**КЛИНИЧКИ (ДИЈАГНОСТИЧКИ) ЗНАЧАЈНИ ЕНЗИМИ**

* Функционални и нефункционалниензимикрвнеплазме.
* Серум и плазма.
* Чиниоци (фактори) којидоприносеповећањуактивностиензима у серуму.
* Клиничкизначајниензими.

Ензими су по хемијској структури протеини који катализују (убрзавају) биохемјиске реакције у људском организму и по месту деловања се деле на две велике групе:

1. **Функционалне** ензиме крвне плазме
2. **Нефункционалне** ензиме крвне плазме (дијагностички ензими)

Прву групу **функционалних ензима**чине ензими који се синтетишу у јетри,секретују у крв где су присутни њихови супстрати на које делују и тако катализују реакције и обављају своју физиолошку функцију у плазми. Функционални ензими крвне плазме немају дијагностички значај. У ову групу ензима спадају:

* Ензими коагулације крви,
* Липопротеинска липаза,
* Псеудохолин-естераза и
* Холестерол лецитин ацил трансфераза (LCAT).

**Нефункционални ензими** крвне плазмеили дијагностички значајни ензими своје физиолошко дејство у организму остварују примарно интрацелуларно где су и присутни њихови супстрати. Они немају своју физиолошку улогу у плазми, јер у плазми нису присутни њихови супстрати, тако да њихове вредности у плазми код здравих људи су готово сталне и одражавају равнотежно стање ћелијског *turnover-a.* Повишене вредности ових ензима у крвној плазми могу да укажу на оштећење ткива (ћелија) у којима делују.

По пореклу нефункционални ензими се деле на:

* **Ћелијске или интрацелуларне** ензимекоји сесинтетишу у ћелијама и највећидеоњихкатализујебиохемијскереакције у ћелијама(лактат-дехидрогеназа, креатин-киназа, алкална фосфатаза, аспартат-аминотрансфераза, аланин-аминотрансфераза итд.)
* **Ензими егзокриних секрета**(нпр. панкреасниензими) сеизлучујуизћелија и делују у екстрацелуларнојтечности (гастроинтесталнитракт-ГИТ и крв).

1. Делују у ГИТ ( панкреаснаамилаза, панкреасна липаза, пепсин, трипсинкисела фосфатаза итд.).Њиховаактивност у серумусеповећавазбогоштећењаћелија у којимасеензимисинтетишуилисесмањујезбогфункционалногоштећењаоргана
2. Делују у крвнојплазми( холинестераза, факториколагулације ). Њиховаактивност у серумусесмањујезбогфункционалнеинсуфицијенцијеизазванеоштећењемћелија

**Плазма и серум:**

**Плазма ј**е течан део крви који се добија када приликом вађења крви пацијенту, у епрувету у коју се вади крв, **додамо антикоагулантно средство**. После стајања и центрифугирања крви издваја се плазма – течни део крви, на дну епрувете, као талог издвајају се формирани крвни елементи тј. крвне ћелије: еритроцити, леукоцити и тромбоцити. од протеина плазма има албумине, глобулине и фибриноген.

**Серум** се добија када после вађења крви пацијенту, оставимо крв у епрувети (у епрувету се претходно не додаје никакво средство) да стоји 15 до 20 минута на 37°C, тиме допустимо да се процес коагулације одигра и након тога крв центрифугирамо. После центрифугирања долази, такође, до издвајања течног дела – то је серум и чврстог дела, талога – коагулум и крвне ћелије. Од протеина у серуму су присутни само албумини и глобулини (фибриноген је потрошен приликом формирања коагулума).

**Чиниоци (фактори) којидоприносеповећањуприсуства и активностиензима у серуму**

**Присуство**ензима у екстрацелуларној течности (крвној плазми) може бити као резултат:  
• Уласка дијагностичких ензима у крв из изумрлих ћелија као последица

патолошких промена у организму  
• Деградације и излучивања ензима из организма

* Обнове тј. Пролиферације ћелија

**Повишена активност** ензима у крви може бити као последица:

* Појачане синтезе ензима
* Активација ензима у крви
* Поремећаја пропусности ћелијске мембране
* Некрозе ћелија – оштећеног ткива
* Сметње у секрецији
* Сметње у елиминацији ензима из циркулације

**Клиничка ензимологија**

**Изоензими**

Изоензими су каталитички протеини (ензими) који имају исти супстрат и катализују исту биохемијску реакцију, али се разликују по примарној структури, физичко-хемијским карактеристикама, кинетичким особинама и органима у којима делују.

У клиничкој ензимологији као дијагностички параметри за дијагнозу, праћење тока и прогнозу болести, као и одговор организма на терапију могу се користити:

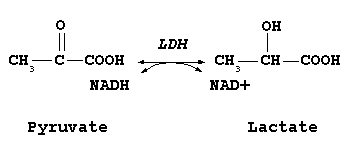
* **промене нивоа активности ензима у плазми** - ниво специфичне активности ензима корелира са величином насталог ткивног оштећења; поједини ензими показују високе вредности само при оштећењу неких ткива – напр. ALT код оштећења јетре.
* **присуство појединих изоензимау плазми** – вредности различитих облика једног истог ензима се могу разликовати код оштећења једног органа - нпр. CK (изоензим CK-MB) и LDH (изоензим LDH1иLDH2) имају повишене вредности у плазми код оштећења миокарда.

Најважнији клинички ензими чија се активност одређује у крвној плазми у циљу постављања дијагнозе су :лактат дехидрогенaзa (LDH), трансаминaзе (AST i ALT), креатинкиназa (CK), γ-глутамилтрансферaзa (γ-GT), α - амилaзa, липазaалкалнaфосфaтaзa (ALP),киселафосфатaзa (ACP), холинестeразa (Che), трипсиналдолазa





**LDH – ЛАКТАТ ДЕХИДРОГЕНАЗА**

Учествује у процесу гликолитичког разлагања угљених хидрата. Катализује превођење (редукцију) пирогрожћане киселине (пирувата) у млечну киселину (лактат) и обрнуто, оксидацију лактата у пируват,у анаеробним путевимагликолизе.

**Лактат**

**Пируват**

LDHје присутан у свим ћелијама људског организма, а његове високе концентрације присутне су у мишићима, еритроцитима, јетри, плућима, мозгу, бубрезима.Повећане вредности овог ензима у плазми знак је оштећања ћелија, уопштено. Активна форма овог ензима је тетрамер коју чине 4 субјединице- сваки мономер у тетрамеру заузима идентичан положај исваки мономер има активно место. Постоје два типа субјединица LDH - то су М и H субјединице. М потиче од *muscle,* а H од *hearth*. Комбинацијом М и Н субјединица у тетрамер и образовањем активне форме овог ензима може настати пет изоензима: H4 ,H3M1, H2M2, HM3 и M4 или LDH1,LDH2, LDH3, LDH4 и LDH5 . Однос ових изоензима у ткивима је различит и зависи од типа метаболочких процеса:

* H4 - LDH1 - срчани мишић
* H3M1 – LDH2 - срчани мишић
* H2M2 – LDH3 - сва ткива (плућа)
* HM3 – LDH4 – бубрези, плацента, панкреас
* M4 – LDH5 - јетра и скелетни мишићи

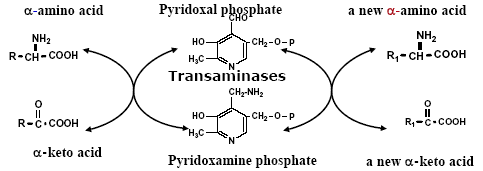
Познато је да пирогрожђана киселина инхибира активност LDH и то оних облика који садрже H субјединице. LDH је стабилан ензим и може да се 30 минута загрева на 65° C и да не изгуби своју активност. Пируват и лактат у вишку инхибирају овај ензим.

Одређивање активности LDH у серуму се користи у великој мери у свакодневној клиничкој пракси. Повишене вредности се могу наћи код различитих болести: инфаркта миокарда, пернициозне анемије, леукоза, акутне пнеумоније, хемолитичких болести, обољења јетре, оштећења мишића.

Вредности LDH су повишене у серуму код **инфаркта миокарда** након неколико часова а максимум достижу после 36-48 часова. Вредности могу бити 10 до 15 пута веће од нормалних. Нормализовање се очекује 7-12 дана после инфаркта. Из тог разлога се користи за касну дијагнозу инфаркта, и то 2-4 дана од појаве болова. Код инфаркта миокарда повишене су вредности изоензима LDH1 и делимично LDH2 - однос LDH1 / LDH2 код инфаркта је увек већи од 1 (у серуму здравих је увек мањи од 1). Код **акутног и хроничног оштећења јетриног паренхима** вредности овог ензима су такође повишене и прате клиничку слику болести – жутицу и увећање јетре. Услед оштећења јетре повећавају се вредности LDH4 и LDH5 , а смањују се вредности LDH1 и LDH2. Код **болести хематопоезног ткива**, из разорених мегалобласта ослобађају се LDH1и LDH2, што је праћено порастом ових изоензима у плазми оболелих. За **плућно ткиво** типичан је изомер LDH3 али обзиром да су оштећења плућа праћена хипоксијом често су увећане фракције LDH4 и LDH5 . Повећање овог ензима код малигних болести је неспецифично - налази се код многих карцинома и то код карцинома јетре, нон- Хочкиновог лимфома, акутне леукемије, семинома тестиса, неуробластома, тумора колона, дојке, плућа. Ниво активностиLDH је у корелацији са масом тумора код чврстих тумора и има прогностички значај при праћању прогреса обољења. Значај праћења уLDH праћењу терапијског учинка је мали. Анализа изоензима такође не доприноси значајној орган специфичности - повишене вредности LDH5 се налазе код метастаза на јетри, али и у ликвору кад указује на метастазе карцинома ЦНС-а.

**ТРАНСАМИНАЗЕ (АST и ALT)**

Трансаминазе спадају у класу трансфераза, омогућавају пренос амино група са амино киселина на α- кето киселине. Важне су за синтезу неесенцијалних амонокиселина, а новонастале кето-киселине могу да се укључе у глуконеогенезу у хепатоцитима. Дијагностички значајни ензими из ове класе су АST (аспартат : оксалацетат амино трансфераза) и ALT (аланин : пируват аминотрансфераза) - њихово одређивање се користи при испитивању функције јетре и при постављању дијагнозе инфаркта миокарда. У случајунекрозехепатоцитааминотрансферазепрелазеу крв и затосемогусматративрлоосетљивиминдексомнекрозејетринихћелија, односно, специфичнимпараметромхепатоцелуларногоштећења, али  
њихове вредности не корелирају са исходом болести. Пад активности ових ензима може да указује и на опоравак од болести и лошу прогнозу болести.



амино киселина

нова

амино киселина

Пиридоксал фосфат

**Трансаминазе**

-кетокиселина

Пиридоксаминфосфат

нова

-кетокиселина

АST/GOT катализује реакцију:

Аспартат + α-кетоглутарат ↔ оксалсирћетна киселина + глутамат

преноси се амино група са аспартата као донора на α-кетоглутарат као акцептора и при томе настаје оксалсирћетна киселина (од аспартата) и глутамат (настаје примањем амино групе на α-кетоглутарат).

ALT/GPT катализује реакцију: Аланин + α-кетоглутарат ↔ пируват + глутамат.

Реакције су повратне па у зависности од супстрата називи могу да буду и GOT(глутамат-оксалацетат трансаминаза) заAST и GPT(глутамат-пируват трансаминаза)за ALT. Јетра, миокард, бубрези, скелетни мишићи садрже ове ензиме у већој количини него други органи. Нема их у урину. Вредности AST у хуманом организму су увек веће него вредности ALT.Одређивање активности ових ензима има највећи дијагностички значај **код инфаркта миокарда** и **код оштећења јетре**. Поред укупне количине прати се и однос ове 2 трансаминазе који је познат као DeRitis коефицијент – вредност овог коефицијента је код здравих и код инфаркта миокарда већи од 1 док је код хепатитиса мањи од 1.

**ALT је ензим специфичан за јетру**, иако се налази и у другим органима; усрчаном и скелектниммишићима,бубрезима, мање у панкреасу, еритроцитима и другимткивима. Због своје цитоплазматске локализације у хепатоцитима, ALTизлази у екстрацелуларну течност и при малим оштећењима ћелије. Тек уколико дође до оштећења митохондрија хепатоцита долази и до отпуштања АST из јетре. Вредност трансаминаза су повишене код акутних облика оштећења јетре, као што су акутни вирусни хепатитис при чему је вредност ALT>АST, док код хроничних оштећења активност трансаминаза је умерено повишена и вредност АST>ALT. Диференцијално-дијагностички може да се користи Шмидт-ов коефицијент који представља однос (АST+ ALT)/GDH. Код акутних форми повишене су вредности трансаминаза док је вредност глутамат- дехидрогеназе незнатно измењена па је вредност овог коефицијента велика, а код хроничних оштећања и карцинома је обрнуто. Испитивање активности **АST је значајна при постављању дијагнозе инфаркта миокарда**као касни маркер ИМ чији пораст активности у плазми се јавља 6-12 сати по појави бола, максимум достиже између 24-48 сати, а повишене вредности се одржавају 4-7 дана .

**КРЕАТИН КИНАЗА (CK)**

Креатин киназа, ензим који је познат и као креатин - фосфо киназа (**CPK**), катализује конверзију креатина у фосфо-креатин, при чему се ATP користи као донор фосфатне групе. Ензим катализује и реакцију у супротном смеру, па омогућава брзо добијање тј. обнављање ATP из ADP и фосфо-креатина:

**ATP + кreatin ↔ ADP + kreatin-fosfat**

Овај ензим је од великог значаја за нервно и мишићно ткиво јер је креатин-фосфат макроенергетско једињењекоје се под дејством CK преводи у ATP, који се у ћелијама користи као извор енергије. Ово се посебно односи на скелетне мишиће, али и на мозак и глатке мишиће, којима фосфо-креатин служи као енергетски резервоар за брзо обнављање ATP-а. Клинички значај овог ензима је тај што се може користити као маркер инфаркта миокарда, рабдомиолизе (разлагања влакана скелетних мишића), и акутне бубрежне инсуфицијенције.

ензим је изграђен од две субјединице – B (brain) и M (muscle) – тако да постоје 3 изоензима: CK-MM, CK-MB и CK-BB. Изоензими су присутни у различитим количинама у ткивима. CK-BB је присутан искључиво у нервном ткиву, тако да његов ниво ретко има значајних промена у плазми; има мали клинички значај. За скелетне мишиће је карактеристичан CK-MM изомер (98%), и низак ниво CK-MB (1%). Миокард пак показује већу експресију CK-MB (70%) док је CK-MM присутан у 30%. CK се обично рутински одређује код ургентних стања и то посебно код бола у грудима и акутног реналног застоја. Нормалне вредности су 25-200 U/L. Код инфаркта миокарда одређивање нивоаCK има велики значај јер пораст нивоа овог ензима се јавља пре других ензима - и то у првих 3-6 часова од појаве бола. Нарочито је специфичан и осетљив маркер CK-MB. Одрећивање нивоа укупног CK и CK-MB је значајно за рано постављање дијагнозе инфаркта миокарда, реинфаркта миокарда као и за процену ткивног оштећења. Као још један специфичан маркер код инфаркта миокарда уместо CK-MB може да се користи и одређивање тропонина. Веома високе вредности CK се јављају у серуму мушких беба које имају позитивну породичну анамнезу мишићне дистрофије а не испољавају знаке болести - из тог разлога се одређивање CK користи за рано постављање дијагнозе Дишенове мишићне дистрофије. Ниске вредности овог ензима су присутне код алкохолног оштењћења јетре и реуматидног артритиса. Пораст активности овог ензима у амнионској течности указује на оштећење плода.

**γ-GLUTAMIL-TRANSFERAZA**

**(AMINOACIL GLUTAMILTRANSFERAZA EC 2.3.2.3.)**

Овај ензим катализује пренос γ глутамил групе са пептида даваоца на пептид примаоца – реакција транспептидације. Природни супстрат за овај ензим у процесу транспептидације је глутатион. Биолошка функција овог ензима је у регулацији количине глутатиона - синтеза глутатиона зависи од количине цистеина у ћелијама који једино у јетри може да се ствара при метаболизму метионина, док остала ткива зависе од егзогених извора или добијају ову аминокиселину катаболизмом сопствених протеина. У физиолошким условима глутатиона највише има у хепатоцитима. Друга важна улога овог ензима је у метаболизму неких ксенобиотика. Повећане вредности γ-glutamil-transferazе се очекују код болести јетре и жучних путева. Један је од маркера патогномичних за синдром холестазе. Код болести костију вредности овог ензима су нормалне. Највећи пораст серумске γ-glutamil-transferazе се среће код карцинома јетре, као и код метастаза на јетри. У физиолошком условима вредности овог ензима се крећу 2-30 U/L код мушкараца и 1-2 U/L код жена. Повећане вредности овог ензима у урину се могу очекивати код бубрежних оштећења а повећане вредности у амнионској течности указују на конгениталне аномалије плода.

**АЛКАЛНА ФОСФАТАЗА**

**(Ortofosfat – monoestarfosfohidrolaza, EC 3.1.3.1.)**

Алкална фосфатаза je неспeцифична фосфомоноестераза која у базној средини (8,9 -10,5-оптимални pH) уз учешће молекула воде разлаже моноестре фосфорне киселине, уз ослобађање неорганског фосфата. У ткивима сисара најзаступљенија је у проксималним тубулима бубрега, у слузници интестинума, у остеобластима, плаценти, секретујућим ћелијама млечне жлезде и жучним каналићима. Серум здравих особа углавном садржи алкалну фосфатазу која потиче из јетре и костију. У серуму здравих гравидних жена измећу XVI-XX недеље трудноће појављује се изоензим алкалне фосфатазе из плаценте, која се прогресивно повећава током трудноће а ишчезава после 3-6 дана по одлубљивању плаценте. Највећи значај одређивања алкалне фосфатазе у серуму је код обољења костију: рахитиса, остеомалације, остеодистрофије, примарног и секундарног хиперпаратиреодизма као и код обољења јетре: синдром холестазе, билијарна цироза јетре, опструктивна жутица.

**КИСЕЛА ФОСФАТАЗА (Ortofosfat – monoestarfosfohidrolaza, sa kiselim optimumomEC 3.1.3.2.)**

За разлику од алкалне фосфатазе овај ензим захтева киселу средину. Налази се у лизозомима секреторних епителијалних ћелија. Овај ензим је присутан у свим ткивима човека а знатну активност испољава у костима, јетри, бубрезима, простати, плућима, мишићима... Највећи клинички значај одређивања овог ензима је код постављања и праћења успеха терапије карцинома простате са метастазама на костима. Простатична кисела фосфатаза са pH оптимумом 5-6 се од других фосфатаза разликује применом тартарата који изразито инхибира простатични ензим. Као туморски маркер је у употреби од 1938, када је употребљена за скрининг карцинома простате. Повишени ниво простатичне киселе фосфатазе у серуму се налази и код остеогеног саркома, мултиплог мијелома, метастаза на костима, али и код бенигне хиперплазије простате, остеопорозе и хиперпаратиреодизма. Одлика киселе фосфатазе је да се јавља у повишеним вредностима код обољења костију код којих постоје остеокластични поремећаји, за разлику од алкалне фосфатазе која се повећава код обољења која захватају остеобластни апарат.

ЛИТЕРАТУРА

1. [www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)
2. Color atlas of Biochemistry 2005, 2nd edition, J. Koolman
3. Harper’s illustrated Biochemistry , 2003 year
4. HarperovailustrovanaBiohemija god 1992