

Tabelle. Aktivitätsgehalte von Uridyltransferase und Galaktokinase ( $1U = 1 \mu\text{mol Substratumsatz/min}$ ) in Erythrocyten gesunder Individuen ( $n = 25$ )

|             | Uridyltransferase      |             | Galaktokinase            |           |
|-------------|------------------------|-------------|--------------------------|-----------|
|             | U/10 <sup>12</sup> RBZ | U/g Hb      | U/10 <sup>12</sup> RBZ   | U/g Hb    |
| Neugeborene | 3,8 ± 0,6              | 0,11 ± 0,02 | 155,2 ± 33,2             | 5,2 ± 0,8 |
| Säuglinge   | 3,7 ± 0,8              | 0,10 ± 0,03 | 145,2 ± 27,3             | 5,0 ± 0,7 |
| Kinder      | 3,5 ± 0,8              | 0,10 ± 0,02 | 130,4 ± 23,5             | 4,7 ± 0,7 |
| Erwachsene  | 3,3 ± 0,7 <sup>a</sup> | 0,09 ± 0,02 | 87,1 ± 24,1 <sup>b</sup> | 2,7 ± 0,5 |

<sup>a</sup>  $P < 0,05$ .

<sup>b</sup>  $P < 0,01$ .

Die Aktivität der Galaktokinase ist ebenso wie die der Uridyltransferase und der Epimerase am größten in der Neugeborenenperiode (Tabelle). Von dieser Zeit an nimmt die Aktivität des Enzyms mit zunehmendem Lebensalter kontinuierlich ab und ist bei Erwachsenen nur noch etwa halb so groß wie bei Neugeborenen.

Die hier mitgeteilten Ergebnisse stimmen mit den Untersuchungen von Ng et al. [13] überein. Diese Autoren haben mit Hilfe von Isotopenmessungen ebenfalls nachgewiesen, daß die Aktivität der Galaktokinase mit zunehmendem Lebensalter abnimmt.

**Zusammenfassung.** Es werden enzymatische Methoden beschrieben, durch die die Aktivitätsgehalte von Galaktokinase und Uridyltransferase in Erythrocyten bestimmt werden können. Beide Enzyme weisen in der Neugeborenenperiode die höchste Aktivität auf, von dieser Zeit an findet sich ein kontinuierlicher Aktivitätsabfall mit zunehmendem Lebensalter.

Der angegebene Test für die Uridyltransferase ist leichter durchzuführen als der bisher benutzte UDP-Glucose-Verbrauchstest und wird auch nicht durch die Reaktion der Epimerase beeinflusst. Die Methode ist so empfindlich, daß Heterozygote der Galaktosämie oder der Duarte-Variante und gesunde Individuen exakt determiniert werden können.

**Summary.** Simple enzymatic methods are described for the measurement of galactokinase and galactose-1-phosphate uridyl transferase (transferase) activities in human hemolysates. The activities of both enzymes are found to be higher in newborns than in adults, decreasing gradually during the first years of life.

The transferase assay is not impaired by regeneration of UDPG by the epimerase reaction as this is supposed for the UDPG consumption assay. Good differentiation has been obtained between heterozygotes for galactosemia, heterozygotes for the Duarte Variant, and normal subjects.

Der Firma C. F. Boehringer u. Soehne, Mannheim, sind wir für die kostenlose Überlassung der benötigten Biochemica-Reagentien zu großem Dank verpflichtet.

#### Literatur

- Anderson, E. P., Kalckar, H. M., Kurahashi, K., Isselbacher, K. J.: J. Lab. clin. Med. 50, 469 (1957).
- Betke, K., Baltz, A., Maas, U.: Z. Kinderheilk. 84, 226 (1960).
- Beutler, E., Baluda, M. C., Sturgeon, Ph., Day, R. W.: J. Lab. clin. Med. 68, 646 (1966).
- — — — Lancet 1965 I, 353.
- — — — Clin chim. Acta 13, 369 (1966).
- Egermont, E., Hers, H. G.: Clin. chim. Acta 7, 432 (1962).
- Gitzelmann, R.: Pediat. Res. 1, 14 (1967).
- Kabacy, G. J., Hodgman, Donnel, G. N., Spears, R. L.: Pediatrics 38, 125 (1966).
- Kalckar, H. M., Anderson, E. P., Isselbacher, K. J.: Biochim. biophys. Acta (Amst.) 20, 262 (1956).
- — — — Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) 49, 42 (1956).
- Löhr, G. W.: In Methoden der enzymatischen Analyse, S. 747. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie G.m.b.H. 1962.
- Ng, W. G., Bergren, W. R., Donnel, G. N., Hodgman, J. E.: Pediatrics 39, 393 (1967).
- — — — Donnel, G. N., Bergren, W. R.: J. Lab. clin. Med. 66, 115 (1965).

- Schwartz, V., Wells, A. R., Holtzel, A., Komrover, G. M.: Ann. hum. Genet. 25, 179 (1968).
- Weinberg, A. N.: Metabolism 10, 728 (1961).

Dr. E. Mönch  
Kinderklinik der Freien Universität Berlin  
1 Berlin 19,  
Heubnerweg 6  
Dr. H. Kraus  
Universitäts-Kinderklinik  
4 Düsseldorf, Moorenstraße 5

#### Untersuchungen der Plasmalipide vor und nach 6monatiger oraler Behandlung mit Ovulationshemmern

H. KAFFARNIK, H. LEHNERT, J. G. MEYER-BERTENRATH,  
P. ZÖFEL\* und R. KARSZNA

Medizinische Poliklinik der Universität Marburg a. d. Lahn  
(Direktor: Prof. Dr. G. W. Löhr\*\*) und Univ.-Frauenklinik  
Frankfurt a. M. (Direktor: Prof. Dr. O. Käser\*\*\*)

Eingegangen am 26. November 1969

Die oralen Antikonzeptionsmittel finden eine zunehmende Verbreitung. Es wurde nachgewiesen, daß sich durch die Anwendung von Kontrazeptiva zahlreiche klinisch-chemische Normalwerte verändern oder verändern können (Lit. bei [13, 23]). Die Angaben über mögliche Störungen im Blutfettspiegel sind bisher jedoch verhältnismäßig spärlich und auch widersprechend. Wir haben uns daher die Aufgabe gestellt, bei Frauen, die bisher noch nie Ovulationshemmer einnahmen, vor und 6 Monate nach Beginn der oralen Kontrazeption das Verhalten mehrerer Plasmalipidfraktionen zu untersuchen.

#### Untersuchte Personen und Methodik

Wir untersuchten 13 unausgewählte Frauen im Alter von 18—30 Jahren. Die klinische Untersuchung ergab, daß bei den Probanden kein Leberschaden, kein manifester Diabetes mellitus und keine stärkergradige Hyperlipidämie vorlag. Vor und 6 Monate nach Beginn der kontrazeptiven Behandlung wurde bei fast allen Frauen am 5.—7., 13.—15. und 23.—25. Cyclustag an 12—14 Std nüchternen Probanden Blut durch Venenpunktion entnommen, heparinisiert und bis zur Aufarbeitung tiefgekühlt gelagert. Vor der Blutentnahme hielten die Versuchspersonen eine 30minütige Ruheperiode ein.

Untersucht wurden die Triglyceride, die Phosphatide, das Gesamtcholesterin und die freien Fettsäuren.

Bestimmungen von:

Triglyceride und Phosphatide: Extraktion wie in [11] angegeben.

Triglyceride nach [14].

Phosphatide: Veraschung nach [1].

Bestimmung des Lipidphosphors wie bei [3] beschrieben und Multiplikation der erhaltenen Werte mit 25.

Gesamtcholesterin nach [22], modifiziert wie in [20].

Freie Fettsäuren: leicht modifiziert [9] nach [10].

Statistik. Man-Whitney-Test [18]. Ist  $\alpha \leq 5$ , dann liegt beim Vergleich von 2 unabhängigen Stichproben Signifikanz vor.

Da nicht bei allen Probanden zu sämtlichen Cycluszeiten alle Lipidfraktionen bestimmt werden konnten, mußte der ursprünglich vorgesehene Friedman-Test verworfen werden.

**Präparate.** Die Versuchspersonen benutzten folgende Präparate: Aconcen® (Chlormadinonacetat = 6-Chlor-6-dehydro-17 $\alpha$ -acetoxyprogesteron und Mestranol = 17 $\alpha$ -Äthinylöstradiol-3-methyläther), Anovlar® (Norethisteronacetat = 17 $\alpha$ -Äthinyl-19-*nor*-Testosteron und Äthinylöstradiol), Estirona® (Chlormadinonacetat und Mestranol), Eugynon® (Norgestrel = dl-13-Äthyl-17 $\alpha$ -Äthinyl-17 $\beta$ -hydroxy-4-gonen-3-on und Äthinylöstradiol), Lyndiol® (Lynestrolon = 17 $\alpha$ -Äthinyl- $\delta$ -4-Oestren-17 $\beta$ -ol und Äthinylöstradiol), sowie Ovulen® (Mestranol und Ethynodioldiacetat = 17 $\alpha$ -Äthinyl-4-oestren-3 $\beta$ , 17 $\beta$ -diol-diacetat).

\* Rechenzentrum der Universität Marburg.

\*\* Jetzt Medizinische Universitäts-Klinik Freiburg.

\*\*\* Jetzt Universitäts-Frauenklinik Basel.

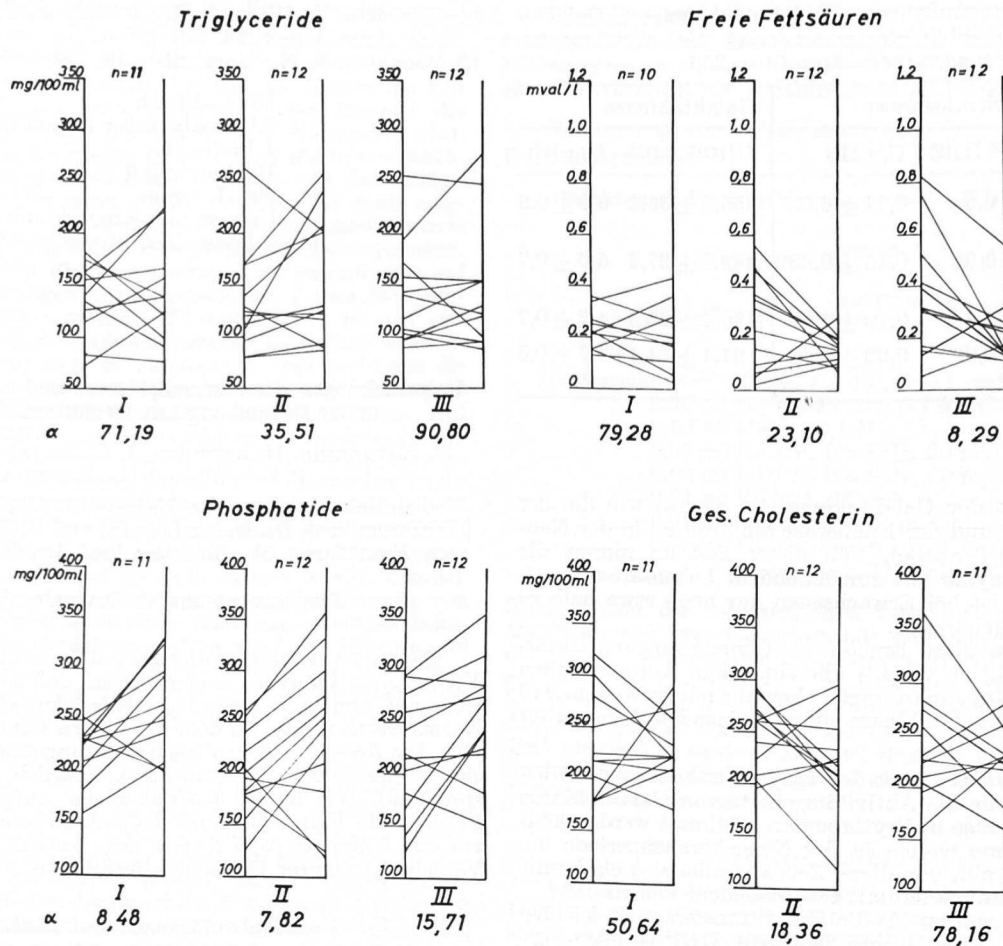


Abb. 1. Verhalten der Plasmalipide in den einzelnen Cyclusphasen vor und nach einer 6monatigen oralen Behandlung mit Ovulationshemmern. Die Gabe von Ovulationshemmern wurde während der zweiten Bestimmungsserie nicht unterbrochen. Links auf der Säule wurden die Lipidwerte vor, rechts nach Behandlung aufgezeichnet. I 5.—7. Cyclustag, II 13.—15. Cyclustag, III 23.—25. Cyclustag,  $\alpha$  = Signifikanzniveau

### Ergebnisse

Die Abb. 1 orientiert über die einzelnen Plasmalipidfraktionen vor und nach 6monatiger Behandlung mit den genannten oralen Ovulationshemmern.

Die Triglyceride zeigen in keiner Phase des Cyclus eine signifikante Änderung. Die freien Fettsäuren lassen am Anfang und in der Mitte des Cyclus keine signifikanten Unterschiede erkennen. Am Ende des Cyclus findet sich nach einer 6monatigen kontrazeptiven Behandlung sogar eine Tendenz zur Erniedrigung dieser Lipidfraktion. Die Phosphatide hingegen zeigen am Anfang ( $\alpha = 8,48$ ) und in der Mitte ( $\alpha = 7,82$ ) des Cyclus nach 6monatiger Anwendung von Antikonzeptiva eine Tendenz zur Erhöhung des Plasmaspiegels. Beim Gesamtcholesterin finden sich wiederum keine signifikanten Änderungen.

### Diskussion

Obwohl im normalen Cyclus der Frau der Gehalt an Keimdrüsenhormonen im Serum schwankt, ließen sich von der Mehrzahl der Untersucher signifikante Unterschiede des Serumlipidspektrums im Vergleich einzelner Cycluszeiten nicht nachweisen. Es werden jedoch auch gegenteilige Meinungen vertreten (Lit. bei [16]). Eindrucksvoll ist hingegen die Beeinflussung des Serumlipidspiegels durch die Schwangerschaft (Lit. bei [17]). Auch nach Kastration oder in der Menopause steigen die Serumlipide an (Lit. bei [16]).

So ist es zunächst nicht überraschend, daß unter oraler Antikonzeption Veränderungen der Serumlipide und Lipoproteine beschrieben wurden. Mehrere Autoren teilten Vermehrungen der Triglyceride, der Phosphatide, des Cholesterins und der Lipoproteine niederer Dichte mit [2, 6, 7, 12, 25, 26]. Zum Teil wurden die Lipidvermehrungen 10—12 Monate nach Beginn der kontrazeptiven Behandlung gemessen. Burger u. Mitarb. [7] fanden eine Erhöhung einzelner Lipidfraktionen nach 3 Monaten, Hazzard et al. [15] eine Vermehrung der Triglyceride und eine Verminderung der Heparin-induzierbaren lipoly-

tischen Aktivität nach 14 Tagen. Bolton et al. [4] konnten Änderungen im Lecithin-Molekül der Lipoproteine niederer Dichte des Plasmas feststellen. Wynn und Doar [24] fanden eine Erhöhung der freien Fettsäuren.

Andererseits wird auch von einem fehlenden Anstieg der  $\beta$ -Lipoproteine, der Triglyceride oder des Cholesterins berichtet [5, 19]. Gershberg et al. [12] konnten erst 2 Jahre nach Beginn der kontrazeptiven Therapie eine Vermehrung des Cholesterinspiegels feststellen. Dalderup und Doornbos beschrieben ein unterschiedliches Verhalten dieser Lipidfraktion [8].

Wir fanden bei Frauen, die vorher keine Kontrazeptiva nahmen, innerhalb von 6 Monaten keine signifikanten Änderungen im Bereich der Triglycerid- und Cholesterinfraktion des Plasmas. Die Einzelwerte stiegen teils an, teils verringerten sie sich oder blieben unverändert. Um möglichst den ganzen Cyclus zu erfassen, haben wir an 3 verschiedenen Cyclustermi- (Mitte, Anfang und Ende) Blut zur Lipidanalyse gewonnen. Tendenzen zur Erhöhung unter Ovulationshemmern zeigten in der statistischen Berechnung die Phosphatide am Anfang und in der Mitte des Cyclus. Die freien Fettsäuren hingegen ließen am Ende des Cyclus unter Ovulationshemmern sogar eine Tendenz zur Erniedrigung erkennen. Die untersuchten Probanden wiesen keine stärkergradigen Stoffwechselstörungen auf.

Besondere Verhältnisse scheinen bei Frauen zu bestehen, die an deutlichen Störungen des Stoffwechsels leiden. So beschreiben Smith und Prior [21] ein starkes Wiederanstiegen des Serumcholesterins unter der Gabe von Ovulationshemmern bei einer Patientin mit essentieller Hypercholesterinämie. Vorher war der Cholesterinspiegel medikamentös eindrucksvoll gesenkt worden. Zorrilla et al. [27] fanden bei 2 Patientinnen mit einer milden Hypertriglyceridämie nach 6 Monaten kontrazeptiver Behandlung einen deutlichen Anstieg der Triglyceride.

Zur endgültigen Klärung der oralen Wirkung von Ovulationshemmern auf den Blutfettspiegel sind weitere langfristige Beobachtungen notwendig. Die unterschiedlichen An-

gaben in der Literatur beruhen möglicherweise auf der Verwendung verschiedener Typen von Ovulationshemmern. Es sollte daher für jeden Typ ein größeres Kollektiv untersucht werden.

**Zusammenfassung.** Im Plasma von 13 Frauen ohne stärkergradige Störungen des Stoffwechsels im Alter von 18—30 Jahren untersuchten wir die Triglyceride, die freien Fettsäuren, die Phosphatide und das Gesamtcholesterin vor und nach einer 6monatigen oralen Behandlung mit verschiedenen Ovulationshemmern. Während der zweiten Untersuchungsreihe wurde die kontrazeptive Behandlung nicht unterbrochen. Die Lipidanalysen führten wir am Anfang, in der Mitte und am Ende des Cyclus durch. In keiner Cyclusphase zeigten die Triglyceride und das Gesamtcholesterin signifikante Änderungen. Die Einzelwerte stiegen teils an, teils verringerten sie sich oder blieben konstant. Die Phosphatide ließen am Anfang und in der Mitte des Cyclus unter kontrazeptiver Behandlung eine Tendenz zur Erhöhung erkennen. Am Anfang und in der Mitte des Cyclus waren die freien Fettsäuren nicht signifikant verändert, am Ende zeigten sie unter Ovulationshemmern eine Tendenz zur Erniedrigung. Weitere langfristige Beobachtungen zur Klärung der oralen Wirkung von Ovulationshemmern auf den Blutfettspiegel sind notwendig. Die einzelnen Typen von Ovulationshemmern sollten in größeren Kollektiven getrennt beobachtet werden. Auch das wohl bisher größte Gesamtkollektiv von Wynn u. Mitarb. [26] läßt eine getrennte Betrachtung der einzelnen Typen vermissen.

**Summary.** Triglycerides, free fatty acids, phospholipids, and total cholesterol in the plasma of 13 women aged between 18 and 30 were determined before and after a six months period of treatment with different oral contraceptives.

These women had no important disturbances of metabolism. When plasma had been taken after this period treatment was continued after all. Lipids mentioned above were analysed at the beginning, middle, and the end of the cyclus. Neither triglycerides nor total cholesterol showed significant changes. Individually the findings decreased, increased, or showed no change. Phosphatide-level however showed during contraceptive treatment an increasing tendency in the beginning and middle of the cyclus. In the meantime no significant change was found in free fatty acids, whereas they had a decreasing tendency at the end of the cyclus. Further longtime studies are necessary to determine the effect of oral contraceptives on bloodlipid level. The different types of contraceptives should be examined separately in bigger groups.

Technische Assistenz: Fräulein K. Åkeson, Frau A. Handel.

#### Literatur

- Allen, R. J. L.: The estimation of phosphorous. *Biochem. J.* **34**, 858 (1940).
- Aurell, M., Cramer, K., Rybo, G.: Serum lipids and lipoproteins during long-term administration of an oral contraceptive. *Lancet* **1966 I**, 291.
- Bartlett, G. R.: Phosphorus assay in column chromatography. *J. biol. Chem.* **234**, 466 (1959).
- Bolton, C. H., Hampton, J. R., Mitchell, J. R. A.: Effect of oral contraceptive agents on platelets and plasma-phospholipids. *Lancet* **1968 I**, 1336.
- Brody, S., Högdahl, A. M., Nilsson, L., Svanborg, A., Vikrot, O.: The effect of some ovulation inhibitors on the lipid metabolism. *Acta med. scand.* **179**, 501 (1966).
- Kerstell, J., Nilsson, L., Svanborg, A.: The effects of some ovulation inhibitors on the different plasma lipid fractions. *Acta med. scand.* **183**, 1 (1968).
- Burger, H., Florian, H. J., Holzmann, G.: Über die Beeinflussung der Serumlipide gesunder Frauen durch Ovulationshemmer. *Z. Geburtsh. Gynäk.* **170**, 1 (1969).
- Dalderup, L. M., Doornbos, R.: Oral contraceptives and serum cholesterol. *Lancet* **1968 I**, 755.
- Dieterle, P., Wulfert-Heldprich, C., Henner, J., Schwarz, K.: Erfahrungen mit einer kolorimetrischen Methode zur Bestimmung der nicht veresterten Fettsäuren im Serum. *Z. klin. Chem.* **6**, 153 (1968).
- Duncombe, W. G.: The colorimetric microdetermination of non-esterified fatty acids in plasma. *Clin. chim. Acta* **9**, 122 (1964).
- Folch, J., Lees, M., Sloane-Stanley, D. H.: A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J. biol. Chem.* **226**, 497 (1957).
- Gershberg, H., Hulse, M., Javier, Z.: Hypertriglyceridemia during treatment with estrogen and oral contraceptives. *Obstet. and Gynec.* **31**, 186 (1968).
- Haller, J.: Ovulationshemmung durch Hormone. Stuttgart: Georg Thieme 1965.
- Handel, E. van, Zilvermit, D. B.: Micromethod for the direct determination of serum glycerides. *J. Lab. clin. Med.* **50**, 152 (1957).
- Hazzard, W. R., Spiger, M. J., Bagdade, J. D., Bierman, E. L.: Studies of the mechanism of increased plasma triglyceride levels induced by oral contraceptives. *New Engl. J. Med.* **280**, 471 (1969).
- Kaffarnik, H., Karsznia, R., Lehnert, H., Meyer-Bertenrath, J.: Serumlipide im Cyclus der Frau. *Klin. Wschr.* **47**, 383 (1969).
- Karsznia, R., Kaffarnik, H.: Verhalten der Serumlipide während Schwangerschaft und Wochenbett. *Arch. Gynäk.* **207**, 505 (1969).
- Kreyszig, E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen. Göttingen: Vandenhoeck & Ruprecht 1965.
- Pincus, G.: In: The control of fertility. New York and London 1965. Zit. nach 25.
- Richterich, R., Lauber, K.: Bestimmung des Gesamtcholesterins im Serum. VIII. Mitt. über Ultramikromethoden im klinischen Laboratorium. *Klin. Wschr.* **40**, 1252 (1961).
- Smith, R. B. W., Prior, I. A.: Oral-contraceptive opposition to hypocholesterolemic action of clofibrate. *Lancet* **1968 I**, 750.
- Watson, D.: A simple method for the determination of serum cholesterol. *Clin. chim. Acta* **5**, 637 (1960).
- Wilbert, L., Hillmer, T., Hunstein, W., Reisert, P., Kaboth, U., Creutzfeld, W.: Einfluß oraler Ovulationshemmer auf klinisch-chemische Normalwerte. *Dtsch. med. Wschr.* **94**, 844 (1969).
- Wynn, V., Doar, J. W. H.: Some effects of contraceptives on carbohydrate metabolism. *Lancet* **1966 I**, 715.
- — Mills, G. L.: Some effects of oral contraceptives on serum lipid and lipoprotein levels. *Lancet* **1966 II**, 720.
- — — Stokes, T.: Fasting serum triglyceride, cholesterol, and lipoprotein levels during oral-contraceptive therapy. *Lancet* **1969 II**, 756.
- Zorrilla, E., Hulse, M., Hernandez, A., Gershberg, H.: Severe endogenous hypertriglyceridemia during treatment with estrogen and oral contraceptives. *J. clin. Endocr.* **28**, 1793 (1968).

Privatdozent Dr. H. Kaffarnik  
Dr. H. Lehnert  
Medizinische Universitätspoliklinik  
355 Marburg,  
Robert Koch-Str. 7a

P. Zöfel  
Rechenzentrum der Universität  
355 Marburg,  
Alte Kasseler Str. 4

Privatdozent  
Dr. Dr. J. G. Meyer-Bertenrath  
Stadtkrankenhaus, Zentrallabor  
645 Hanau

Dr. R. Karsznia  
Universitätsfrauenklinik  
6 Frankfurt a. M.,  
Ludwig Rehn-Str.

#### Normalwerte kollagenolytischer Enzyme in menschlichem Serum

G. GRIES und L. STRAUCH

Klinisch-chemisches Laboratorium, München, und  
Max-Planck-Institut für Eiweiß- und Lederforschung,  
München

Eingegangen am 26. November 1969

Bisher sind 2 verschiedene Typen von kollagenolytischen Fermenten in höheren Tieren und auch beim Menschen nachgewiesen worden. Die Arbeitsgruppe um J. Gross [1] fand ein Enzym, das Kollagen in 2 Teile spaltet, von denen das eine