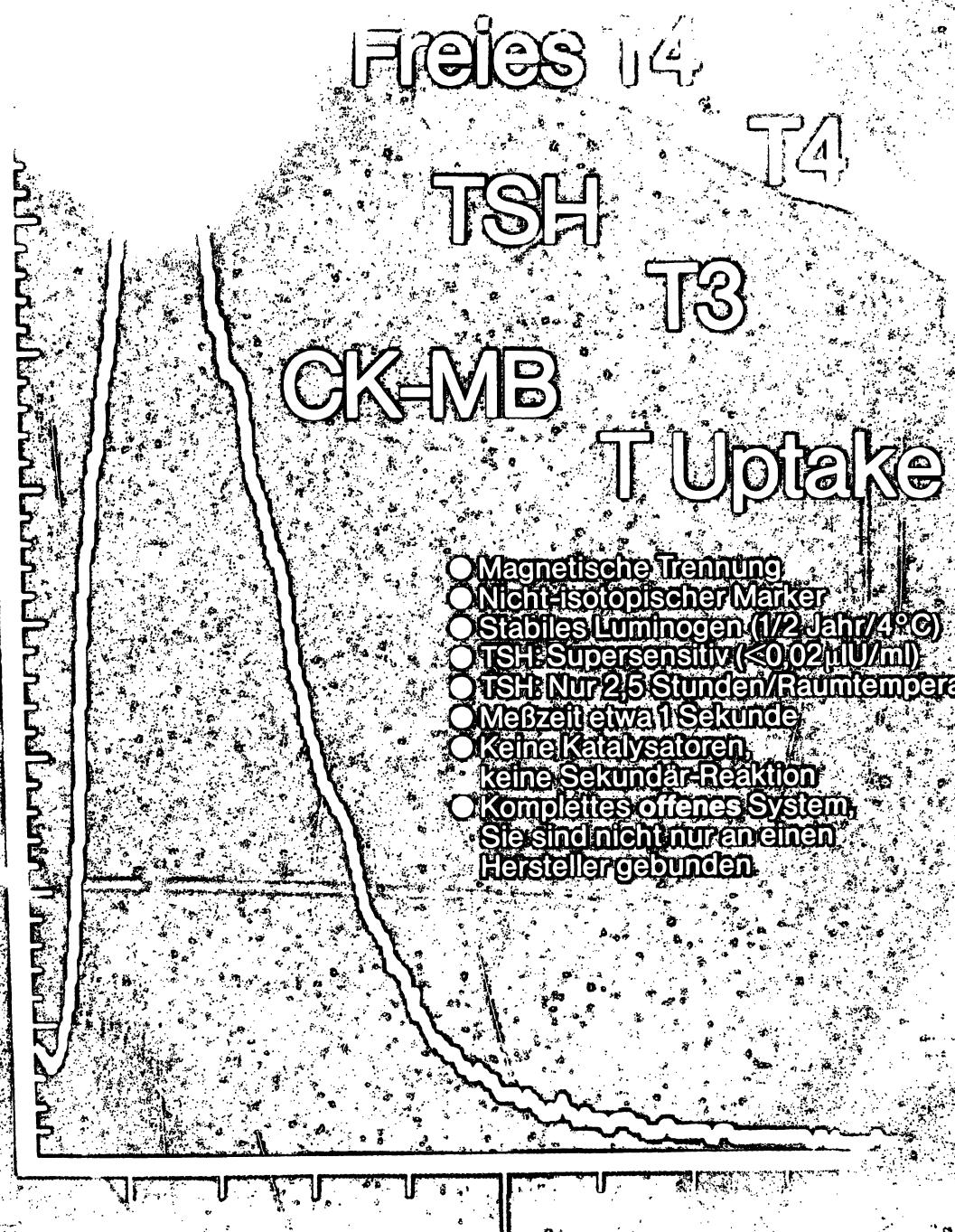


**ABBOTT Diagnostic
Products GmbH**

Max-Planck-Ring 2
D-6200 Wiesbaden-Delkenheim
Tel.: 0 61 22/5014 89

*Nur für Forschungszwecke

MAGIC® Lite Lumineszenz-Immunoassay durch die Fack im Labor



- Magnetische Trennung
- Nicht-isotopischer Marker
- Stabiles Luminogen (1/2 Jahr/4°C)
- TSH: Supersensitiv (<0.02 mIU/ml)
- TSH: Nur 2,5 Stunden/Raumtemperatur
- Meßzeit etwa 1 Sekunde
- Keine Katalysatoren,
keine Sekundär-Reaktion
- Komplettes offenes System.
Sie sind nicht nur an einen
Hersteller gebunden.

(01/064) 4003-0 Telex 482971

03-8305 Dierikon Tel. (0341) 18332727

CIBA-CORNING