

Title	Die Darstellung der Iso-enzyme verschiedener Fermente im Verlauf der Strahlentherapie
Author(s)	Kärcher, H. K.; Katō, T. H.
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1964, 24(4), p. 418-425
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/19518
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

DIE DARSTELLUNG DER ISO-ENZYME VERSCHIEDENER FERMENTE IM VERLAUF DER STRAHLENTHERAPIE

Von

K.H. KÄRCHER und H.T. KATŌ

Aus der Strahlenklinik der Universität (Czevny Krankenhaus) Heidelberg

(Direktor: Prof. Dr. J. Becker)

(Received for Publication, April 18. 1964)

放射線治療の経過中における多種類の酵素のイソエンチームの検出

K.H. Kärcher 加藤 敏

ハイデルベルク大学 Czerny 病院放射線治療学教室 (主任 J. Becker 教授)

(昭和39年4月18日受付)

酵素, 特に Laktatdehydrogenase, アルカリ性及び酸性 Phosphatase の異種性につき論じている. 臨床診断, 癌診断及び放射線治療中における経過のコントロールをするための各種の酵素のイソエンチームを検出する意義が例として示し,

臨床医学に対するこの試験法の結果が述べられている. すなわち放射線治療において, イソエンチーム特にLDH, アルカリ性及び酸性 Phosphatase の助けをかりて経過の観察を行うことは意義のあることと論じている.

In einer früheren Publikation haben wir an dieser Stelle über die Bedeutung der Bestimmung von Fermentaktivitäten während der Strahlentherapie berichtet. Wir konnten dabei zeigen, daß es mit Hilfe der Verlaufskontrolle der Fermentaktivitäten während der Strahlentherapie gelingt, Aussagen über die Strahlensensibilität des Tumors sowie die Prognose bzw. den weiteren Verlauf des vorliegenden Leidens zu machen. Hierzu eignet sich ganz besonders die Malatdehydrogenase, die Laktatdehydrogenase und die Fruktose-Diphosphat-Aldolase. Es ließ sich hierbei erkennen, daß die Malatdehydrogenase mehr die initiale Reaktion des Tumors auf die Strahlung widerspiegelt, während die Laktatdehydrogenase und Aldolase ähnliche Reaktionen zeigen, jedoch mehr die Progression oder Regression des Tumors erkennen lassen.

Nachdem durch die Untersuchungen von WIELAND und PFLEIDERER und Mitarbeiter sowie WROBLEWSKI, KING, HESS und Mitarbeiter, DUBACH, RICHTERICH und Mitarbeiter die Tatsache der Heterogenität der Fermente nachgewiesen und ihre Bedeutung für die klinische Medizin aufgezeigt wurde, setzte eine intensive Bearbeitung dieser Problematik ein. Es finden sich daher in der Literatur zahlreiche verschiedene Untersuchungsmethoden und Nachweisverfahren dieser sog. Iso-Enzyme der Laktatdehydrogenase. Es seien hier nur im einzelnen genannt die Agargel-Elektrophorese, die Stärkegel-Elektro-

phorese, die Säulenchromatographie, die Hitzeinaktivierungsmethode, die Trennung mit Hilfe sog. DPN-Analoga und die Zelluloseabsorptionsmethode. DUBACH sowie RICHTERICH und Mitarbeiter haben diese einzelnen Methoden zur Trennung der LDH-Isoenzyme auf ihre Genauigkeit und Vergleichbarkeit bezüglich der Resultate untersucht und RICHTERICH kommt zu der Auffassung, daß der Absorptionstest mit der DEA-Zellulose wegen seiner Einfachheit den anderen Verfahren vorzuziehen sei, zumindest für den klinischen Gebrauch. DENIS, DROUT und Mitarbeiter verwendeten die Technik von WIEME, d.h. den Nachweis der Iso-Enzyme durch elektrophoretische Trennung im Agargel. Diese Methode erwies sich auch MATSON für die Darstellung der Serumeiweißfraktionen als einfach anwendbar und für den klinischen Gebrauch durchaus brauchbar. Wir selbst haben die Iso-Enzyme der LDH mit den verschiedenen Verfahren getrennt und die Methodik und ihre Genauigkeiten mit einander verglichen. Wir führten sowohl die säulenchromatographische Trennung mit automatischer Kopplung eines Durchschluß-Photometers und Fraktionssammlers sowie die elektrophoretische Trennung mit Hilfe der gekühlten Hochspannungselektrophorese bei Verwendung von Membranfolien durch. Weiterhin wurde die elektrophoretische Trennung im Agargel vorgenommen und außerdem die Hitzeinaktivierung, d.h. der sog. Hitzelabilitätstest.

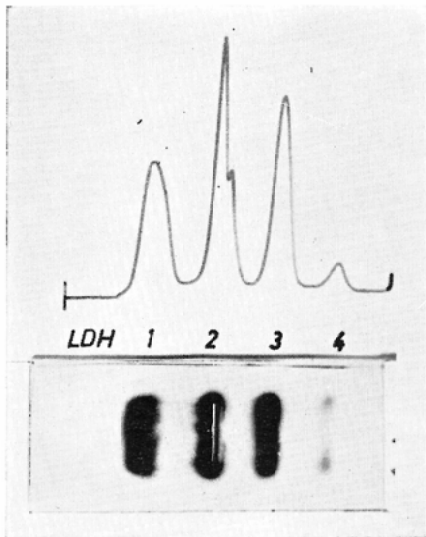
Es zeigte sich, daß für klinische Routine und zur raschen Auswertung die Agargel-Elektrophorese am besten geeignet ist und daß die Ergebnisse den Anforderungen an Genauigkeit nicht nur standhalten, sondern sich mit den komplizierteren Verfahren durchaus vergleichen lassen.

Nach WIELAND und PELEIDERER haben vor allem VESELL und BEARN sowie PLAGEMANN, GREGORY und WROBLEWSKI für menschliche und tierische Gewebe ein bestimmtes Profil, bzw. Verteilungsmuster für die verschiedenen Iso-Enzyme der LDH nachgewiesen. HESS und WALTER sowie D. AMELUNG zeigten, daß die klinische Konsequenz, die sich hieraus ergibt, in einer Trennung von Herz- und Lungeninfarkt, bzw. Lebererkrankungen möglich wird. Es war somit anzunehmen, daß die Fermentdiagnostik durch die Möglichkeit einer gewissen organspezifischen-Aussage in Zukunft eine größere Differenzierung zulasse. Bei der Trennung der Iso-Enzyme der LDH konnte man 5 Fraktionen unterscheiden. Leider ist bis heute über die Nomenklatur noch keine Einigung erzielt worden. Man unterscheidet heute zwischen einer sog. europäischen und einer amerikanischen Nomenklatur. Die von der Auftragsstelle des Serums schnellstwandernde LDH wird als Nr. 5 bezeichnet und die gegensinnig wandernde als Nr. 1. Die amerikanische Nomenklatur wird gerade von der anderen Richtung her gelesen, so daß hierbei Nr. 1 der europäischen Nomenklatur, Nr. 5 der amerikanischen Nomenklatur entspricht. Nach der europäischen Nomenklatur finden sich die LDH des Herzmuskels an der Kathode, die der Niere an der Auftragsstelle, der Leber im Bereich von LDH-3, 4 und 5, die des Skelettmuskels im Bereich von 4 und 5. Nach DUBACH und RICHTERICH ist die LDH bei Tumoren in den meisten Fällen im Bereich von LDH-1 und 2 stark oder vermehrt, weiterhin findet sich im Serum im Gegensatz zum Normalserum in vielen Fällen eine LDH-5. Diese LDH-5 tritt auch bei Lebererkrankungen auf. Bei Herzinfarkt

ist die LDH-1 besonders stark erhöht. Diese wenigen Beispiele zeigen, daß es mit der Iso-Enzym-Diagnostik der LDH gelingt, eine gewisse organspezifische Differenzierung von Krankheiten zu ermöglichen. Aber auf der anderen Seite wird es klar, daß es nicht möglich ist, eine Tumordiagnose hiermit zu betreiben oder die Tumordiagnose zu bestätigen. Wir haben in unseren früheren Arbeiten auch immer wieder betont, daß es nicht Sinn und Ziel der Fermentdiagnostik sein kann hieraus einen Krebstest zu entwickeln. Dies ist aufgrund der Stoffwechsellatur von Krebs- und Normalgewebe auch nicht zu erwarten. Vielmehr wollten wir die Iso-Enzym-Diagnostik ebenfalls als Indikator-Diagnostik im Verlauf der Strahlentherapie verwenden. Unter Umständen bleiben Fermentanstiege nach der 1. Bestrahlung aus, lassen sich aber am Muster der Iso-Enzyme erfassen und damit nachweisen, daß es am Tumor zu einer Strahlenwirkung gekommen ist. Dies ist uns, um es vorweg zu nehmen, in der Tat gelungen. Man kann mit dem Nachweis der Iso-Enzyme der LDH zeigen, daß nach der 1. Bestrahlung ein Anstieg der Gesamtaktivität der Fermente ausbleiben kann, jedoch die LDH-1 und LDH-2 sowie LDH-5 ansteigen oder überhaupt erst auftreten. RICHTERICH und Mitarbeiter, die die LDH Iso-Enzyme mit α, β, γ bezeichnen, wobei die LDH-5 der γ -LDH entspricht, weisen darauf hin, daß das Verhalten der γ -LDH bei der Tumorthherapie spezielle Hinweise gebe. Sie konnten zeigen, daß z. B. in malignen Ergüssen die enzymatische Diagnose der zytologischen an Sicherheit wesentlich überlegen ist, weiterhin daß der Enzymtiter ein Maß für den therapeutischen Erfolg geben kann und Enzymveränderungen früher nachweisbar sind als mit anderen optischen und physikalischen Methoden am Tumorgewebe sonst möglich ist.

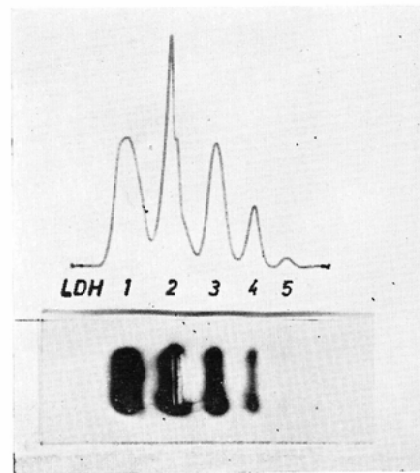
RICHTERICH und Mitarbeiter folgern aus ihrer Beobachtung, daß das Gamma-Iso-Enzym (LDH-5) bei allen Tumoren, gleichgültig welcher Herkunft, die Annahme wahrscheinlich mache, daß die Laktatdehydrogenase im Krebsgewebe qualitativ verändert sei. Sie äußern die Meinung, daß gerade die vermehrte Bildung der LDH-5 für die WARBURG'sche Theorie spreche. Auch in der Embryonal-Zeit überwiegt die aerobe Glykolyse und die Vorherrschaft der Gamma-LDH (LDH-5)-Iso-Enzyme. Mit fortschreitenden Organdifferenzierungen kommt es dann auch zur Ausbildung der anderen Iso-Enzyme. Allerdings bleibt die LDH-5 (Gamma-LDH) bei Geweben mit hoher aerober Glykolyse erhalten. Nach diesen Ausführungen und Befunden von RICHTERICH und Mitarbeitern kann man ohne Schwierigkeiten erkennen, daß die LDH-5 bzw. Gamma-LDH ebenfalls nicht spezifisch für Krebsgewebe ist, jedoch das vermehrte Auftreten der LDH-5 im Serum und Körperflüssigkeiten den Verdacht auf eine maligne Entartung außerordentlich nahe legt. Wir selbst möchten glauben, daß der Wert des Nachweises der Iso-Enzyme der LDH mehr auf der Schwankung der Titer der einzelnen Fraktionen im Rahmen der Therapie liegt. Gerade die Tatsache, daß es gelingt durch Verfolgung des LDH-5-Titers die Ausschüttung der tumoreigenen LDH nachzuweisen, macht diese differenzierte Untersuchung besonders wertvoll.

Jedoch nicht nur bei der Laktatdehydrogenase gibt es eine Heterogenität des Fermentes, sondern auch bei anderen Enzymen lassen sich diese nachweisen. KING und ABUL-FADL konnten bereits 1949 zeigen, daß man zwei verschiedene saure Phosphatasen unterscheiden



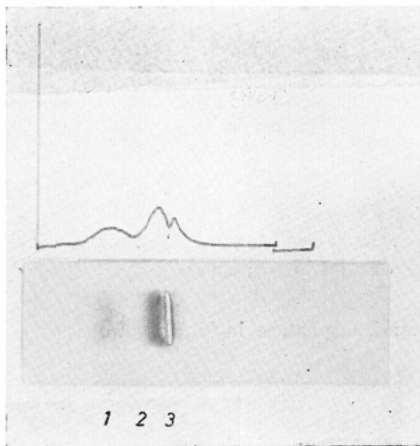
LDH 1 = 33.6% 2 = 31.4% 3 = 29.0%
4 = 6.0% 5 = 0

Abb. 1.: Agargel-Elektrophorese der LDH-Isoenzyme bei einem Patienten mit einem großen Hämangioendotheliom. Erhöhte Aktivität im Bereich der LDH-1 und LDH-2.



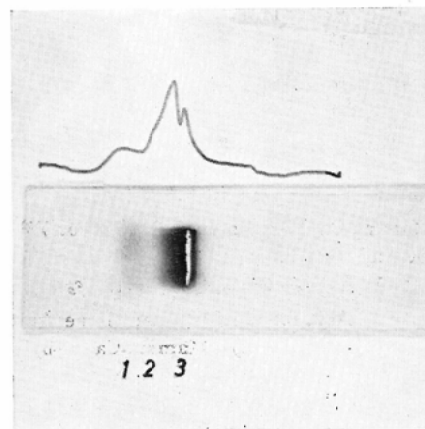
LDH 1 = 35.9% 2 = 32.6% 3 = 22.0%
4 = 8.2% 5 = 1.3%

Abb. 2.: Drei Stunden nach der ersten Bestrahlung mit 300 R Telekobalt-60 kommt es zu einer deutlichen Aktivitätszunahme im Bereich der LDH-1-LDH-3 und es tritt auch eine LDH-4 und LDH-5 auf als Zeichen einer Fermentausschwemmung aus dem Tumor.



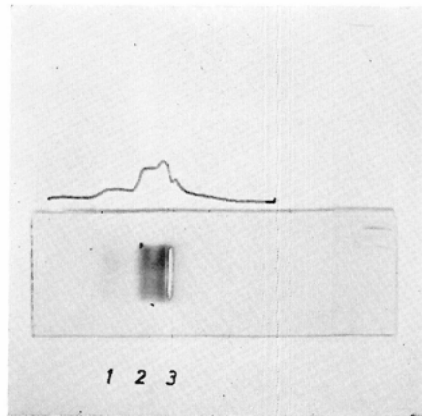
AP vor P^{32} Ges. AP=3 BE AP 1=30,4%
AP 2=0% AP 3=69,6% Mamma-Ca mit Knochenmetastasen

Abb. 3.: Verteilung der alkalischen Phosphatasen in der Agargel-Elektrophorese bei ausgedehnter Skelettmetastasierung eines Mamma-Ca.



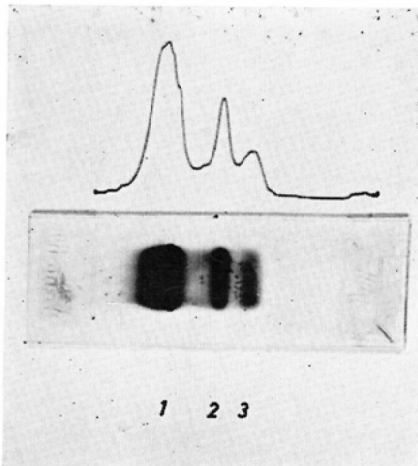
Mamma-Ca mit Knochenmet. AP 6h nach P^{32}
3 mC Ges. AP=6 BE AP 1=17,5% 2=0%
3=82,5%

Abb. 4.: Drei Stunden nach interner Gabe von 1,5 mC P^{32} findet sich eine deutliche Zunahme der beiden Banden der alkalischen Phosphatase als Ausdruck der Ausschwemmung aus dem Knochensystem.

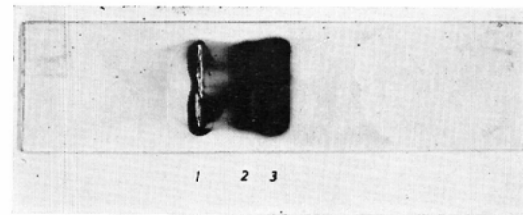


Melanom mit Lebermet. AP Ges. AP=6 BE
AP 1=13% 2=33% 3=54%

Abb. 5.: Typische Verteilung der alkalischen Phosphatase bei Lebermetastasen eines Melanoms.



Mamma-Ca (Tumorgewebe) SP vor P^{32}
Gesamt. SP=2,5 BE
SP 1=63,5% 2=17,4% 3=19,1%



Adenocarcinom des Magens SP (Tumorgewebe
100 mg) Gesamt-SP=2,5 BE

Abb. 6.: Elektrophoretische Auftrennung der sauren Phosphatase in Tumorgewebe
a) Mamma-Ca b) Magen-Ca

kann. Durch die L (+) Tatrathemmung läßt sich zwischen einer sauren Gesamtphosphatase und einer sauren Prostataphosphatase trennen. Sie konnten vor allem feststellen, daß die nicht von der Prostata stammende Phosphatase bei Karzinomen der Mamma deutlich erhöht sein kann. Später haben dann EISFELD und KOCH mit der Papierelektrophorese sowohl die saure als auch die alkalische Serumphosphatase getrennt und in der Folgezeit wurden die verschiedenen Verfahren sowohl Papierelektrophorese als auch Stä-kegel- und Stä-keblock-Elektrophorese zur Trennung der verschiedenen sauren und

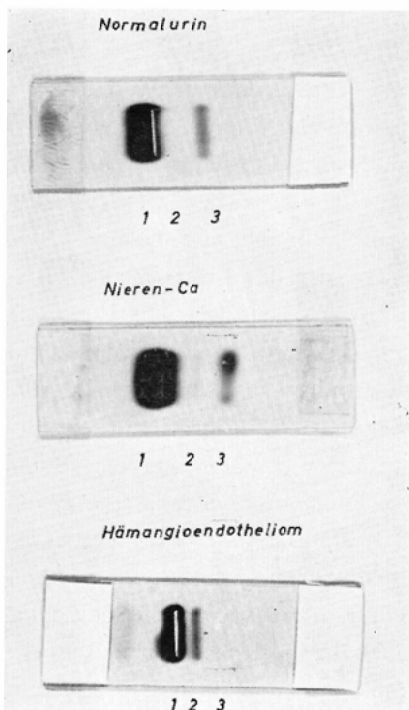


Abb. 7.: Agargel-Elektrophorese im Urin
 a) Normalperson
 b) Nieren-Karzinom
 c) Hämangioendotheliom

alkalischen Phosphatasen herangezogen. TASWELL und JEFFERS benutzten neuerdings die Stärkegel-Elektrophorese zur gleichzeitigen Trennung der Serumeiweißfraktionen und der alkalischen Phosphatasen. Es gelang ihnen hierbei, 8 Iso-Enzymbanden der alkalischen Serum-Phosphatase im Bereich der Globuline zu trennen. Sie konnten bei ihren Untersuchungen bei 202 Patienten mit verschiedenen Erkrankungen wie Verschlußikterus, Metastasenleber, Parenchymkrankungen der Leber und osteoplastischen Knochenerkrankungen zeigen, daß es drei Verteilungsformen der alkalischen Serum-Phosphatase Iso-Enzyme gibt. Die eine Gruppe repräsentiert die hepatobiliären Verschlußerkrankungen (Metastasen), die zweite Gruppe die Parenchymschädigungen der Leber und die dritte Gruppe die Knochenerkrankungen.

Von diesen Arbeiten angeregt, untersuchten auch wir die Iso-Enzyme der alkalischen- und der sauren Phosphatase bei Patienten mit malignen Erkrankungen während der Strahlentherapie. Wir wollen im folgenden an einigen klinischen Beispielen demonstrieren welche Bedeutung heute diese Untersuchungsform im Rahmen der klinischen Radiologie hat.

Diskussion

In unseren Untersuchungen konnten wir zeigen, daß es gelingt, mit einem einfachen

Verfahren der Agargel-Elektrophorese nach WIEME, die Iso-Enzyme der Laktatdehydrogenase, der alkalischen Phosphatase und der sauren Phosphatase zu trennen. Nach unserer Auffassung kann jedoch diesem Verfahren eine wesentliche Bedeutung bei der Tumordiagnose nicht zugeschrieben werden. Vielmehr glauben wir, daß der Untersuchung der LDH-Iso-Enzyme in Verdachtsfällen bei Kenntnis der klinischen Symptomatologie ein zusätzlicher diagnostischer Wert zugeschrieben werden muß. Mit der alkalischen und sauren Phosphatase scheint eine Trennung von Leber- und Knochenerkrankungen sowie malignen und benignen Veränderungen der Prostata möglich zu sein. Der besondere Wert der Bestimmung der LDH-Iso-Enzyme liegt vielmehr in der Tatsache begründet, daß durch die therapeutischen Maßnahmen, insbesondere die Anwendung ionisierender Strahlen, Tumorzellen untergehen und die ihnen eigenen Fermente im Serum erscheinen. Dadurch kann die Zunahme oder das Auftreten der LDH-5 im Serum ein direkter Beweis für die Herkunft dieser Enzymfraktion aus dem Tumor erbracht werden. Somit können unspezifische Reaktionen und Nebenreaktionen im Rahmen der Strahlentherapie mit Hilfe dieser Bestimmungsmethode ausgeschlossen werden und eine wesentlich größere Spezifität der Fermentuntersuchung im Rahmen der Strahlentherapie erreicht werden. Die gleichen Gesichtspunkte ergeben sich bei der Darstellung der Iso-Enzyme der alkalischen Phosphatase und der sauren Phosphatase. Auch hier kann der isolierte Anstieg einer bestimmten Fraktion nach Bestrahlung des Mamma-Ca oder operativer Entfernung eines Prostata-Ca bei Bestrahlung von Knochenmetastasen und anderen Veränderungen, die mit der Erhöhung einer alkalischen Phosphatase-Aktivität einhergehen, solche Schlüsse ermöglichen. Wir glauben daher, daß unsere Untersuchungen zu der Aussage berechtigt sind, daß der Nachweis der Iso-Enzyme verschiedener Fermente die diagnostische Bedeutung der Fermentuntersuchungen auch auf dem Tumorsektor wesentlich erhöht, daß aber andererseits die Spezifität der Aussagen gerade im Bereich der Strahlentherapie ganz bedeutend vermehrt wird. Mit diesen Verfahren wird es möglich, die Einwände verschiedener Autoren gegen die Deutung der Fermentuntersuchungen im Rahmen der Strahlentherapie zu entkräften und ihre Bedeutung im Rahmen der klinischen Radiologie erneut zu bestätigen.

Zusammenfassung

Es wird auf die Heterogenität der Fermente, insbesondere der Laktatdehydrogenase, der alkalischen Phosphatase und der sauren Phosphatase hingewiesen. Die Bedeutung der Darstellung der Iso-Enzyme verschiedener Fermente für die klinische Diagnostik, die Karzinom-Diagnostik und die Verlaufskontrolle während der Strahlentherapie wird an Beispielen aufgezeigt und die Konsequenzen der Ergebnisse für die klinische Medizin diskutiert. Es könnte gezeigt werden, daß auch in der Strahlentherapie die Verlaufsbeobachtungen mit Hilfe der Iso-Enzyme, insbesondere der LDH, der alkalischen und sauren Phosphatase zunehmende Bedeutung erlangen.

Literaturverzeichnis

- 1) Amador, E., Zimmermann, Th. S. und Wacker, W.E.C.: Clinical Science 185, 10 (1963), 133. —2) Amelung, D.: Dtsch. med. Wschr. 88, 40 (1963), 1940. —3) Denis, L.J., Prout, G.R., Jr., Van Sande, R.,

- V. und M., Van Camp, K.: J.A.M.A. 178, 11 (1961), 1093. —4) Dubach, U.C.: Helv. med. Acta 4 (1961), 469. —5) Hess, B. und Walter, S.-I.: Klin. Wschr. 38, 21 (1960), 1080. —6) Kerr, W.K., Barkin, M., D'Aloisio, J. und Menczyk, Z.: Cancer 16 (1963), 633. —7) King, E.J.: J. Fac. med. Baghdad 4 (N.S.) (1962), 129. —8) Lührs, W.: Ärztl. Fortb. 11, 3 (1961), 156. —9) Matson, C.F.: Amer. J. clin. Path. 37, 2 (1962), 143. —10) Plagemann, P.G.W., Gregory, K.F. und Wroblewski, F.: J. biol. Chem. 235, 8 (1960), 2282. —11) Riggins, R. und Kiser, W.S.: J. Urol. 90, 5 (1963), 594. —12) Richterich, R. Locher, J., Zuppinger, K. und Rossi, E.: Schweiz. med. Wschr. 92 (1962), 919. —13) Richterich, R., Weber, H., Endtner, B., v. Niederhäusern, W. Dtsch. med. Wschr. 88, 29 (1963), 1421. —14) Schwartz, M.K., Greenberg, E. und Bodansky, O.: Cancer 16 (1963), 583. —15) Taswell, H.F. und Jeffers, D.M.: Amer. J. clin. Path. 10, 1 (1963), 349. —16) Vesell, E.S. und Bearn, A.G.: J. clin. Invest. 40, 3 (1961), 586. —17) Wieme, R.J.: Studies on Agar Gel Electrophoresis; Techniques, Applications. Brussels, Arscia, N.V. 1960. —18) Wunderly, Ch. und Bustamante, V.: Klin. Wschr. 35, 15 (1957), 758.
-