



## Isoenzyme, Makroenzyme

Die Auftrennung von Isoenzymen ermöglicht die Organlokalisierung oder den Nachweis von sog. Makroenzymen als Ursache von erhöhten Enzymaktivitäten. Unnötige diagnostische und therapeutische Maßnahmen lassen sich so vermeiden. Besonders relevant sind Makroenzyme der Amylase, alkalischen Phosphatase, Creatin-Kinase und Laktatdehydrogenase.

### Pathophysiologie

Isoenzyme sind multiple Formen eines Enzyms mit identischen oder sehr ähnlichen katalytischen Eigenschaften aber unterschiedlicher Primärstruktur (Aminosäuresequenz). Makroenzyme sind Komplexe aus Enzymen und Immunglobulinen (Typ 1), Oligomere eines Enzyms oder mit Membranfragmenten oder Lipoproteinen assoziierte Enzyme (Typ 2) (1). Isoenzyme können organspezifisch sein (Pankreas-, Speichel-Amylase, Leber-, Knochen-, Dünndarm-, Plazenta-AP) oder auch nur organtypische Muster aufweisen (LDH-, CK-Isoenzyme). Durch die Differenzierung der Isoenzyme kann in vielen Fällen die Ursache einer erhöhten Enzymaktivität geklärt werden. So ergeben sich wichtige diagnostische und differentialdiagnostische Hinweise. Große praktische Bedeutung hat die Abklärung einer isolierten, klinisch nicht einzuordnenden Erhöhung einer Enzymaktivität. Häufig stellt sich nach Trennung der Isoenzyme eine harmlose Störung als Ursache heraus (Makro-Enzym, transitorische Hyperphosphatasämie, benigne Hyperphosphatasämie intestinalen Ursprungs u. a.).

### Klinik

#### *$\alpha$ -Amylase*

Erhöhte Amylaseaktivitäten im Serum können im allgemeinen problemlos einer Erkrankung zugeordnet werden. Fehlt das klinische Korrelat und liegen die Aktivitäten der Lipase im Serum im Referenzbereich bei

persistierend erhöhter Amylaseaktivität, ist an das Vorliegen einer Makro-Amylase zu denken.

#### *Alkalische Phosphatase (AP)*

Erhöhte Aktivitäten der AP werden insbesondere bei Knochen- und Lebererkrankungen beobachtet. Eine Trennung der AP-Isoenzyme ermöglicht die Organlokalisierung. Besonders wichtig ist aber auch die Klärung erhöhter AP-Aktivitäten ohne erkennbare Krankheitsursache. Häufig kann durch die Untersuchung der Isoenzyme eine harmlose Ursache aufgedeckt werden (3-5). So kommt es z. B. bei manchen Menschen (sog. Sekretoren mit Blutgruppe O oder B) postprandial zum Anstieg der intestinalen AP.

#### *Creatin-Kinase*

Der Nachweis des hochspezifischen kardialen Troponins (cTNI oder cTNT) hat die Frühdiagnostik von akuten koronaren Syndromen revolutioniert (7). Allerdings spielt die Bestimmung der CK-Aktivität weiterhin eine Rolle in der Verlaufskontrolle nach Herzinfarkt und bei Skelettmuskelerkrankungen. Relativ häufig werden mit den üblichen Immuninhibitionstests erhöhte CK-MB-Aktivitäten gefunden, die nicht zum klinischen Bild passen (s. Fußnote). Ursache ist überwiegend eine Makro-CK. Die Makro-CK liegt meist als hochmolekularer Komplex mit Immunglobulinen vor (Typ 1) und hat die Spezifität CK-BB (1). Diese Störung ist harmlos und hat keine klinische Bedeutung. Wesentlich seltener

ist die oktamere Makro-CK Typ 2 (mitochondriale CK - CKMiMi) nachweisbar. Sie findet sich nur bei Patienten mit fortgeschrittenen Tumor- oder schweren Lebererkrankungen (1) sowie bei Mitochondriopathien.

Sehr selten kann eine gelegentlich bei malignen Tumoren bzw. Schrankenstörung oder Beteiligung glatter Muskulatur (Uterus) nachweisbare erhöhte CK-BB eine pathologische CK-MB im immunologischen Test vortäuschen (2).

### Laktatdehydrogenase

Diagnostische und differentialdiagnostische Bedeutung haben erhöhte LDH-Aktivitäten im Zusammenhang mit perniziöser Anämie, Mononucleose, Hämoblastosen, Neoplasien, Myopathien und Intoxikationen mit Lösungsmitteln. Die Isoenzymmuster sind nicht ohne weiteres nur einem Organ zuzuordnen.

### Labor

#### a-Amylase

Die Differenzierung der Isoenzyme der a-Amylase mit immunologischen oder elektrophoretischen Methoden hat nur geringe Bedeutung. Wichtiger ist der Nachweis einer Makro-Amylase, welcher am besten mit Ausschluss-Chromatographie gelingt. Dabei wird die Amylase-Aktivität in nach Molekulargewicht aufgetrennten Fraktionen gemessen (Abb. 1).

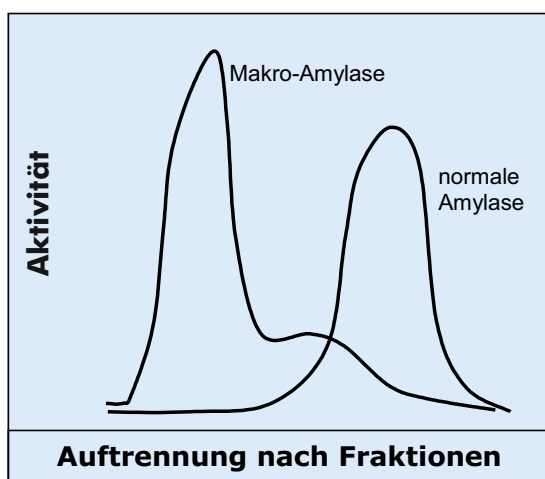


Abb. 1: Nachweis von Makro-Amylase durch Ausschluss-Chromatographie (Sephacryl S 200).

### Alkalische Phosphatase

Mit der Lektinaffinitäts-Elektrophorese in Verbindung mit der Trennung der AP-Isoenzyme in lektinfreien Agarosegelen (Abb. 2) können alle AP-Isoenzyme getrennt und typische Isoenzymmuster erkannt und befundet werden (Abb. 2). Problemlos gelingt so die Klärung, ob eine Leber- oder Knochenkrankung Ursache der erhöhten AP-Aktivität ist (3). Diagnostisch bedeutsam sind aber auch die harmlosen Störungen wie die transitorische Hyperphosphatasämie (4), eine erhöhte AP in der Schwangerschaft durch Placenta-AP, eine Makro-AP und die benigne Hyperphosphatasämie durch intestinale AP (5)

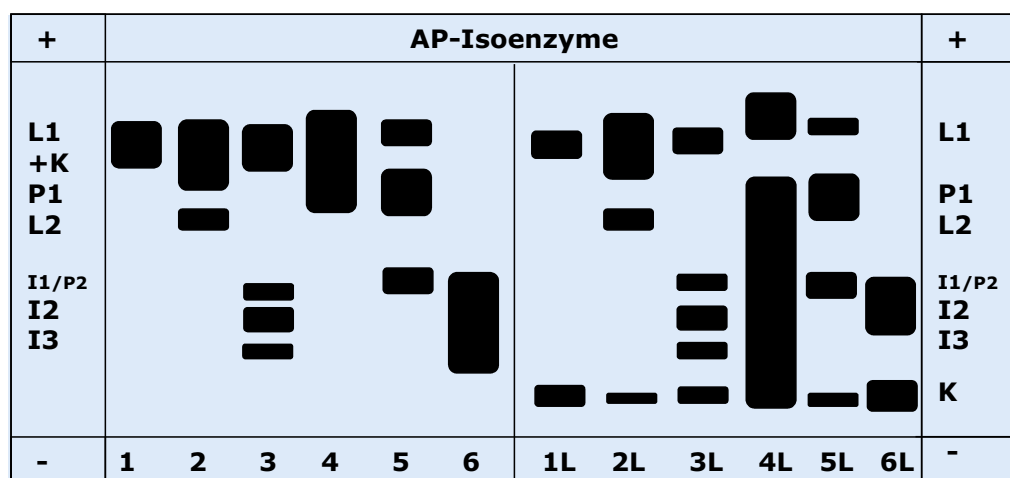


Abb. 2: Elektrophoretische Trennung der AP-Isoenzyme. Linke Gelhälfte ohne Lektin, rechte Gelhälfte identische Proben mit Lektin („L“) aufgetrennt. L1=Leber-, L2=Gallengangs-, I=Intestinale-, P=Placenta-, K=Knochen-AP. Bahn 1: Normalbefund; Bahn 2: Leber- und Gallengangs-AP erhöht; Bahn 3: Intestinale Isoformen erhöht (physiologisch, Darmerkrankungen); Bahn 4: Typisches Muster bei transitorischer Hyperphosphatasämie; Bahn 5: Nachweis von Placenta-AP (Schwangerschaft bzw. Malignome); Bahn 6: Nachweis von Makro-AP

#### Fußnote

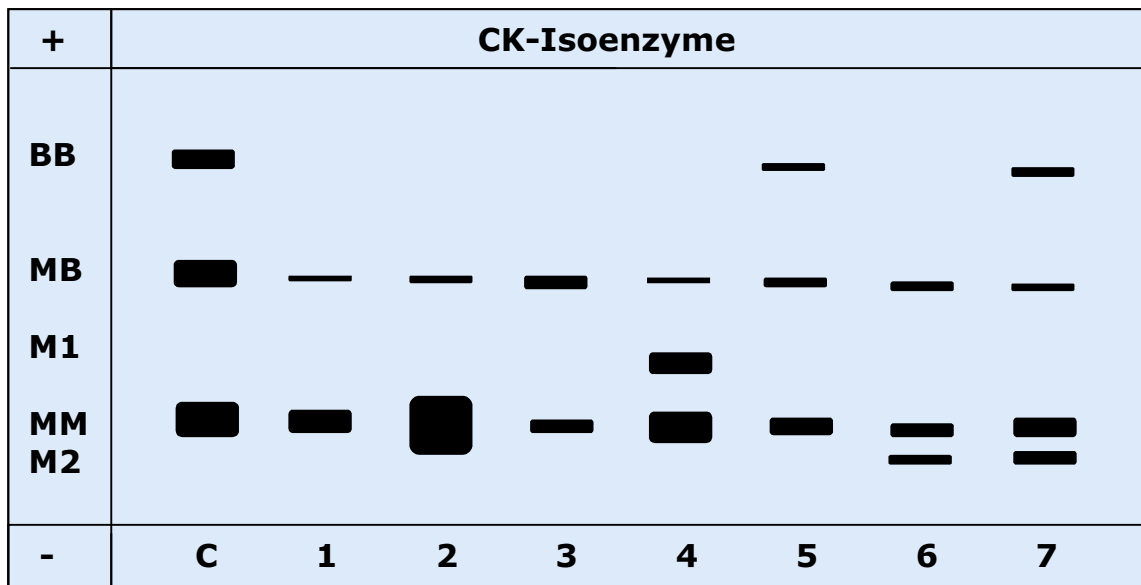
Aus meßtechnischen Gründen kann mit dem immuninhibitorischen Test bei Vorliegen einer Makro-CK die CK-MB-Aktivität größer als die Aktivität der Gesamt-CK sein. Bei diesem Test werden inhibierende Antikörper gegen die CK-M-Untereinheit verwendet, die außer CK-MM auch CK-MB zu 50% hemmen. Die gemessene Restaktivität multipliziert mit dem Faktor 2 ergibt die CK-MB-Aktivität. Makro-CK Typ 1 hat aber die Spezifität CK-BB und wird nicht inhibiert, so dass durch diese Rechenoperation zu hohe CK-MB-Werte erhalten werden.

### Creatin-Kinase

Die CK-Isoenzyme werden elektrophoretisch aufgetrennt und die resultierenden Fraktionen einzeln ausgewertet.

### Indikationen

Erhöhte Enzymaktivitäten, unklarer Ursache.



**Abb. 3:** Elektrophoretische Trennung der CK-Isoenzyme. C: Kontrollserum; Bahn 1: Normalbefund; Bahn 2: Skelettmuskelschädigung; Bahn 3: Myokardschädigung; Bahn 4: Makro-CK Typ 1 („M1“); Bahn 5: Schrankenstörung; Bahn 6 und 7: Makro-CK Typ 2 („M2“).

### LDH-Isoenzyme

Die elektrophoretische Auftrennung des Enzyms ermöglicht eine Zuordnung zu typischen Mustern, die befundet werden (Tab 1). Die Makro-LDH ist an der atypischen Wanderung der Isoenzyme zu erkennen. Nach Spaltung des LDH-Immunglobulinkomplexes mit einer Protease ist in der Regel ein normales Isoenzymmuster nachweisbar.

### Literatur

1. Sturk A, Sanders GTB. Macro enzymes. prevalence, composition, detection and clinical relevance. J Clin Chem Clin Biochem 1990; 28: 65-81
2. Kanemitsu F, Okigaki T. Creatin kinase isoenzymes. Review. J of Chromatography 1988; 429: 399-417
3. Schiwara HW. Trennung der alkalischen Phosphatase Isoenzyme mit Lektinaffinitäts-Elektrophorese und Lektin-Fällung. Lab med 1990; 14: 466-471
4. Stein P, Rosalki SB, Foo AY, Hjelm M. Transient hyperphosphatasemia of infancy and early childhood: clinical and biochemical features of 21 cases and literature review. Clin Chem 1987; 33: 313-318
5. Panteghini M. Benign inherited hyperphosphatasemia of intestinal origin: report of two cases and a brief review of the literature. Clin Chem 1991; 37: 1449-1452
6. Thomas L. Labor und Diagnose, 7. Auflage 2008, TH-Books Verlagsgesellschaft
7. Daubert MA, Jeremias A. The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. Vasc Health Risk Manag 2010;6: 691-699

Isoenzymmuster	Mögliche Ursache
<b>Anodisch:</b> LDH 1 +2 dominieren	Herzinfarkt Hämolyse Megaloblastenanämie Keimzelltumor
<b>Kathodisch:</b> LDH 5 dominiert	Leber-Gallengangserkrankung Rechtsherzinsuffizienz Skelettmuskelverletzung Prostatakarzinom
<b>Intermediär:</b> LDH 3 dominiert	Muskeldystrophie Myeloische Leukämie Mononucleose Maligne Tumoren

**Tab. 1:** Mögliche Ursachen typischer LDH-Isoenzymmuster.