# Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

Autor(en): **Gerber, H.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **108 (1966)**

Heft 1

PDF erstellt am: **01.05.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-588746

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.
Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.
Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

**Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

**http://www.e-periodica.ch**

heat in sows. Anim. Prod. *4*, 91–96 (1962). – [22] Hendrikse J.: De Kunstmatige Inseminatie Bij Varkens. Tijdschr. v. Diergen. *85*, 1583–1589 (1960). – [23] Knoblauch H.: Untersuchungen an Ziegenbockejakulaten. Zuchthyg., Fortpfl. u. Bes. d. Haustiere *6*, 9–22 (1962). – [24] Liess J. und Ostrowski J. E. B.: Beitrag zur Samenübertragung bei Ziegen bei Anwendung des Tiefkühlverfahrens (–79°). Dt. Tierärztl. Wochenschr. *67*, 127 (1960). – [25] Lunca N.: Artificial Insemination in Sheep and Goats on the International Plane. V. Int. Kongr. f. tier. Fortpfl. u. KB, Trient (1964). – [26] Maule J.P.: The semen of animals and artificial insemination. Commonwealth Agric. Bureaux, Farnham Royal (1962). – [27] du Mesnil du Buisson F.: Der Einfluß der Sau auf den Erfolg der künstlichen Besamung. Symposium über künstliche Besamung bei Schweinen, Noordwijk, 21. Juni 1965. – [28] Podany J.: Ein Beitrag zur künstlichen Besamung beim Schwein. V. Int. Kongr. f. tier. Fortpfl. u. KB, Trient *4*, 562–565 (1964). – [29] Riddel-Swan J.H.: Artificial Insemination of Pigs in Japan. Brit. Vet. J. *116*, 443–447 (1960). – [30] Rothe K.: Der derzeitige Stand der künstlichen Besamung beim Schwein. Monatshefte f. Vet. Med. *15*, 56–60 (1960). – [31] Rothe K.: Technik und Erfolge bei der künstlichen Besamung von Schweinen unter Praxisbedingungen. Zuchthyg., Fortpfl. u. Bes. der Haustiere *4*, 309–315 (1960). – [32] Serdyuk S.J.: Versuch zur künstlichen Besamung von Schweinen mit transportiertem Sperma. Landwirtsch. Zblt. *9*, 833 (1964) abstr. – [33] Smidt D.: Die Schweinebesamung. Verlag M. u. H. Schaper, Hannover (1965). – [34] Van Demark M.L. and Sharma U.D.: Preliminary fertility results from the preservation of bovine semen at room Temperature. J. Dairy Sc. *40*, 438–439 (1957). – [35] Vlachos K. und Tsakaloff P.: KB bei Ziegen mit Tiefkühlsperma. Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wochenschr. *76*, 491–494 (1963). – [36] Wettke K., Rohloff D. und Huhn J. E.: Versuche zur Konservierung von Ebersperma durch $CO_2$-Konservierung. Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wochenschr. *77*, 8–11 (1964). – [37] Wettke K.: Zur Sicherung der zeitgerechten Sameneinführung beim Schwein. Berl. u. Münchn. Tierärztl. Wochenschr. *76*, 271–273 (1963).

*Anschrift der Verfasser:*

Dr. K. Zerobin, Veterinär-Physiologisches Institut der Universität Zürich, Winterthurerstraße 260, 8057 Zürich.

Prof. Dr. H. U. Winzenried, Tierzucht-Institut der Universität Zürich, Winterthurerstraße 260, 8057 Zürich.

Aus der Medizinischen Tierklinik der Universität Bern
Prof. Dr. U. Freudiger

# Aktivitätsbestimmungen von Serumenzymen in der Veterinärmedizin

## III. F. LDH-Isoenzyme in einigen Organen und im Serum kranker und gesunder Pferde[1]

Von H. Gerber

In einer kürzlich erschienenen Übersichtsarbeit über Isozyme oder Isoenzyme berichtet F. Schapira [24] über die Entwicklung der Forschung auf diesem Gebiet und über die Anwendungsmöglichkeiten der betreffenden Methoden in der klinischen Diagnostik und in neueren Gebieten wie der Mole-

[1] Unterstützt vom Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung.

kularpathologie. Die Entwicklung der Erkenntnisse über die Eigenschaften der LDH-Isoenzyme läßt sich folgendermaßen zusammenfassen: 1950 wurde die elektrophoretische Heterogenität der LDH beobachtet [15]. Vesell und Bearn [25] führten 1957 die Stärkeblock-Elektrophorese zur Auftrennung der LDH in ihre Isoenzyme ein. Ein Unterschied zwischen der Isoenzym-Verteilung im Normalserum und in Seren von Patienten mit Myocardinfarkt wurde schon damals festgestellt. Die Natur der LDH-Isoenzyme war Gegenstand intensiver Forschung durch verschiedene Gruppen [3, 10, 13, 14]. Im allgemeinen werden zwei LDH-Typen unterschieden, nämlich ein Herzmuskel-Isoenzym oder A [14] und ein Skelettmuskeltyp oder B. A pflegt mit relativ großer Geschwindigkeit in der Elektrophorese anodisch zu wandern, B wandert zur Kathode. A wird durch Pyruvatexzesse erheblich gehemmt, B wird nicht gehemmt [10]. Diese Tatsache ist von prinzipieller Bedeutung und soll in der Diskussion unserer Resultate weiter besprochen werden. A ist vorwiegend in der Herzmuskulatur lokalisiert, B in der Skelettmuskulatur. Jedes Molekül eines LDH-Isoenzyms ist aus vier Monomeren aufgebaut [14]. Die Hybridisierung der beiden Grundtypen A und B ergibt drei intermediäre Isoenzyme. Tatsächlich können in tierischen Organen fünf LDH-Isoenzyme nachgewiesen werden, die von verschiedenen Autoren verschieden bezeichnet werden. Der reine Typ A entspricht dem $\alpha_1$-Isoenzym, der reine Typ B dem $\gamma_2$-Isoenzym. Die intermediären Typen erhalten entsprechend ihrer Wanderungsgeschwindigkeit die Bezeichnungen $\alpha_2$, $\beta$ und $\gamma_1$. In Untersuchungen von Testikelgewebe konnte ein sechstes LDH-Isoenzym nachgewiesen werden [24], das von den anderen unabhängig ist und außer in Spermatozoen nicht vorkommen soll.

Bei Zellschäden von einiger Ausdehnung tritt LDH aus dem lädierten Organ ins Serum über, wobei die Gesamtaktivität von SLDH massiv ansteigen kann [8]. Das Isoenzym-Muster überlagert dabei dasjenige des Serums. Dieser Umstand kann diagnostisch verwendet und ausgenützt werden. Die Bestimmung der Isoenzyme der LDH vermehrt unter Umständen die Spezifität der erhaltenen Information wesentlich, während die Bestimmung der SLDH-Gesamtaktivität aus verschiedenen Gründen von geringem Wert ist. In der Humanmedizin werden die LDH-Isoenzyme in der Diagnostik des Myocardinfarkts [5, 6], von Leberschäden [5, 6], besonders aber von Myopathien verwendet [4, 13, 16, 23, 24, 30]. Es wird auch hervorgehoben, daß das LDH-Isoenzym-Verteilungsmuster in Effusionen Anhaltspunkte liefern kann, ob ein maligner oder ein benigner Prozeß den Erguß verursacht hat. [17, 19, 21, 22].

Von klinischem Interesse sind unseres Wissens für die Veterinärmedizin nur die Arbeiten von Boyd [1, 2], der die LDH-Isoenzyme in Organen und Serum von Lämmern mit experimentell erzeugter Muskeldystrophie beobachtet hat. Beim Pferd sind uns keine Arbeiten auf diesem Gebiet bekannt. Wir möchten in der Form einer vorläufigen Mitteilung über die Befunde einiger Untersuchungen berichten.

## Material und Methoden

Die benötigten Organe haben wir bei gesunden Schlachtpferden nach der vollständigen Entblutung entnommen. Das Organmaterial wurde in einer Saccharoselösung (0,25 M, 5 mM EDTA) zu 1:10 Homogenaten verarbeitet. Die Homogenate unterzogen wir einer Zentrifugierung während zehn Minuten bei 0 bis 2°C mit 18 000 bis 20 000 x g. Der Überstand wurde in 0,4 ml Plastikröhrchen sofort anschließend bei –20°C eingefroren.

Zur Kontrolle des Isoenzym-Musters der Pferdeerythrocyten wurde eine gepoolte Blutprobe von 12 gesunden Pferden zentrifugiert, die Erythrocyten anschließend viermal gewaschen und als Suspension in physiologischer NaCl-Lösung eingefroren. Nach dem Auftauen und kurz vor der Bestimmung der LDH-Aktivität wurde das Hämolysat 15 Minuten bei 10 000 x g (0 bis 2°C) zentrifugiert. Der Überstand wurde für die Bestimmungen verwendet.

Sieben klinisch normale Pferde und ein Serumpool von 12 gesunden Pferden mit normaler SLDH-Gesamtaktivität wurden für die Gewinnung von Anhaltspunkten für die «normale» Verteilung der SLDH-Isoenzyme herangezogen. Die in unserem letzten Beitrag erwähnten Pferde mit paralytischer Myoglobinämie konnten zum Teil auch auf die Verteilung der SLDH-Isoenzyme untersucht werden [8]. Einige Fälle mit anderen Krankheiten wurden zum Vergleich untersucht.

Die Bestimmung der Gesamtaktivität der LDH nahmen wir nach den Vorschriften der «Biochemica Test Combinationen» Böhringer vor. Bei hohen Aktivitäten muß oft sehr stark verdünnt werden. Die Werte wurden im Medizinisch-chemischen Institut mit anderen Ansätzen überprüft [20, 11]. Die Elektrophorese der Proben wurde auf Agargel unternommen, nach einer Technik, die sich eng an diejenige von Wieme [26, 27] anlehnt. Die Färbung der Präparate erfolgte mit der Tetrazoliummethode [9], die Auswertung mit Photometer und Direktschreiber.

## Resultate

Die Ergebnisse der Gesamtaktivitäts-Bestimmungen im Serum werden in IU angegeben, in Organen in $\mu$Mol · min$^{-1}$/g Feuchtgewicht, in Erythrocyten in $\mu$Mol . min$^{-1}$/ml Erythrocyten. Die Verteilung der einzelnen LDH-Isoenzyme wird in Prozenten der Gesamtaktivität ausgedrückt. Die Isoenzyme werden mit griechischen Buchstaben und Indices gekennzeichnet.

In Tabelle 1 sind die Ergebnisse der Organanalysen zusammengefaßt. Die Untersuchungen von Gehirnsubstanz haben etwas verschiedene Werte ergeben. Während im Gehirn des Menschen $\alpha_1$ bei weitem überwiegt, finden wir beim Pferd $\alpha_1$, $\alpha_2$ und $\beta$ ungefähr in gleicher relativer Konzentration. Die Analysen von Herzmuskulatur aus der Seitenwand des linken Ventrikels dreier Pferde erbrachten sehr einheitliche Werte: das am schnellsten anodisch wandernde Isoenzym $\alpha_1$ überwiegt quantitativ sehr deutlich. In allen drei Proben wurden nur vier Isoenzyme festgestellt (kein $\gamma_2$). Die Gesamtaktivität der LDH scheint beim Pferd höher zu sein als beim Menschen [20]. Die relative Verteilung der Isoenzyme entspricht sich bei beiden Species gut. Auch beim Schaf ist eine ähnliche Verteilung festzustellen [2]. Die Ergebnisse der Analysen von Skelettmuskulatur sind weniger einheitlich. Pferd Nr. 1 diente zur Entnahme einer Probe aus dem Masseter, bei Nr. 2 haben wir Glutaeus superficialis entnommen, bei Nr. 5 Pectoralis superficialis. Der Unterschied zwischen Herz- und Skelettmuskulatur ist bei allen drei Pferden

deutlich. Im Masseter und im Pectoralis konnten fünf Isoenzyme nachgewiesen werden, im Glutaeus vier. Die relative Bevorzugung von $\gamma$-Isoenzym in der Skelettmuskulatur ist beim Pferd anscheinend weniger ausgeprägt als beim Menschen [20] oder beim Schaf [2]. In der Milz haben wir vier Isoenzyme gefunden; in allen vier Fällen ist die Verteilung ungefähr dieselbe. Das Muster ist demjenigen der menschlichen Milz sehr ähnlich [20]. In der Leber wurden in den drei Gewebsproben sechs Isoenzyme nachgewiesen, wobei anodisch wandernde in der Pferdeleber in schwacher Konzentration vorliegen, während die drei $\gamma$-Isoenzyme das Übergewicht beanspruchen. Beim Menschen überwiegen $\beta$ und besonders $\gamma$-Isoenzyme ebenfalls deutlich [20], beim Schaf hat Boyd weder $\gamma_1$ noch $\gamma_2$ gefunden [2]. Pankreasparenchym enthält vorwiegend anodisch wandernde Isoenzyme. In einer Drüse wurde kein $\alpha_1$ nachgewiesen. Es konnten vier, drei oder nur zwei LDH-Species festgestellt werden. Beim Menschen scheint Pankreas die verschiedenen Isoenzyme in ungefähr gleicher Konzentration zu enthalten. Wir haben beim Pferd gefunden, daß vor allem $\alpha_2$ überwiegt. Die Nierenrinde enthält beim Pferd zur Hauptsache $\alpha_1$, $\alpha_2$ und $\beta$-Isoenzyme; nur bei einem Tier konnte eine geringe relative Konzentration von $\gamma_1$ nachgewiesen werden. Beim Menschen überwiegt $\alpha_1$, aber $\gamma$-Isoenzym ist ebenfalls in ziemlich erheblicher Menge

Tabelle 1 LHD-Isoenzym-Muster in Pferdeorganen

| Organ | Tier Nr. | LDH (IU) ($\bar{x}$) | Isoenzyme (%) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | $\alpha_1$ | $\alpha_2$ | $\beta$ | $\gamma_1$ | $\gamma_2$ | $\gamma_3$ |
| Gehirn | 1 | 48,5 | 35,3 | 28,1 | 32,3 | 4,3 | 0,0 | — |
| | 2 | | 27,8 | 38,8 | 22,4 | 9,3 | 1,7 | — |
| Myocard | 1 | 354,2 | 62,4 | 27,5 | 5,9 | 4,2 | 0,0 | — |
| | 2 | | 61,6 | 25,8 | 9,3 | 3,3 | 0,0 | — |
| | 5 | | 63,7 | 28,5 | 6,6 | 1,2 | 0,0 | — |
| Skelettmuskulatur | 1 | 154,6 | 26,0 | 27,3 | 29,7 | 10,9 | 6,1 | — |
| | 2 | | 8,6 | 13,5 | 30,8 | 47,1 | 0,0 | — |
| | 5 | | 23,2 | 16,6 | 22,2 | 23,8 | 14,2 | — |
| Milz | 1 | 43,1 | 3,6 | 18,7 | 45,9 | 31,8 | 0,0 | — |
| | 2 | | 7,1 | 21,5 | 40,8 | 30,6 | 0,0 | — |
| | 3 | | 7,5 | 21,6 | 41,7 | 29,2 | 0,0 | — |
| | 4 | | 16,5 | 24,3 | 37,2 | 22,0 | 0,0 | — |
| Leber | 1 | 81,8 | 2,8 | 19,3 | 25,1 | 16,4 | 21,4 | 15,0 |
| | 3 | | 1,9 | 15,4 | 21,3 | 16,8 | 23,0 | 21,6 |
| | 4 | | 5,5 | 9,8 | 30,4 | 21,3 | 14,8 | 18,2 |
| Pankreas | 1 | 51,9 | 49,1 | 28,0 | 22,9 | 0,0 | 0,0 | — |
| | 2 | | 42,5 | 30,2 | 19,9 | 7,4 | 0,0 | — |
| | 3 | | 23,7 | 32,5 | 37,1 | 6,7 | 0,0 | — |
| | 4 | | 0,0 | 66,5 | 33,5 | 0,0 | 0,0 | — |
| Nierenrinde | 1 | 121,8 | 35,6 | 30,7 | 22,8 | 10,9 | 0,0 | — |
| | 2 | | 25,6 | 23,9 | 29,5 | 21,0 | 0,0 | — |
| | 3 | | 25,0 | 30,2 | 30,6 | 14,2 | 0,0 | — |
| | 5 | | 28,0 | 28,8 | 25,8 | 12,6 | 4,8 | — |

nachweisbar [20]. Beim Schaf entsprechen die Verhältnisse etwa denjenigen beim Pferd, während die Ratte in den Glomerula eine ähnliche Verteilung aufweist, in den Tubuli jedoch fast ausschließlich $\alpha_1$ nachweisen läßt [18].

Tabelle 2 vermittelt die bei klinisch gesunden Pferden eruierten Serumbefunde. In allen Seren wurden drei bis vier Isoenzyme festgestellt, wobei $\gamma$-Isoenzyme fehlen können oder nur in geringer Konzentration vorhanden zu sein pflegen. Beim Menschen [23] und beim Schaf [2] sind ähnliche Befunde ebenfalls als normal zu betrachten.

Tabelle 2 Mittel- und Extremwerte für das LDH-Isoenzym-Muster im Serum gesunder Pferde

| | $\bar{x}$ | Extreme | |
|---|---|---|---|
| LDH-Gesamtaktivität | 390,5 | 291–476 | IU |
| $\alpha_1$ | 21,4 | 14,4–29,2 | % |
| $\alpha_2$ | 30,8 | 28,8–38,6 | % |
| $\beta$ | 34,9 | 31,2–49,3 | % |
| $\gamma$ | 12,7 | 0,0–16,3 | % |

N = 19 (7 Einzelbestimmungen, 12 Seren gepoolt).

Als Ergänzung zu den Tabellen 1 und 2 sei die Untersuchung des Hämolysats erwähnt. Die Bestimmung der Gesamtaktivität ergab den Wert von 6,82 $\mu$Mol·min$^{-1}$/ml Erythrocyten. Die quantitative Aufteilung des elektrophoretischen Präparates wurde nicht vorgenommen wegen der starken Verfärbung im $\beta$-Bereich durch Hämoglobin. Die Betrachtung des Präparates zeigt deutlich, daß vornehmlich $\alpha_1$-Isoenzym vorhanden ist, ähnlich wie das auch beim Menschen der Fall zu sein scheint [20]. Vgl. Abbildung 3.

Die Isoenzym-Muster aus Myocard, Skelettmuskulatur und Leber sind in Abbildung 1 solchen aus Seren bei verschiedenen Krankheitszuständen gegenübergestellt worden. Deutlich geht aus dieser Darstellung hervor, daß sich das Isoenzym-Muster der Herzmuskulatur von demjenigen der Skelettmuskulatur und der Leber erheblich unterscheidet. Hingegen ist eine Unterscheidung zwischen dem Muster im Glutäus und demjenigen in der Leber nur wegen der unterschiedlichen Anzahl von $\gamma$-Isoenzymen möglich. Das Normalserum zeigt ein deutlich anderes Isoenzym-Muster als die Seren von Pferden mit gewissen krankhaften Zuständen, abgesehen davon, daß es auch durch die Gesamtaktivität differenziert werden kann. Bei paralytischer Myoglobinämie ähnelt die Isoenzym-Verteilung im Serum während der ersten 48 Stunden nach dem Eintreten klinischer Erscheinungen demjenigen der Skelettmuskulatur und demjenigen der Leber (allerdings ohne $\gamma_3$). Bei allgemeinem Tetanus, im Fall von Abbildung 1 sechs Tage nach der Hospitalisierung untersucht, ist das Serum-Isoenzym-Muster am ehesten demjenigen

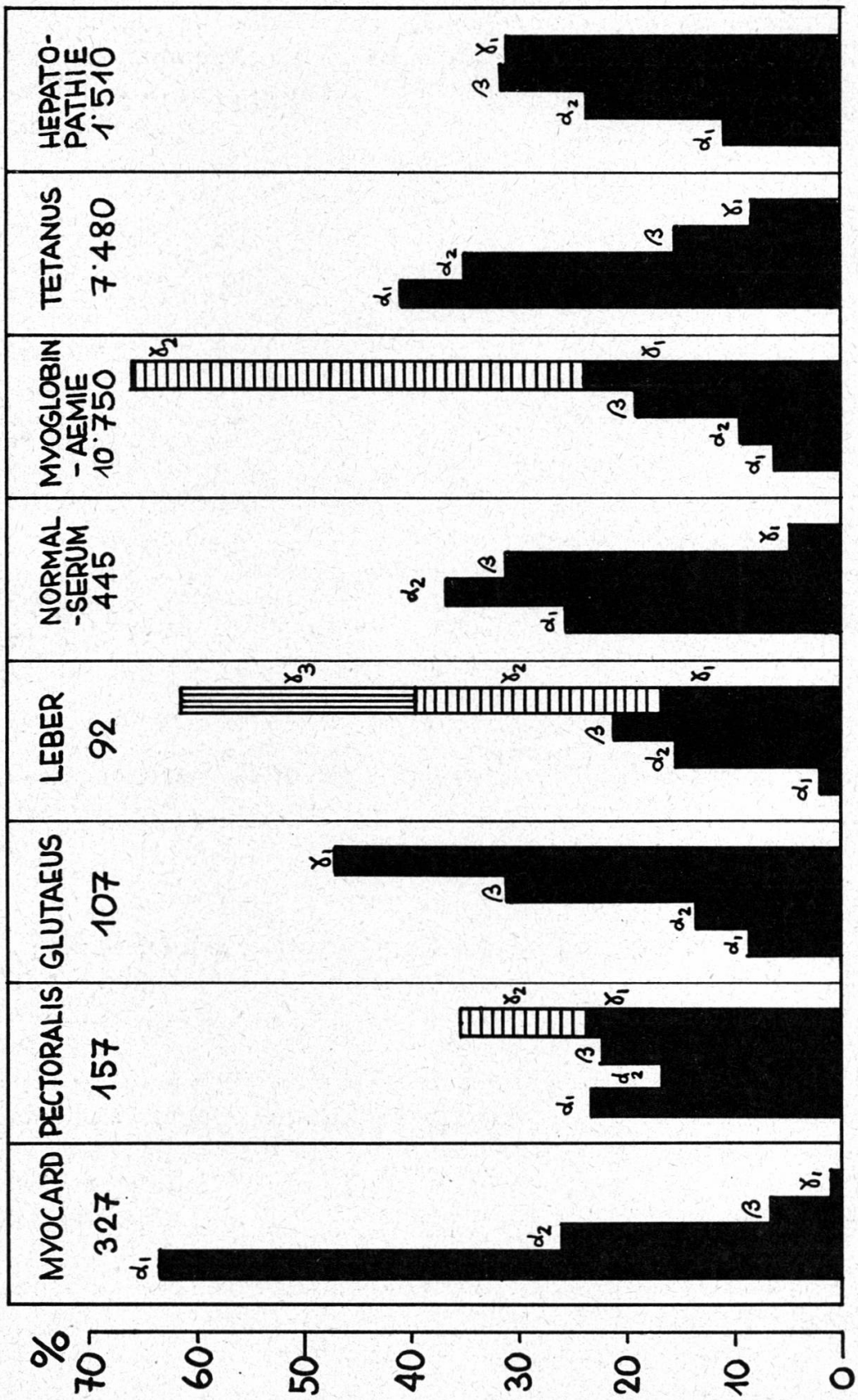


Abb. 1 *Verteilungsmuster der LDH-Isoenzyme in einigen Organen und im Serum gesunder und kranker Pferde.* Es ist die prozentuale Verteilung eingezeichnet. Die absoluten Zahlen unter den Organ- und Krankheitsbezeichnungen bedeuten die LDH-Gesamtaktivität, in Organen als $\mu$Mol·min$^{-1}$/g FG, im Serum als IU.

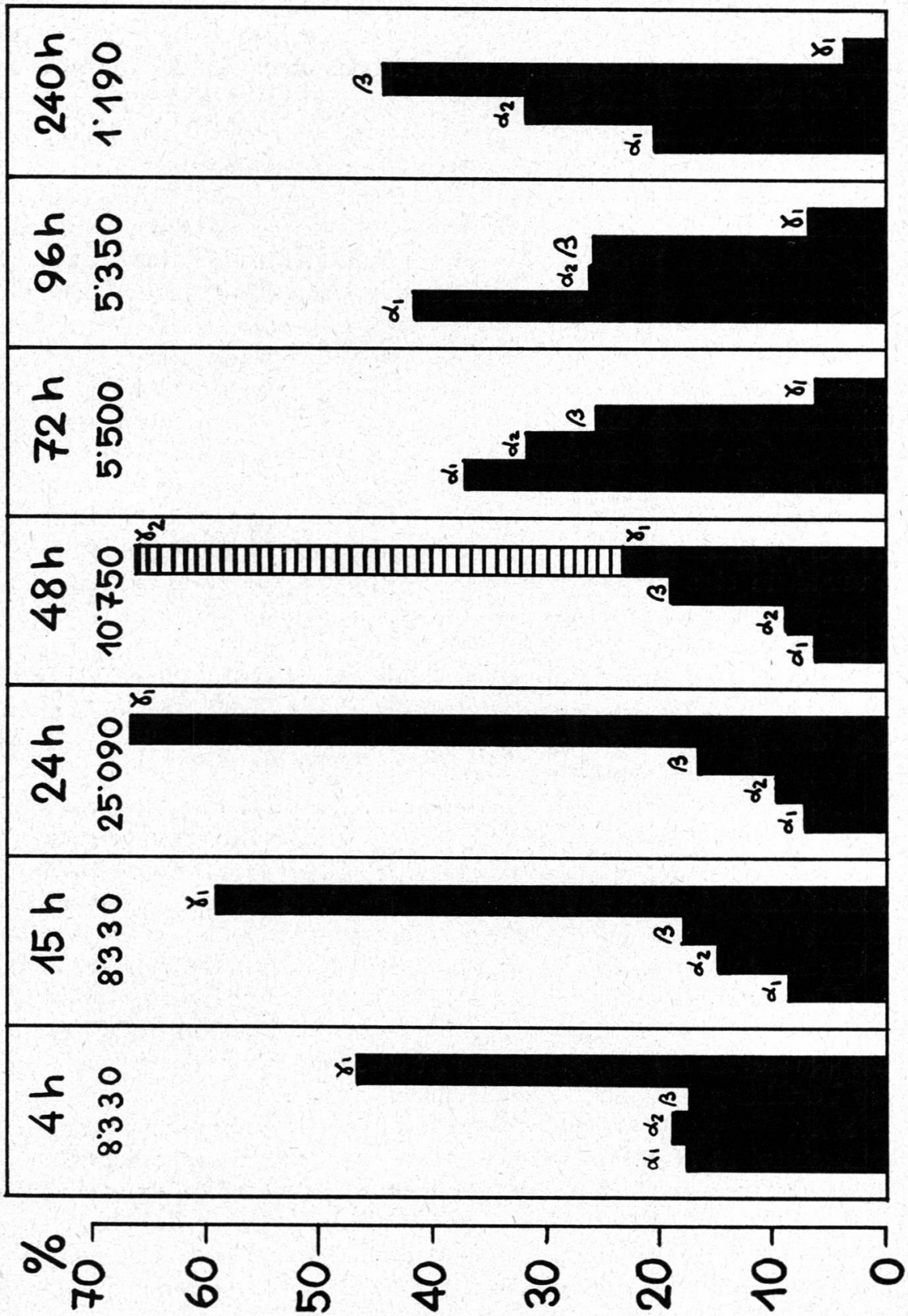


Abb. 2 *Veränderungen im Isoenzym-Muster im Serum myoglobinämie-kranker Pferde.* Es ist die prozentuale Verteilung eingezeichnet. Die absoluten Zahlen bedeuten die SLDH-Gesamtaktivität in IU. Die angegebenen Stundenwerte beziehen sich auf den Eintritt klinisch apparenter Symptome. Behandlung sofort nach Krankheitsbeginn. Nach 24 Stunden völlig symptomlos.

des Myocards zu vergleichen. In einem Fall von mittelschwerer Leberzellschädigung fällt die Vermehrung des $\gamma_1$-Isoenzyms auf, während $\gamma_2$ und $\gamma_3$ nicht im Serum in Erscheinung treten.

Abbildung 2 dokumentiert die Veränderungen in der relativen Verteilung der LDH-Isoenzyme im Serum während des Verlaufs einer paralytischen Myoglobinämie. Es ist zu bedenken, daß die Pferde jeweils sofort behandelt werden konnten und sich deshalb wenige Stunden nach dem Auftreten der Symptome schon in Rekonvaleszenz befanden. Es fällt auf, daß während der ersten 24 Stunden das Isoenzym-Muster des Serums unzweifelhaft von demjenigen der Skelettmuskulatur überlagert wird. Nach 48 Stunden ist in diesem Fall auch ein $\gamma_2$-Isoenzym im Serum nachzuweisen. Im weiteren Verlauf der Rekonvaleszenz verändert sich dann das Bild bei immer noch hohen SLDH-Aktivitäten drastisch. Die $\gamma$-Isoenzyme sind nur noch in geringer relativer Konzentration vorhanden, die rasch anodisch wandernden Isoenzyme, besonders $\alpha_1$ sind deutlich vermehrt, so daß sich das Bild, etwa nach 72 Stunden, demjenigen im Myocard annähert. Nach 10 Tagen präsentiert sich die Verteilung wiederum leicht verändert, indem leicht erhöhter Gesamtaktivität vor allem eine Vermehrung des $\beta$-Isoenzyms zugrunde liegt. Die Veränderungen in den Aktivitäten der Isoenzyme sind als absolute Werte noch deutlicher feststellbar (Abbildung 4).

Abbildung 3 ist eine Zusammenstellung einiger elektrophoretischer Präparate aus Organhomogenaten, Erythrocyten und Seren. Die in Abbildung 2 und 4 dargestellten Veränderungen im Verlauf der paralytischen Myoglobinämie sind hier deutlich zu sehen.

Neben den bisher erwähnten Untersuchungen wurden sechs weitere Fälle von paralytischer Myoglobinämie mit ähnlichen Resultaten untersucht. Ein Fall von Tetanus zeigte ein deutliches Überwiegen von $\alpha_1$ und $\alpha_2$. Während der Erkrankung kam es zu keiner erheblichen Veränderung in der relativen Verteilung der Isoenzyme. Es ist festzuhalten, daß sich das Pferd anläßlich der Untersuchungen in Rekonvaleszenz befand. Einzelfälle von akuter Hufrehe, Obstipationen mit sekundärer Leberschädigung, Influenza equi, Diabetes insipidus und Dermatitis purulenta wurden zur Kontrolle mituntersucht. Sie zeigten keine signifikanten Abweichungen von der normalen relativen Verteilung.

Die früher veröffentlichten Resultate von Bestimmungen der LDH-Gesamtaktivität in Pferdeorganen wurde damals ausschließlich vom Gesichtspunkt ihrer möglichen klinisch-diagnostischen Anwendung diskutiert [7]. Wir haben die Mittelwerte dieser Bestimmungen in Tabelle 1 erneut angeführt. Es sind uns keine Untersuchungen beim Pferd bekannt, die wir mit unseren Befunden vergleichen könnten. Boyd [2] untersuchte die Skelettmuskulatur, das Myocard und die Leber von zwei gesunden Schafen. Seine Werte sind auf g Trockengewicht bezogen. Es geht aus den Resultaten hervor, daß sich die Verteilung der LDH in den Organen des Schafes ungefähr gleich gestaltet wie beim Pferd. Allerdings ist beim Pferd die LDH-

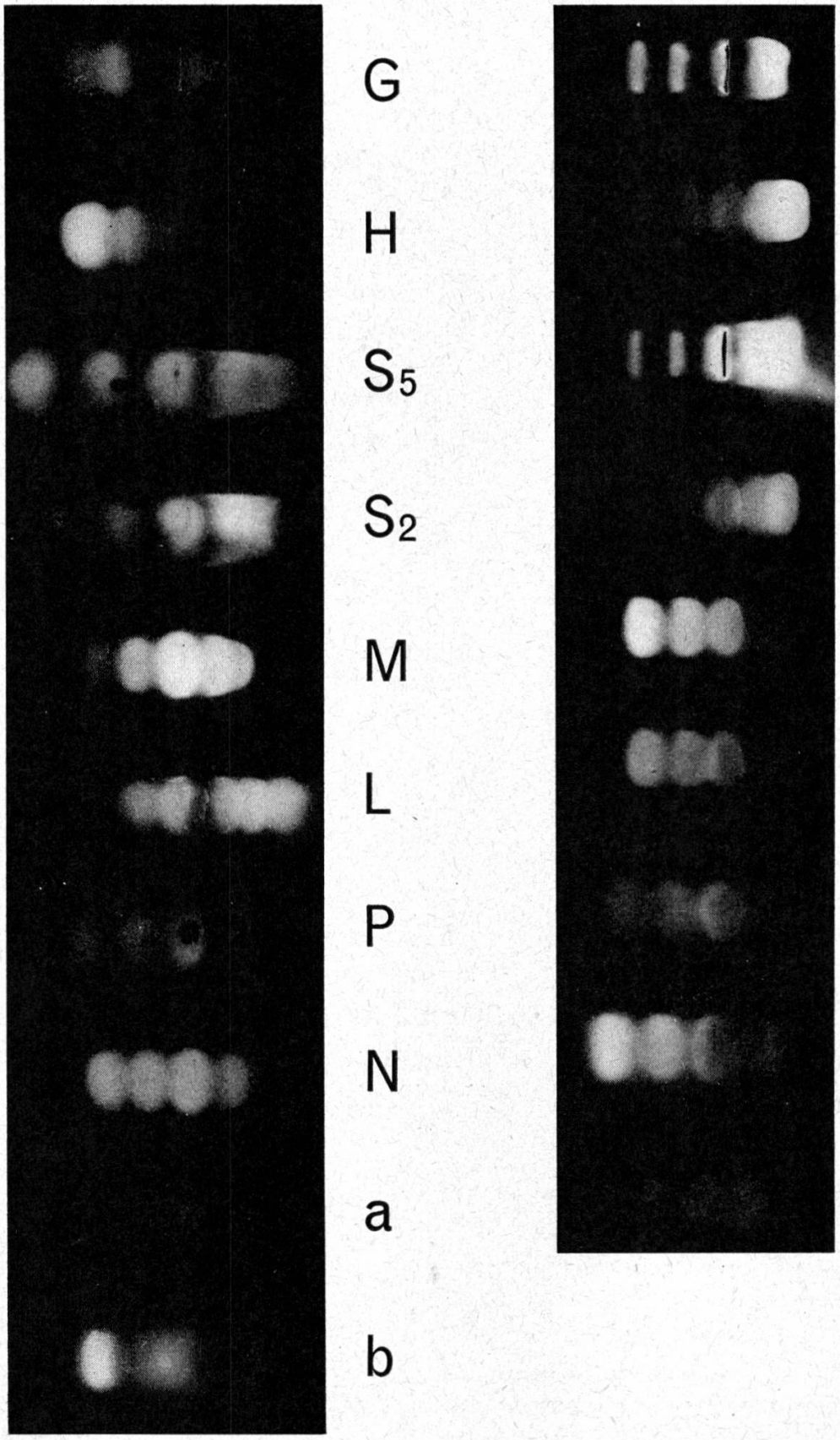


Abb. 3 *Photographie der nach der Tetrazolium-Methode gefärbten elektrophoretischen Präparate.*
G = Gehirn (medulla oblongata), H = Myocard, $S_5$ = Pectoralis, $S_2$ = Glutaeus, M = Milz, L = Leber, P = Pankreas, N = Nierenrinde.
a = Normalserum
b = Hämolysat
c = paralytische Myoglobinämie (PM) nach 4 Stunden
d = PM nach 15 Stunden, e = PM nach 24 Stunden, f = PM nach 48 Stunden, g = PM nach 72 Stunden, h = PM nach 96 Stunden, i = PM nach 240 Stunden.
k = Tetanus, 6 Tage nach dem Auftreten klinischer Symptome
l = sekundäre Hepatopathie

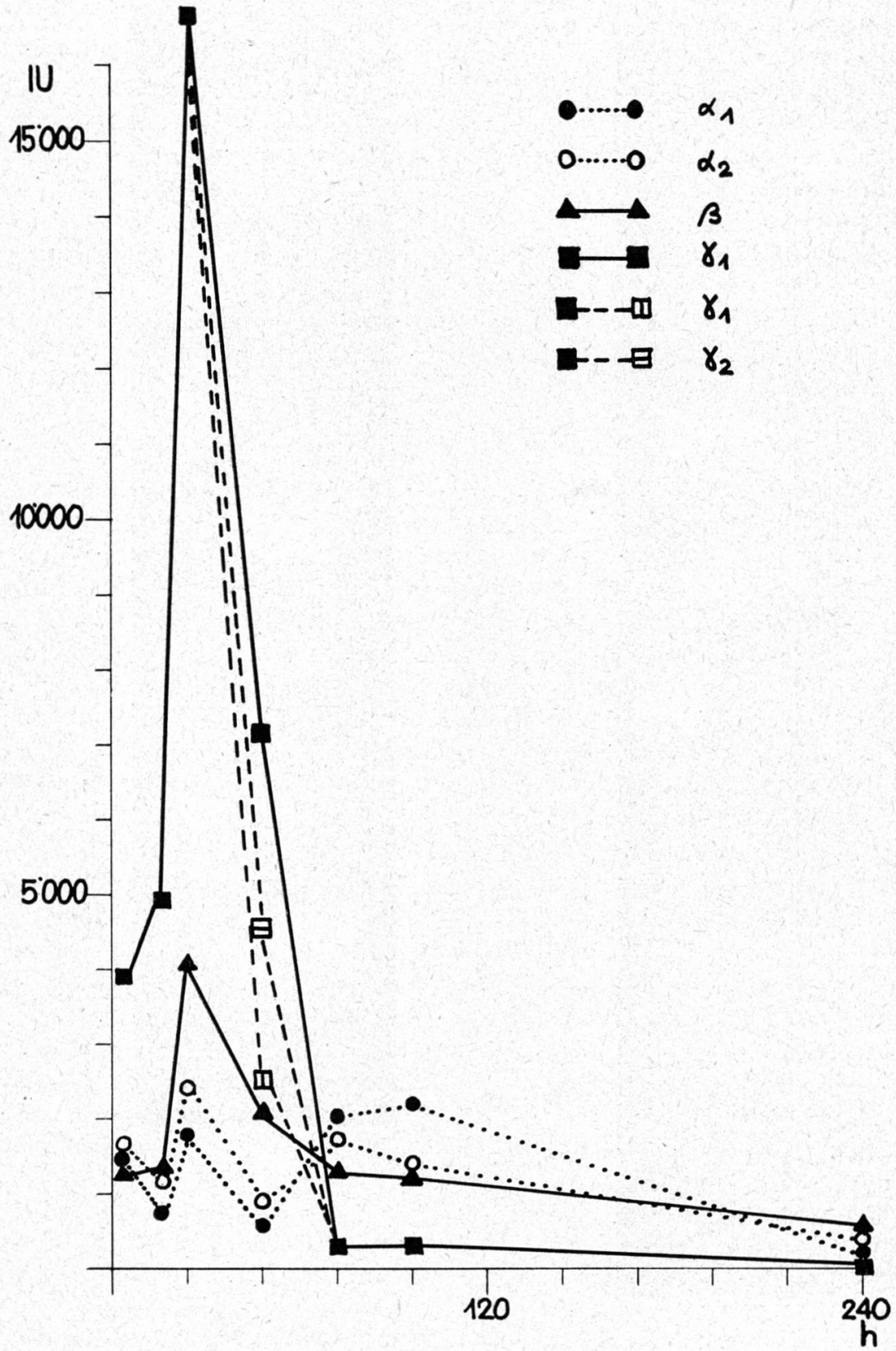


Abb. 4 *Absolute Aktivität der SLDH-Isoenzyme bei paralytischer Myoglobinämie.* Die Werte wurden aus der relativen Verteilung und der Gesamtaktivität errechnet.

Gesamtkonzentration im Myocard offenbar eindeutig höher als in der Skelettmuskulatur. Im Vergleich zu den Resultaten von Richterich et al. [20] beim Menschen, weist das Pferd im Myocard mehr LDH auf, während in den anderen Organen die Gesamtaktivitäten gut vergleichbar sind.

Die Autoren erwähnen, daß die Bestimmung der LDH mit erheblichen Fehlern verbunden sein könne. Zum Teil ergeben sich Fehlermöglichkeiten aus dem heterogenen Charakter der LDH. Es wird festgestellt, daß oft zwischen Extinktionsänderung und Zeit keine lineare Beziehung bestehe. Wir haben beim Pferd ähnliche Phänomene weder in Organen noch in Seren gehäuft beobachtet. Unsere Werte waren auch bei Doppelbestimmungen immer gut reproduzierbar, so daß wir diesen Fehler glauben vernachlässigen zu dürfen.

## Diskussion

Wir beschränken uns bei der Diskussion unserer Ergebnisse auf einige klinisch und prinzipiell wichtige Fragen. Es ist vorweg zu betonen, daß unsere Untersuchungen nicht umfangreich genug sind, um weitreichende Folgerungen zu gestatten. Sie geben aber immerhin einige Anhaltspunkte für die Verwendung der Methode und die Interpretation der Resultate.

Im Abschnittt über die Isoenzym-Muster in den Organen des Pferdes wurden die Ergebnisse mit den Befunden beim Menschen [20] und beim Schaf [2] verglichen. Auch bei anderen Tierarten werden ähnliche Verteilungsmuster gefunden [10]. Als Grundtypen sind die Muster im Myocard und im Skelettmuskel anzusehen. Die anderen Organe weisen Mischtypen auf, wobei bei den meisten Tieren Gehirn und Erythrocyten den Typ Herz repräsentieren. Die Leber ist bei Vögeln und Ruminanten ebenfalls dem Typ Herz beizuordnen [vgl. 2], andere Säuger und der Mensch zeigen in der Leber eher ein Muster, das demjenigen der Skelettmuskulatur entspricht. Wir haben nun beim Pferd einige Besonderheiten festgestellt. Im Gehirn des Pferdes scheint ein Mischtyp vorzuwiegen, der dem Muster des Myocards nur noch entfernt ähnlich sieht. In der Skelettmuskulatur variiert das Verteilungsmuster von Muskel zu Muskel [vgl. 20, 2]. Es weist nicht in allen Muskeln ein $\gamma_2$-Isoenzym auf. In der Leber haben wir bei den drei untersuchten Tieren regelmäßig sechs Isoenzyme gefunden.

Diese kurz resümierten Ergebnisse und Besonderheiten haben möglicherweise physiologische Bedeutung. Ein Verteilungsmuster vom Typ Herz wird in Organen mit vorwiegend aerobem Metabolismus gefunden. Das $\alpha_1$ Isoenzym wird durch Pyruvatexzesse gehemmt. Ein Weiterabbau zu Lactat findet nicht statt, das Pyruvat wird im Citronensäurecyclus oxydiert. Der Metabolismus des Pferdegehirns scheint demnach weniger ausgeprägt aerob orientiert zu sein als derjenige des menschlichen Gehirns, wo als Substrat fast ausschließlich Glucose verwendet werden soll [20]. Die Erythrocyten des Pferdes hingegen enthalten fast ausschließlich $\alpha_1$-Isoenzym und haben erwartungsgemäß einen ausgesprochen aeroben Stoffwechsel. Das Myo-

card des Pferdes ist ebenfalls ausgesprochen reich an $\alpha_1$-Isoenzym, und da das Pferdeherz auch absolut mehr LDH zu enthalten scheint als das menschliche Myocard, scheint das Organ beim Pferd besonders ausgeprägt auf aerobe Energiegewinnung eingestellt zu sein. In der Skelettmuskulatur kommt beim Pferd ein Dominieren der $\gamma$-Isoenzyme weniger deutlich zum Ausdruck als beim Menschen oder beim Schaf. Die $\alpha_1$-Konzentration im Glutaeus ist allerdings gering. Die quergestreifte Muskulatur des Pferdes ist auf eine vorwiegend anaerobe Energiegewinnung eingerichtet. Man ist versucht, die Unterschiede in der Verteilung in den verschiedenen Muskeln mit dem Auftreten von paralytischer Myoglobinämie in Verbindung zu bringen. Bei dieser Krankheit besteht ja eine deutliche Bevorzugung bestimmter Gebiete der Kruppenmuskulatur, selten werden Muskelgruppen an der Schulter oder anderswo befallen. Eine Konstruktion von Zusammenhängen zwischen dem Isoenzym-Muster bestimmter Muskelgruppen und dem Auftreten von paralytischer Myoglobinämie läßt sich auf Grund unserer unvollständigen Untersuchungen vorläufig nicht rechtfertigen. Es ist indessen nicht ausgeschlossen, daß eingehendere Untersuchungen in dieser Richtung zur Abklärung der Pathogenese dieser eigenartigen Krankheit beitragen werden.

Die Pferdeleber enthält überwiegend $\gamma$-Isoenzym, wobei wir drei verschiedene $\gamma$-Typen nachweisen konnten. Die Signifikanz dieses Resultates ist nicht klar. Es kann sich um ein Artefakt handeln, wiewohl die Regelmäßigkeit der Verteilung bei allen Pferden eher gegen diese Möglichkeit zu sprechen scheint. Es kann sich – weniger wahrscheinlich – um eine unabhängige LDH-Species handeln, die bei anderen Tierarten nicht angetroffen wird. Die Frage konnte noch nicht geklärt werden. Richterich et al. [20] betrachten es als möglich, daß das menschliche Leberparenchym nur $\gamma$-Isoenzym enthält und daß die anderen Isoenzyme durch andere morphologische Elemente der Leber (Gallengänge usw.) abgegeben werden. Wie bei anderen Tieren dürfte die Leber auch beim Pferd mit dem Überwiegen von $\gamma$-Isoenzymen vorwiegend die aerobe Glycolyse zur Energiegewinnung verwenden. Aerobe Glycolyse scheint beim Pferd auch in der Milz eine Rolle zu spielen, wenn man berechtigt ist, allein auf Grund der Isoenzym-Verteilung die Energiegewinnung zu beurteilen. Die Nierenrinde des Pferdes ist auf einen vorwiegend aeroben Stoffwechsel eingestellt. Es ist anzunehmen, daß im Pankreas des Pferdes etwas besondere Verhältnisse herrschen, wie der verschwindend geringe Gehalt dieses Organs an $\gamma$-Isoenzym anzeigen mag.

Eine klinisch-diagnostische Bewertung der Methode zur Auftrennung der LDH in ihre einzelnen Species kann auf Grund unserer Untersuchungen noch nicht versucht werden. Daß die klinische Bedeutung wahrscheinlich nicht sehr groß ist, läßt sich wegen der Ähnlichkeit der Muster in der Leber und in der Skelettmuskulatur vielleicht voraussagen. Das Myocard-Verteilungsmuster hingegen unterscheidet sich deutlich von den anderen Organmustern. Es muß aber auffallen, daß bei Tetanus in Rekonvaleszenz und bei Kreuzschlag in Rekonvaleszenz nicht ein der Skelettmuskulatur-Verteilung ähn-

liches Serummuster gefunden wird, sondern eher eine Verteilung, wie sie dem Myocard entsprechen könnte. Die Änderungen des Musters in der Rekonvaleszenzphase der paralytischen Myoglobinämie treten offenbar ziemlich gesetzmäßig auf; bei der klinischen Untersuchung dieser Tiere sind indessen keinerlei Anhaltspunkte für eine akute Myocardschädigung zu Tage getreten. Die Interpretation dieses Phänomens ist deshalb nicht einfach zu geben: Alle Isoenzyme, die normalerweise im Serum vorkommen, sind in der ersten Zeit nach dem Beginn der Erkrankung vermehrt im Serum vorhanden. Besonders deutlich sind die $\gamma_1$-Isoenzyme vermehrt, manchmal tritt auch $\gamma_2$ in Erscheinung. Während der Erholung der Tiere fällt der Spiegel der $\gamma$-Isoenzyme rascher ab als derjenige der übrigen, das relative Verteilungsmuster beginnt sich demjenigen des Myocards anzunähern. Entweder ist also die Eliminationsgeschwindigkeit der einzelnen Isoenzyme erheblich voneinander verschieden oder die regenerierenden Muskelbezirke weisen ein dem Myocard ähnliches Verteilungsmuster auf. In der regenerierenden Muskulatur könnten diese für die Skelettmuskulatur in gesundem Zustand ungewohnten Isoenzyme durch noch unvollständig wiederhergestellte Zellmembranen austreten und das Serumenzym-Muster bestimmen. Für diese Möglichkeit spricht die Ähnlichkeit der Verteilung bei Myoglobinämie und bei Tetanus in Rekonvaleszenz. Die Frage scheint von prinzipieller Bedeutung und soll durch eingehendere Studien geklärt werden.

## Zusammenfassung

Es wird über Untersuchungen des LDH-Isoenzym-Musters in Organen und im Serum gesunder und kranker Pferde berichtet. In den Organen des Pferdes konnten einige Besonderheiten festgestellt werden, die näher diskutiert werden. Die klinisch-diagnostische Bedeutung der SLDH-Isoenzyme kann nicht abschließend beurteilt werden; sie wird vorläufig als gering eingeschätzt. Bei der Verfolgung der Isoenzymmuster in Seren myoglobinämiekranker Pferde sind Veränderungen aufgefallen, die möglicherweise mit der Regeneration der lädierten Muskelbezirke zusammenhängen.

## Résumé

On rapporte sur les recherches de l'échantillon Isoenzyme LDH dans des organes et le sérum de chevaux sains et malades. On a pu préciser certaines caractéristiques dans les organes du cheval. Elles sont l'objet d'une discussion approfondie. La signification clinico-diagnostique des isoenzymes SLDH ne peut pas être jugée de façon définitive; elle est taxée provisoirement de peu importante. Lors de la recherche des échantillons d'isoenzymes dans les sérums de chevaux myoglobinémiques, certaines altérations, qui sont probablement en liaison avec la régénérescence des régions musculaires lésées, ont frappé.

## Riassunto

Si riferisce sulle ricerche del campione Isoenzyma LDH negli organi e nel siero di cavalli sani ed ammalati. Precisate certe particolarità negli organi del cavallo, se ne discute a fondo. Il significato clinico-diagnostico degli isoenzimi SLDH non può essere giudicato in modo definitivo; in via provvisoria è valutato di minima importanza.

Nella ricerca dei campioni d'isoenzimi nei sieri di cavalli ammalati di mioglobinemia, si sono rivelate alterazioni che, probabilmente, sono in collegamento con la rigenerazione delle regioni muscolari lese.


## Summary

An account is given of examinations of the LDH-isoenzyme pattern in the organs and serum of healthy and diseased horses. Some peculiarities could be observed in the organs of the horse and these are discussed in more detail. The clinical-diagnostical importance of the SLDH-isoenzyme can not be definitively judged; at present it is regarded as slight. During observation of the isoenzyme pattern in the sera of myoglobinaemic horses certain changes were noticeable, which may possibly be connected with the regeneration of the damaged areas of the muscles.


## Literatur


[1] Boyd J. W.: Biochem. J. *92*, 17 P. (1964). – [2] Boyd J. W.: Res. vet. Sci. *5*, 419 (1964). – [3] Cahn R. D., Kaplan W. O., Levine L., Zwilling E.: Science *136*, 962 (1962). – [4] Dreyfus J. C., Demos J., Schapira F., Schapira G.: C. R. Acad. sc. Paris *254*, 3143 (1962). – [5] Elliott B. A., Wilkinson J. H.: Lancet I, 698 (1961). – [6] Elliott B. A., Wilkinson J. H.: Clin. Sci. *24*, 343 (1963). – [7] Gerber H.: Schweiz. Arch. Thk. *107*, 626 (1965). – [8] Gerber H.: Schweiz. Arch. Thk. *167*, 685 (1965). – [9] Helm H. J. van der: Clin. Chim. Acta *7*, 124 (1962). – [10] Kaplan N. O., Ciotti M., Hamolsky M., Bieber E.: Science *131*, 392 (1960). – [11] Kubowitz F., Ott P.: Biochem. Z. *314*, 94 (1943). – [12] Lauryssens M. G., Lauryssens M. J., Zondag H. A.: Clin. Chim. Acta *9*, 276 (1964). – [13] Markert C. L., Møller F.: Proc. Nat. Acad. Sci. US *45*, 753 (1959). – [14] Markert C. L.: Science *140*, 1329 (1963). – [15] Meister A.: J. Biol. Chem. *184*, 117 (1950). – [16] Richterich R., Gautier E., Egli W., Zuppinger K., Rossi E.: Klin. Wschr. *39*, 346 (1961). – [17] Richterich R., Zuppinger K., Rossi E.: Nature *191*, 507 (1961). – [18] Richterich R., Schafroth P., Franz H. E.: Enzymol. biol. clin. *1*, 114 (1961/62). – [19] Richterich R., Locher J., Zuppinger K., Rossi E.: Schweiz. Med. Wschr. *92*, 919 (1962). – [20] Richterich R., Schafroth P., Aebi H.: Clin. Chim. Acta *8*, 178 (1963). – [21] Richterich R., Burger A.: Enzymol. biol. clin. *3*, 65 (1963). – [22] Richterich R.: «Ciba-Symposium» *12*, 114 (1964). – [23] Schapira F., Dreyfus J. C.: Enzymol. biol. clin. *4*, 23 (1964). – [24] Schapira F.: Rev. Franç. études clin. et biol. *10*, 259 (1965). – [25] Vesell E. S., Bearn A. G.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. *94*, 96 (1957). – [26] Wieme R. J.: Clin. Chim. Acta *4*, 317 (1959). – [27] Wieme R. J.: Agar gel electrophoresis. Techniques, Applications. Arscia, Brussels (1959). – [28] Wieme R. J., Herpol J. E.: Nature *194*, 287 (1962). – [29] Wroblewski F., Gregory K. F.: Ann. NY Acad. Sci. *94*, 3 (1961). – [30] Zuppinger K., Richterich R., Rossi E.: Schweiz. med. Wschr. *92*, 169 (1962).


Für die Erlaubnis, die elektrophoretischen Untersuchungen im Medizinisch-chemischen Institut durchzuführen und für die freundliche Hilfe sind wir den Herren Prof. Dr. H. Aebi, PD Dr. R. Richterich und Dr. U. Wiesmann zu größtem Dank verpflichtet.