

Enzimologia Clinica

Gradiente enzimatico

TABLE 22-6 | Transaminase Activities in Human Tissues, Relative to Serum as Unity

	AST	ALT
Heart	7800	450
Liver	7100	2850
Skeletal muscle	5000	300
Kidneys	4500	1200
Pancreas	1400	130
Spleen	700	80
Lungs	500	45
Erythrocytes	15	7
→ Serum	1	1

(Reproduced with permission from King, J.: Practical Clinical Enzymology. London, D. Van Nostrand Co., Ltd., 1965.)

Enzimi nel sangue

- Plasma specifici: procoagulanti (trombina, f XII, f X)
fibrinolitici (plasmina)
- Secreti : lipasi, alfa-amilasi, psa, acp
- Cellulari: LDH, AST, ALP

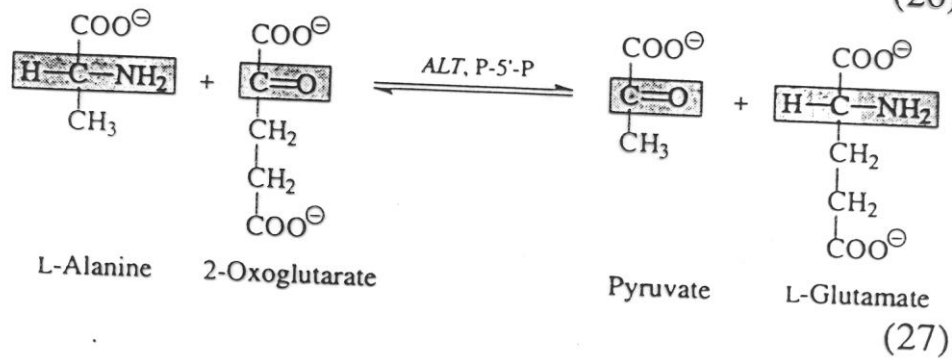
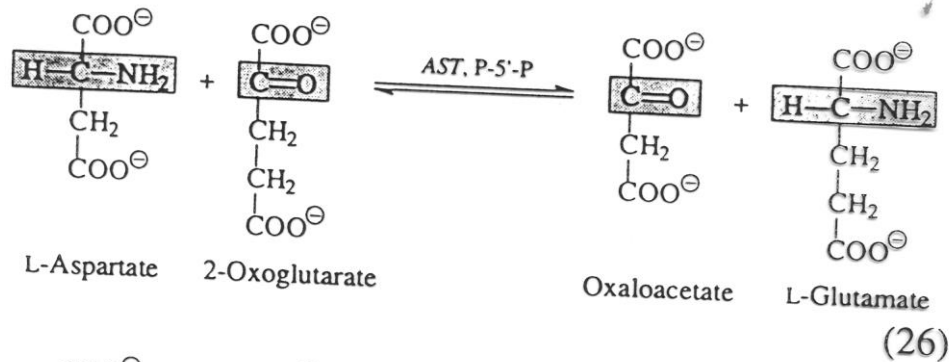
Aumento degli enzimi nel plasma:

1. necrosi o danno cellulare → citolisi → fuoriuscita enzimi (in particolare citosolici)
 - Fattori tossici (chimici ambientali – piombo, mercurio)
 - Ischemia (IMA)
 - Agenti microbiologici
 - Disordini nutrizionali
 - Meccanismi immunitari
2. aumentato turnover cellulare
 - Accrescimento
 - Rigenerazione cellulare
 - Neoplasie
3. Induzione enzimatica
 - Ostruzione dei dotti escretori → enzimi presenti nelle secrezioni esocrine si trovano nel plasma

MARCATORI DI LESIONE

- Sostanze riversate nel sangue che danno informazione sull'organo in cui la lesione si è verificata
- Spesso anche sulla tipologia di lesione
- Spesso anche sull'estensione e gravità del danno
- Se il danno è di membrana escono componenti citoplasmatici integri
- Se il danno è più profondo, con interessamento di lisosomi, perossisomi, mitocondri, si riscontrano molecole più rare marcatrici di necrosi.

Transaminasi attività



Transaminasi (ast alt)

- > **Epatite virale** e altre patologie associate a necrosi epatica
 - > prima dei segni clinici e sintomi di malattie come l'ittero
 - > fino a 100 x rispetto ai v.r. tra il 7° e 12° giorno
- $ALT/AST = < 1$
- Necrosi \longrightarrow ast mitocondriale \longrightarrow $< alt/ast$
- Epatite tossica > fino 20 x
 - Cirrosi > fino 5 x con valori di AST più alti dell'ALT (probabile necrosi)
 - Carcinoma primario o metastatico epatico > fino 10 x
 - Alcol > moderato
 - Infarto > ast con picco dopo 18-24 h e ritorno alla normalità al 4°-5° giorno
 - ast > distrofia muscolare
 - ast > nel siero e nel l.c.s. è indice di danno massivo cerebrale con prognosi negativa, tumori

AST (GOT)

Alte concentrazioni nel muscolo cardiaco, nel muscolo scheletrico, nel fegato, nei reni e nel pancreas.

Interferenti: iniezioni i.m.

emolisi

farmaci (salicilati, antibiotici, contraccettivi ecc...)

valori aumentati nel neonato

nel danno cardiaco raggiungono un picco a 24-36 ore dall'evento, tornano alla norma in 4-6 giorni

elevazione moderata

scompenso cardiaco

cirrosi

metastasi epatiche

malattie muscolari

stati posttraumatici

farmaci

mononucleosi infettiva

estrema (x100)

epatite virale o tossica

ipossia-necrosi epatica

ALT (GPT)

E' presente ad alte concentrazioni nel fegato e concentrazioni più moderate nel rene, miocardio e muscolo.

Interferenti: emolisi, farmaci.

E' specifica per un danno epatico

Conferma l'origine epatica elevati livelli di AST

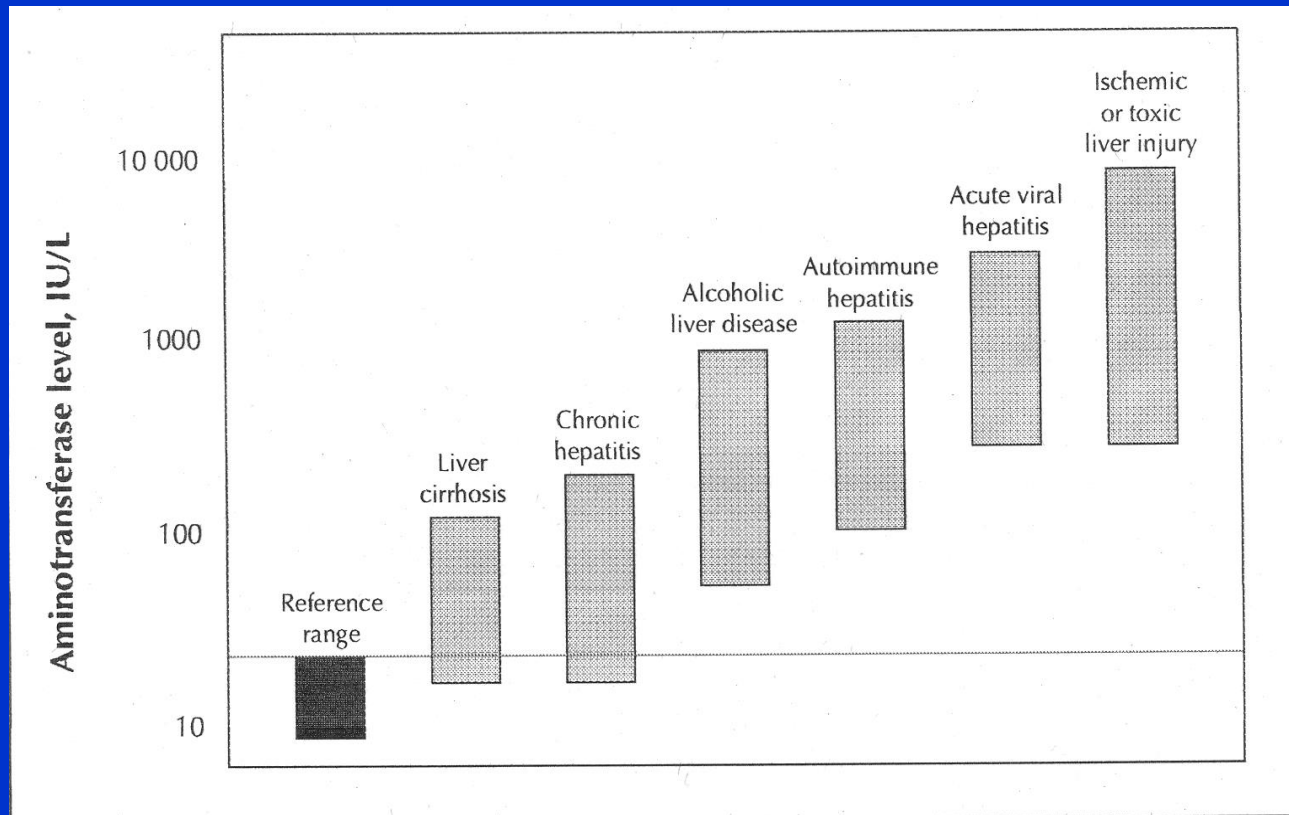
Elevazione moderata

- Cirrosi
- ittero colestatico
- mononucleosi infettiva
- trauma esteso o malattia muscolare

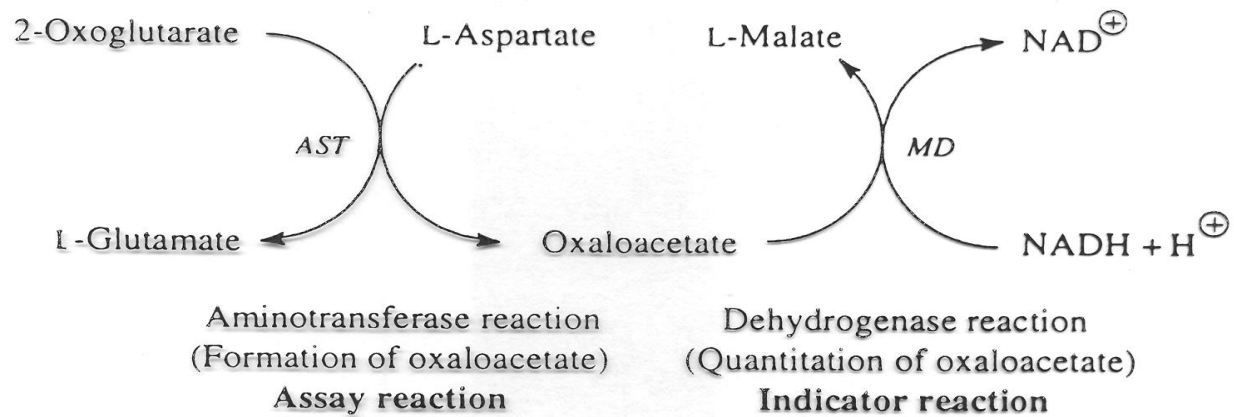
estrema (x100)

**epatite virale
epatite tossica acuta
ipossia**

Transaminasi e funzionalità epatica



AST attività

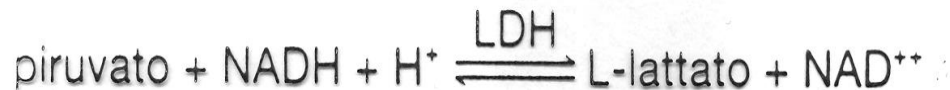


(28)

ALT attività

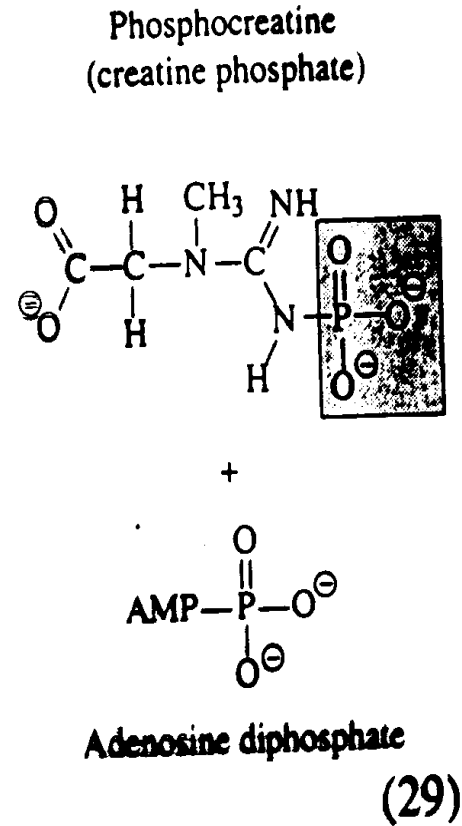
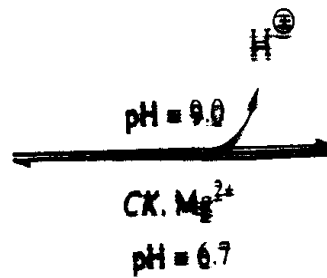
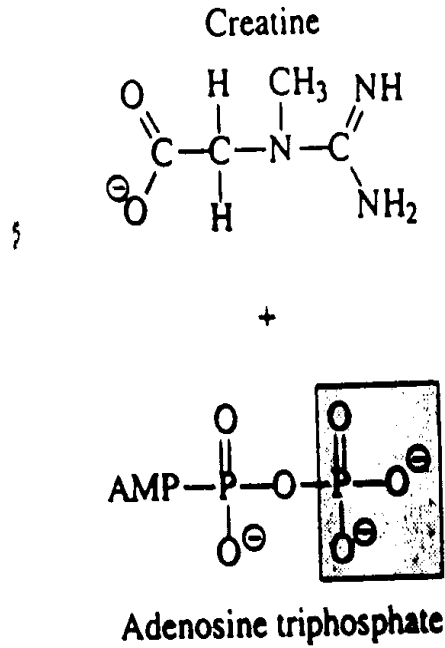


L'enzima ALT catalizza questa reazione di equilibrio: L'aumento di piruvato è determinato dalla reazione indicatrice accoppiata, catalizzata dalla lattato-deidrogenasi.



La NADH è ossidata a NAD. La velocità della riduzione di NADH, misurata fotometricamente, è direttamente proporzionale alla velocità di formazione del piruvato e, di conseguenza, all'attività dell'ALT.

Creatina chinasi



CPK isoforme e distribuzione

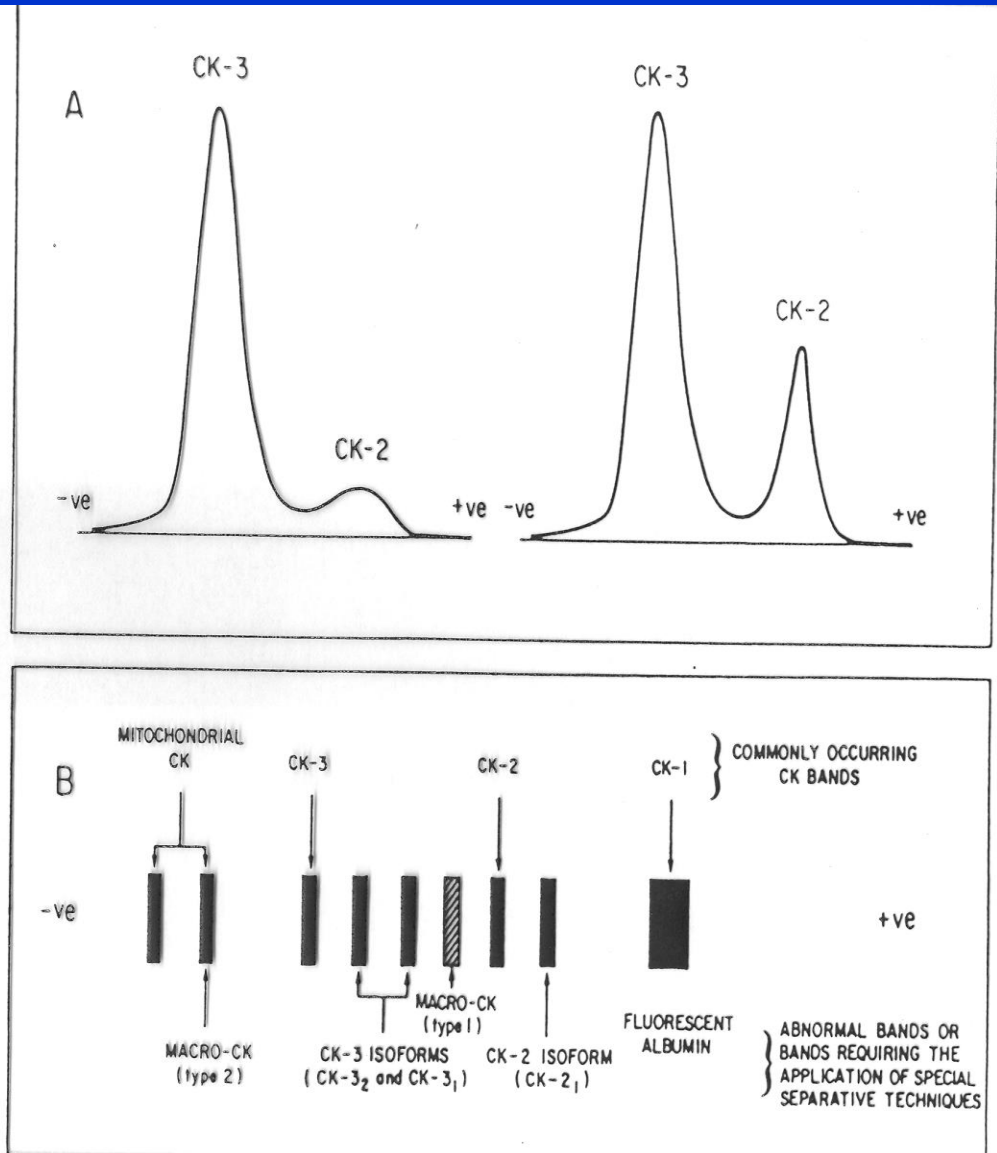
TABLE 22-7 | Creatine Kinase Isoenzyme Patterns of Human Tissues

Tissue	CK Activity (U/g Wet Weight)	CK-3 (TT) (%)	CK-2 (TB) (%)	CK-1 (BB) (%)
Skeletal muscle	2500	98.9	1.1	0.06
Rectus abdominis		98	2	
Pectoralis major		100	0	
Gastrocnemius		100	0	
Brain	555	0	2.7	97.3
Heart	473	78.7	20.0	1.3
Left ventricle		54 ± 6	41 ± 7	
Papillary muscle		52 ± 4	46 ± 5	
Stomach	190	4.3	0	95.7
		10	0	90
Small intestine	112	1.2	0	98.8
		11-13	7-9	78-80
Colon	138	2.1	0	97.8
		3-4	0-1	96
Rectum	267	1.2	0	98.8
Kidney	32	2.8	0	97.2
		8-12	0	88-92
Bladder	145	6.6	0	93.4
		2	6	92
Prostate	114	6	0	94
		34-39	2-6	59-60
Lung		27-72	0-4	18-69
Liver	~1	0	0	100
Uterus	115	2.3	0	97.4
		5-16	2-20	64-93
Placenta		0	0	100
Thyroid		4-26	0-1	73-96

(From Lang, H.: Creatine Kinase Isoenzymes: Pathophysiology and Clinical Application. Berlin, Springer-Verlag, 1981.)

Enzima dimerico costituito da monomeri M o B

FIGURE 22-21. A, The electrophoretic separation of serum CK isoenzymes from a healthy adult (*left*) and from a patient (*right*) who had a myocardial infarction 24 h previously. B, A diagrammatic representation of the CK isoenzymes (some of which are only seen in disease) and of some of the reported anomalous isoenzymes. CK-3₃ and CK-2₂ are the gene products CK-3 and CK-2.



Macro CK può essere presente nei pazienti ospedalizzati, patologie gastrointestinali, tumori e patologie vascolari.

macroenzimi

Table 1. Immunoglobulin-Bound Macroenzymes

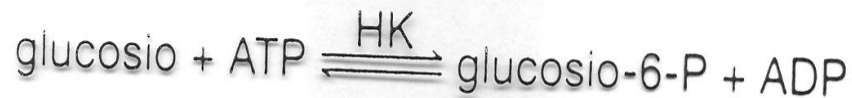
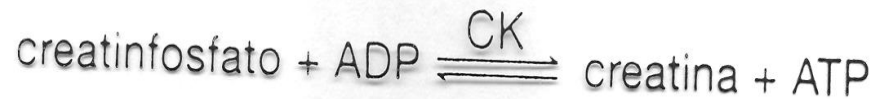
Enzyme	Common Immuno- globulin	Ref. no.
Acid phosphatase (EC 3.1.3.2)	IgG	13, 14
Alanine aminotransferase (EC 2.6.1.2)	IgG	15
Alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1)	IgG	4, 16
Amylase (EC 3.2.1.1)	IgA	1, 6, 8
Aspartate aminotransferase (EC 2.6.1.1)	IgG	17, 18
Creatine kinase (EC 2.7.3.2)	IgG	7, 19, 20
γ -Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2)	IgG	21, 22
Lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27)	IgA	2, 3, 5
Lipase (EC 3.1.1.3)	IgG	23

macroenzimi

Table 2. Non-Immunoglobulin-Bound Macroenzymes

Enzyme	Mechanism	Ref. no.
Amylase (EC 3.2.1.1)	Substrate complex	108, 109
Trypsin (EC 3.4.21.4)	Protease-inhibitor complex	109a
Mitochondrial creatine kinase (EC 2.7.3.2)	Self-polymerization	110, 111
Alkaline phosphatase (EC 3.1.3.1)	Lipid aggregate	112-114
γ-Glutamyltransferase (EC 2.3.2.2)	Lipid aggregate	9, 112, 113
Leucine aminopeptidase (EC 3.4.11.2)	Lipid aggregate	112-114
5'-Nucleotidase (EC 3.1.3.5)	Lipid aggregate	112-114

Cpk attività



La CK è influenzata da: età, sesso, attività fisica, massa magra.

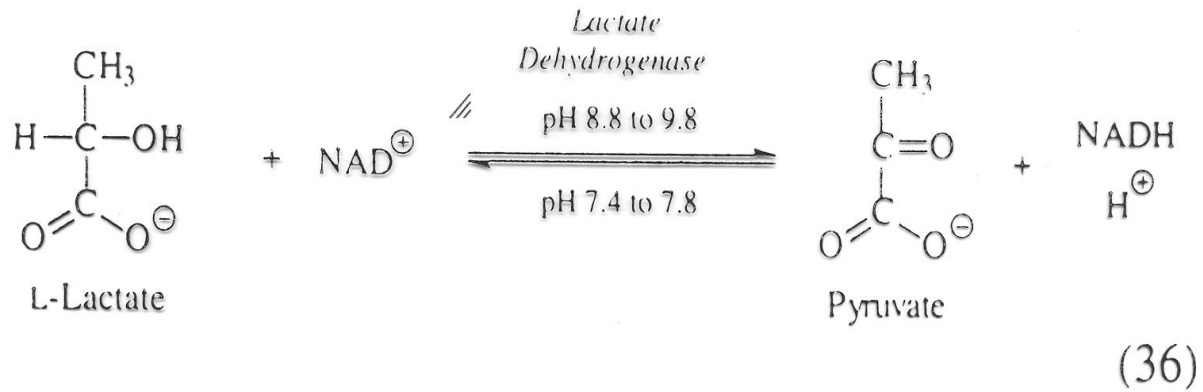
Lattico deidrogenasi

- **LD1 (HHHH; H4)** ————— **muscolo cardiaco, reni ed eritrociti**
- **LD2 (HHHM; H3M)** ————— **muscolo cardiaco, reni ed eritrociti**
- **LD3 (HHMM; H2M2)** ————— **muscolo scheletrico, fegato**
- **LD4 (HMMM; HM3)** ————— **muscolo scheletrico, fegato**
- **LD5 (MMMM; M4)** ————— **muscolo scheletrico, fegato**
- **Macro LD**

- **Emolisi (anemia megaloblastica da deficit di B12 o Folati) > LD1 –LD2**
- **Patologie epatiche (epatiti con ittero), tumori (linfomi, polmone), distrofia muscolare, anossia epatica > LD5**
- **Embolia polmonare >LD3 (per distruzione piastrine)**
- **2-Idrossibutirrato-deidrogenasi (HBDH) —————> LD1-LD2**
alfa-chetobutirrato + NADH + H⁺ ⇌ alfa-idrossibutirrato + NAD⁺

LD nel fluido spinale: > LD4 – LD5 menengite batterica
> LD1 – LD3 menengite virale

LDH attività



Fosfatasi alcalina

ALP

**4 genotipi strutturali: -fegato, ossa, reni
-placenta
-intestinale
-cellule germinali**

valori aumentati in pubertà e in gravidanza (da 1.5 a 2.5 volte)

indice di colestasi (per aumento della sintesi a livello dei dotti biliari interessati)

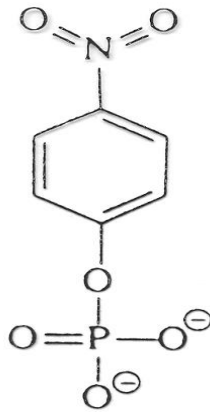
aumento sostenuto nell'ostruzione epatobiliare extraepatica (calcoli, cancro del pancreas) fino a 12 volte

aumento sostenuto nel morbo di Paget (fino a 30 volte), rachitismo, patologie benigne dello scheletro

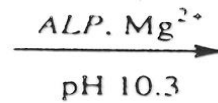
aumento moderato nella cirrosi, epatoma, carcinoma metastatico

ALP attività

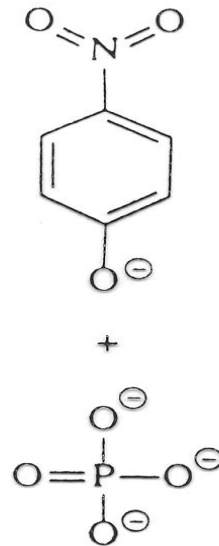
4-Nitrophenyl
phosphate (colorless)



+
H₂O

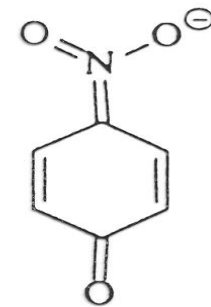


4-Nitrophenoxide
(colorless, benzenoid form)



\rightleftharpoons
Rearranges at
alkaline pH

4-Nitrophenoxide
(yellow, quinonoid form)



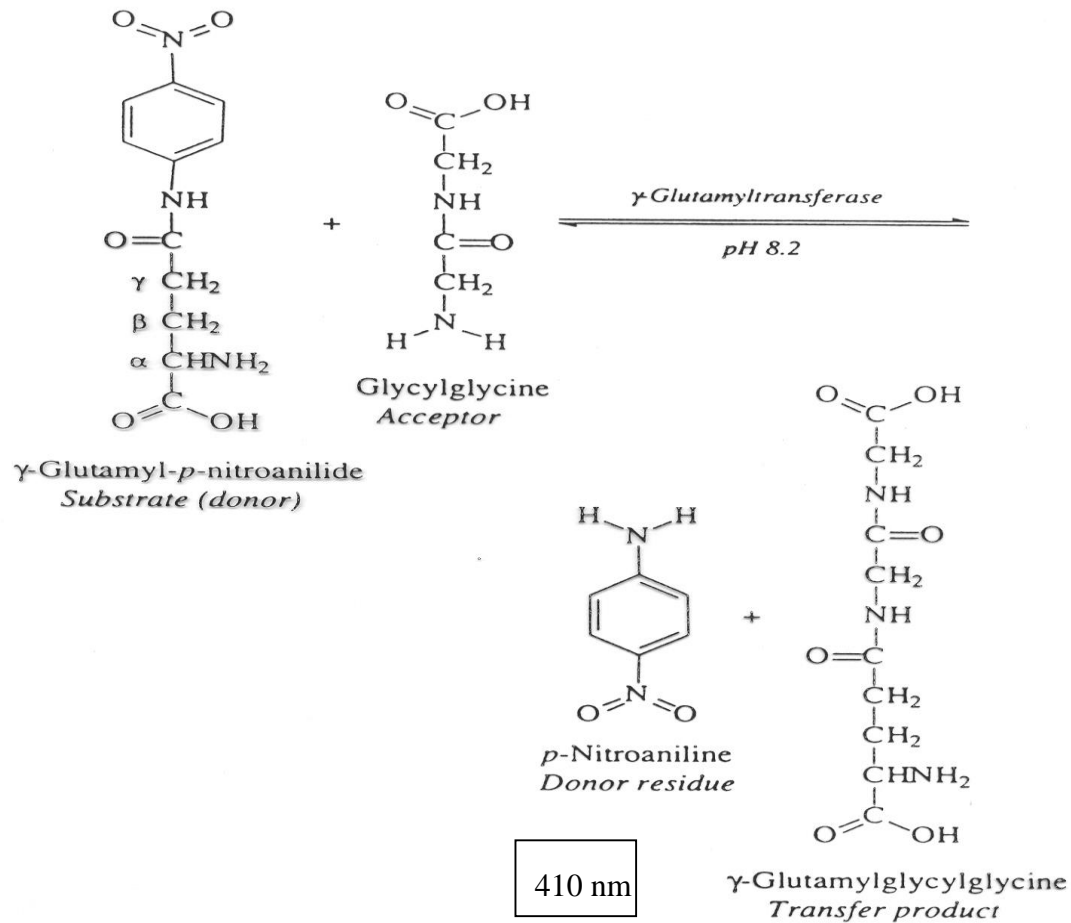
405nm

γ -GT

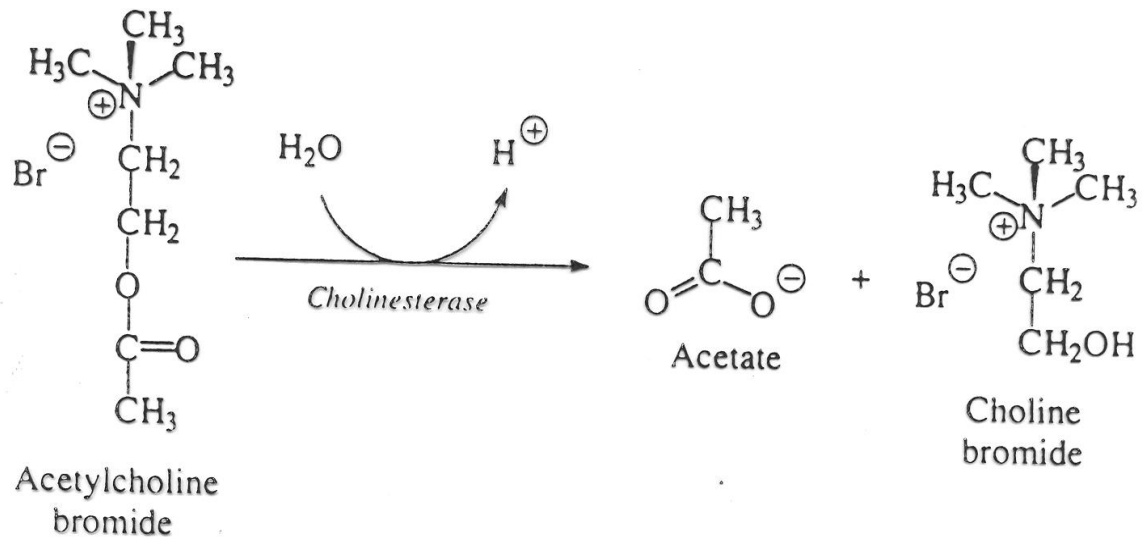
Catalizza il trasferimento di residui di acido glutammico tra peptidi o singoli aminoacidi

- > ostruzione intraepatica o postepatica (fino a 30x v.r.) e più sensibile dell'ALP
- > cirrosi alcolica
- > ittero ostruttivo, tumori, pancreatiti
- > lieve nelle epatiti infettive
- correlazione con alcol (monitoraggio delle terapie di disintossicazione) e farmaci (phenytoin e phenobarbital)
- presente a livello prostatico (> tumore)

γ -GT attività



Colinesterasi



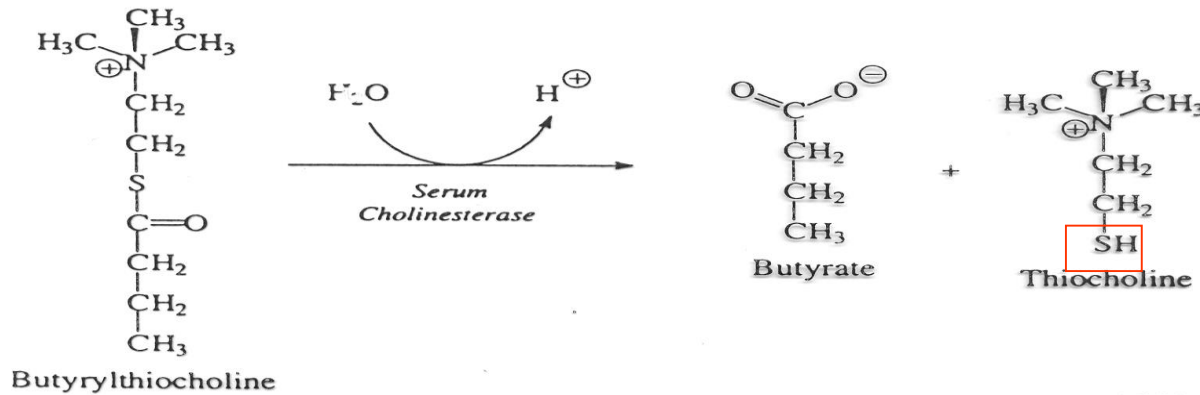
Colinesterasi

- **Colinesterasi** - presente a livello eritrocitario, sostanza grigia, polmone e della milza.

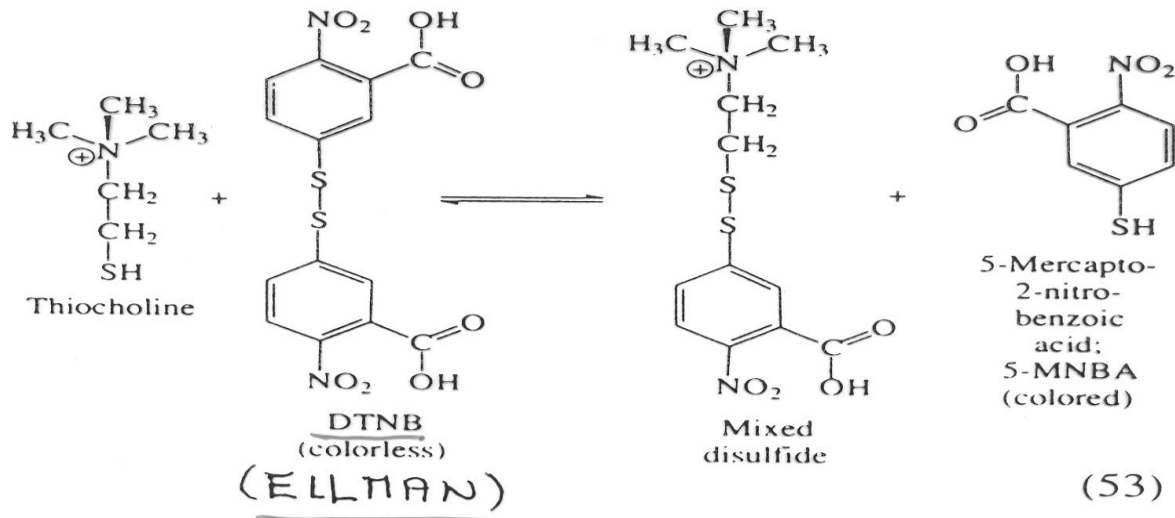
Idrolisi dell'acetilcolina (neurotrasmettitore) rilasciata a livello della sinapsi della placca neuromuscolare

- **Pseudolinesterasi** – presente a livello del fegato, pancreas, cuore, sostanza bianca e siero
funzione sconosciuta
- Esistono numerose varianti genetiche —————> AA (0.5% della popolazione)
Numero di dibucaina espressa come % inibizione (valore alto per i normali)
v.n: 5300-12900 U/L (siero)
v.n: 17 U/L (l.c.s.)
- Funzionalità epatica —————>avvelenamento da insetticidi organofosforici (inibizione attività) per inalazione o per contatto
- > nel l.c.s. per tumori cerebrali, meningiti e sclerosi multipla

Colinesterasi attività



(52)



Amilasi

- **Alfa** (endoamilasi –glicogeno, amilopectina e amiloso) P,S nel siero ed urine
- **Beta** (esoamilasi) piante e batteri

PM. 55 –60 kd → nelle urine è normalmente presente

Totale (siero) v.n: 28-100 U/L

Pancreatica (siero) v.n: 13-53 U/L

Macro (con IgA e IgG)

Clearance relativa : $[\text{amil}(u) \times \text{creat}(s) / \text{amil}(s) \times \text{creat}(u)] \times 100$

v.n: 2-5% (> pancreatite, insuff. renale, mieloma ecc... < nella macro)

- nella pancreatite acuta > dalla 2° alla 12° ora dall'evento
< tra 3° e 4° giorno

Specificità fino al 60 fino %

Cause di iperamilasemia

TABLE 19-5 Causes of Hyperamylasemia

<u>Pancreatic disease</u>	Pancreatitis, any cause (P-AMY↑)* Pancreatic trauma (P-AMY↑)
<u>Intraabdominal diseases other than pancreatitis</u>	Biliary tract disease (P-AMY↑) Intestinal obstruction (P-AMY↑) Mesenteric infarction (P-AMY↑) Perforated peptic ulcer (P-AMY↑) Gastritis, duodenitis (P-AMY↑) Ruptured aortic aneurysm Acute appendicitis Peritonitis Trauma
<u>Genitourinary disease</u>	Ectopic, ruptured tubal pregnancy (S-AMY↑) Salpingitis (S-AMY↑) Ovarian malignancy (S-AMY↑) Renal insufficiency (Mixed)
<u>Miscellaneous</u>	Salivary gland lesions (S-AMY↑) Acute alcoholic abuse (S-AMY↑) Diabetic ketoacidosis (S-AMY↑) Macroamylasemia (Mixed) Septic shock (S-AMY↑) Cardiac surgery (S-AMY↑) Tumors (usually S-AMY↑) Drugs (usually S-AMY↑)

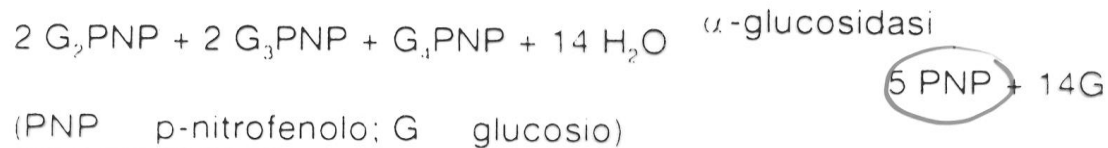
*Predominant isoenzyme type is shown in parentheses: P-AMY, pancreatic; S-AMY, salivary; Mixed, either or both isoenzymes may be present.

Amilasi attività

PREINCUBAZIONE CON ANTICORPI MONOCL. CONTRO LA FORMAS



L'effetto catalitico delle α -amilasi provoca la fissione degli oligosaccaridi definiti quali 4,6-etilidene-(G₇) p-nitrofenil-(G₁)- α ,D-maltoeptasio (etilidene-G₇ PNP). L' α -glucosidasi idrolizza completamente i frammenti ottenuti di G₂PNP, G₃PNP e G₄PNP a p-nitrofenolo e glucosio.



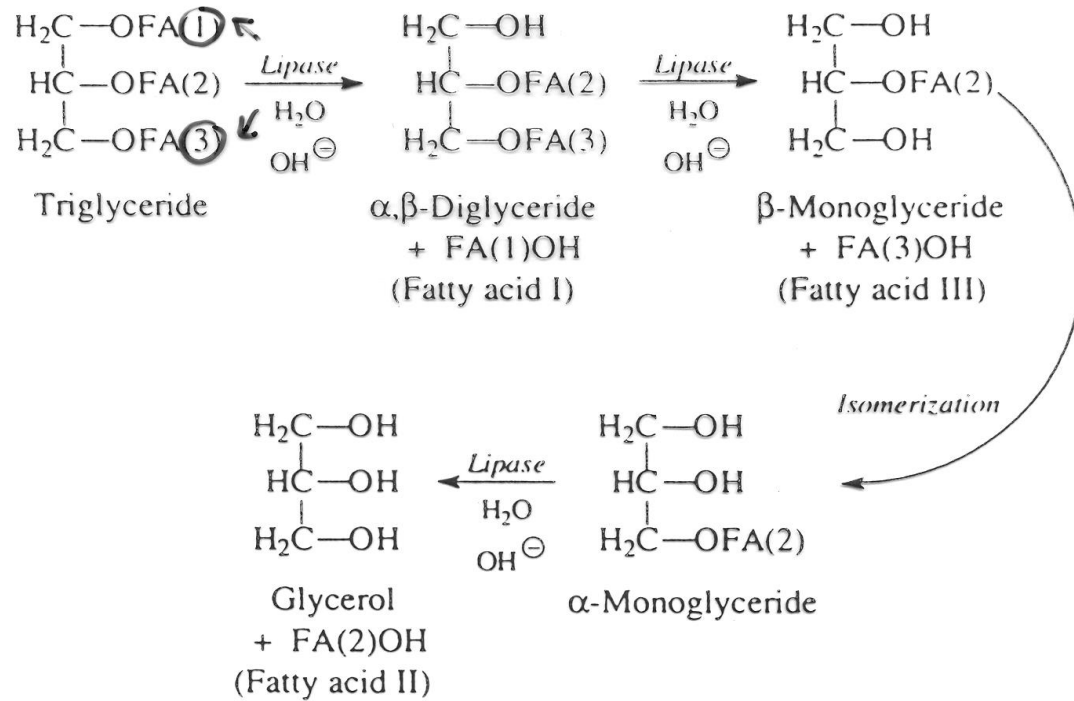
Lipasi

- glicoproteina 54 kd (riassorbita al livello tubulare)
- v.n: 13-60 U/L
- nella pancreatite acuta > dalla 4° alla 8° ora dall'evento con valori da 2x a 50x il valore massimo di riferimento <(nella norma) tra 8° 16° giorno

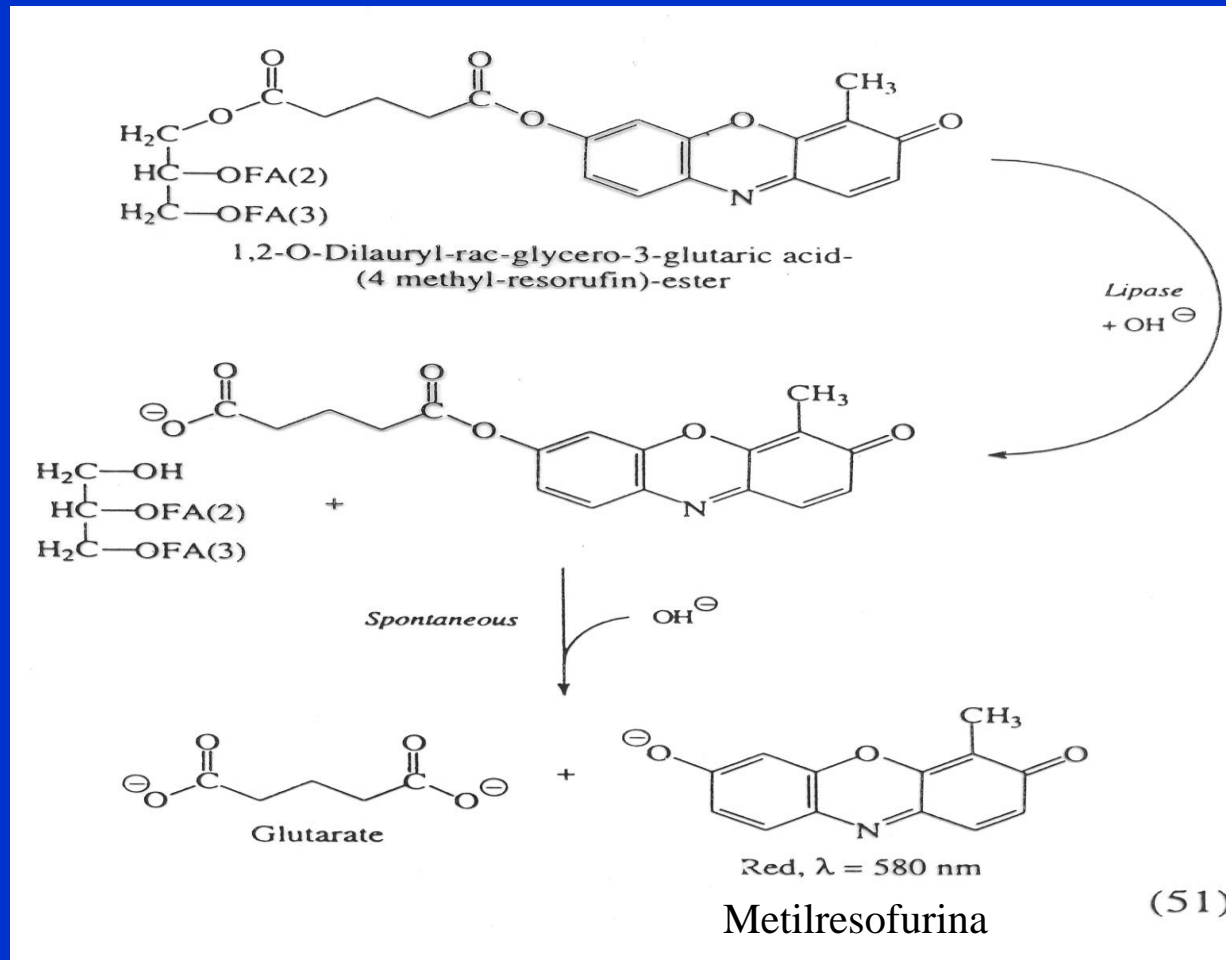
Nel 20% dei pazienti con p.a. si hanno valori normali di amilasi dovuto all'interferenza di iperlipidemia, per cui la necessità di richiedere entrambi gli enzimi

- > nell'ostruzione pancreatica (calcoli, tumori)

Lipasi attività



Lipasi attività



Fosfatasi acida

- isoforme nel siero : eritrociti (emolisi), piastrine, milza, fegato, midollo osseo, reni e prostata. Hanno optimum di pH tra 5 e 6 (lisosomi)
- > nella crescita (rimodellamento osseo)
- > carcinoma della prostata (60% dei casi)
- Valori normali nell'ipertrofia benigna anche dopo manipolazione
- > moderato: nel morbo di Paget, iperparatiroidismo con interessamento osseo, metastasi ossee dal cancro del seno
- > Osteoporosi → (attività osteoclastica)
- Alte concentrazioni nel liquido seminale (medicina legale)
- Totale v.n: < 6.5 U/L m. e f.
- Prostatica v.n: < 3.5 U/L



1-naftolo + diazo reagente → composto azotato colorato
(sodio tartrato come inibitore della forma prostatica)

