

ENZIMI OD KLINIČKOG ZNAČAJA

13.II.2018.

Dijagnostički značaj enzimske analize

- **Detekcija enzimske deficijencije u ćeliji**
 - Urođene greške metabolizma
 - Stečene deficijencije
 - Kod deficijencije vitamina
 - Kod trovanja (trovanje organofosfatnim jedinjenjima holinesteraza)
- **Detekcija oštećenja tkiva merenjem ekstracelularnih enzima u raznim telesnim tečnostima**
 - Serum, plazma, urin, likvor itd

Enzimi su plazmatski markeri oštećenog tkiva

Ciljevi određivanja enzimske aktivnosti u plazmi

1. Utvrditi oštećenje tkiva
2. Identifikovati organ iz koga potiče oštećenje
3. Utvrditi koliki je opseg oštećenja u tkivu
4. Dijagnostikovati osnovne bolesti
5. Uspoređivati aktivnosti enzima
6. Utvrditi prisutnost izoenzima

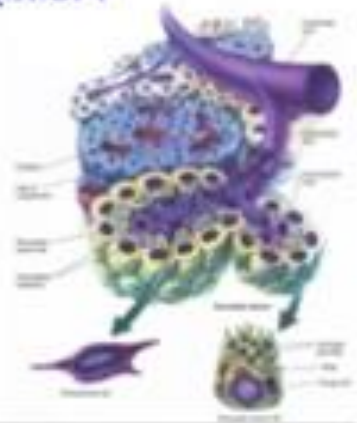
1. Sekretorni enzimi

A. Inkretorni enzimi ili enzimi unutrašnjeg lučenja

- Sintetišu se na endoplazmatičnom retikulumu hepatocita i izlučuju u krv gde ostvaruju svoju funkciju
 - Faktori koagulacije
 - Holinesteraza
 - Ceruloplazmin
 - Lipoproteinska lipaza

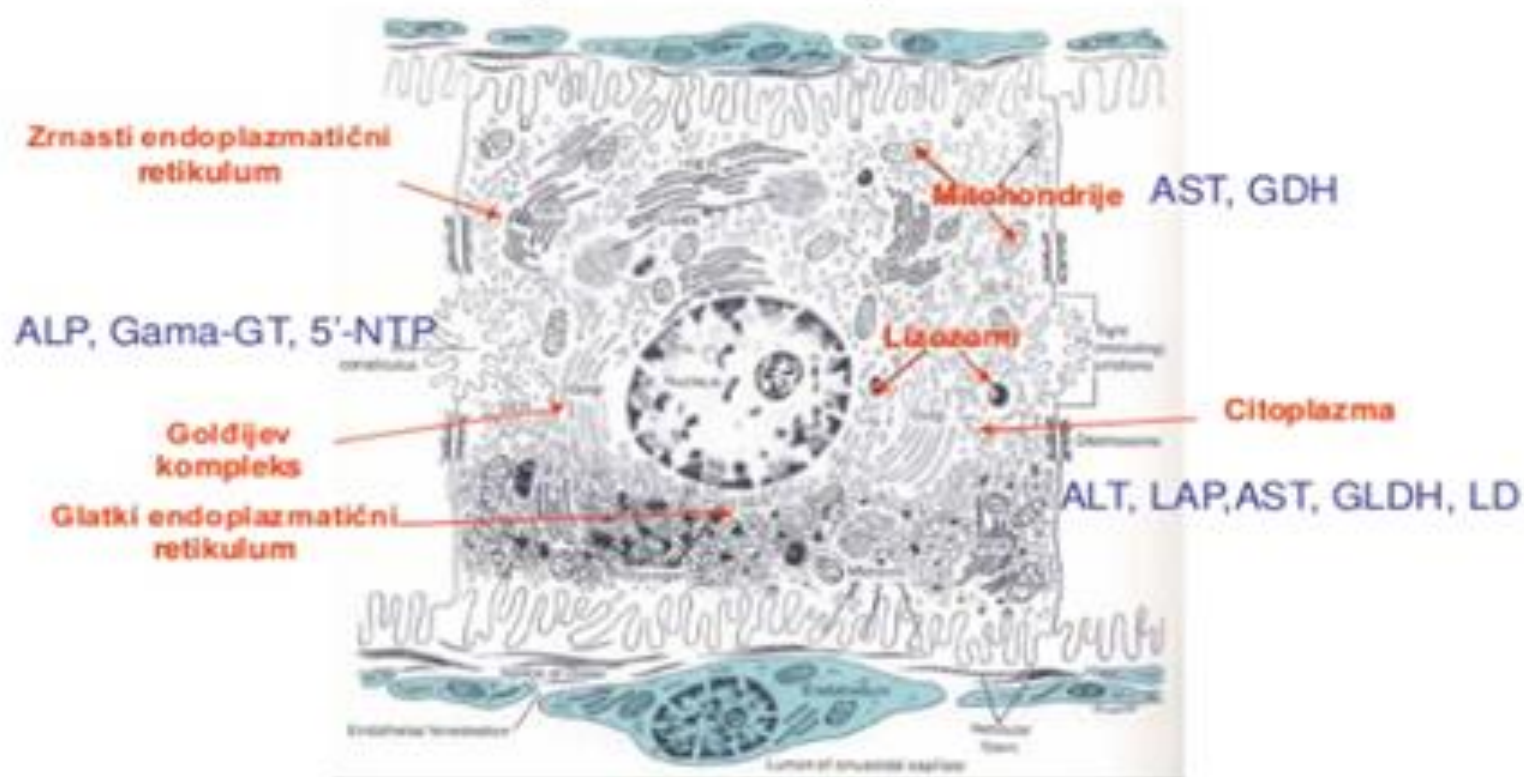
B. Ekskretorni enzimi

- Sintetišu se u fundusu želuca, acinusnom delu pankreasa i sluznici creva
 - Pepsinogen
 - Amilaza
 - Tripsinogen
 - Himotripsinogen
 - Karboksipeptidaza



2. Intracelularni enzimi

Lokalizacija enzima u hepatocitima



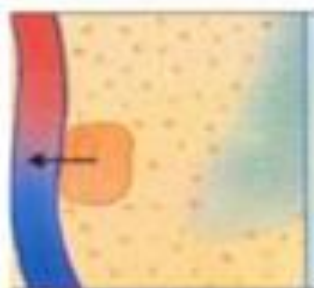
Efluks enzima iz oštećenih ćelija u cirkulaciju

- Kada se jednom uspostave uslovi za izlazak enzima iz oštećenih ćelija brzina i količina enzima koja prelazi u cirkulaciju zavisi od više faktora:
- Koncentracioni gradijent
- Difuzija
 - Brže izlaze male molekule

- *Prelaz enzima iz eritrocita i endotelnih ćelija u krv*
Vrlo brz
- *Prelaz iz intersticijalnog prostora u cirkulaciju:*
 1. **Direktan kroz zidove kapilara**
velika permeabilnost kapilara
jetra, delimično i u srcu
 2. **Putem limfne drenaže**
manja permeabilnost kapilara
GIT, pankreas, srce

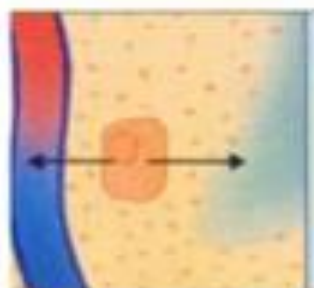
Efluks enzima iz oštećenih ćelija u cirkulaciju

Putevi ulaska enzima u cirkulaciju



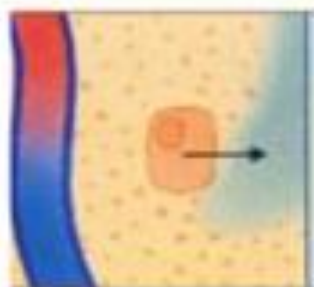
Vrlo permeabilna
Bazalna membrana
Ćelije blizu kapilara

Direktno u krv



Semi-permeabilna
Bazalna membrana
Ćelije dalje od kapilara

Delimično ili potpuno
putem limfe



Nepermeabilna
Bazalna membrana
Ćelije daleko od kapilara

Putem limfe obavezno
Limfna drenaža

Efluks enzima iz oštećenih ćelija u cirkulaciju

- **Uticaj intracelularne lokacije enzima na efluks enzima**
- **Oslobađanje membranskih enzima**
 - Disocijacija ili degradacija
- **Oslobađanje enzima vezanih za organele**
 - Mitohondrijalni enzimi
 - Teže oslobađanje
 - Ireverzibilno razgradnja ćelije

Primeri

1. Infarkta miokarda

Nekroza tkiva

24 sata posle IM enzimski profil u cirkulaciji odražava profil u tkivu miokarda

2. Hronične bolesti jetre

Uticao sinteze enzima i brzine uklanjanja iz cirkulacije

GGT - ektoenzim

Eliminacija enzima iz cirkulacije

Klirens enzima putem:

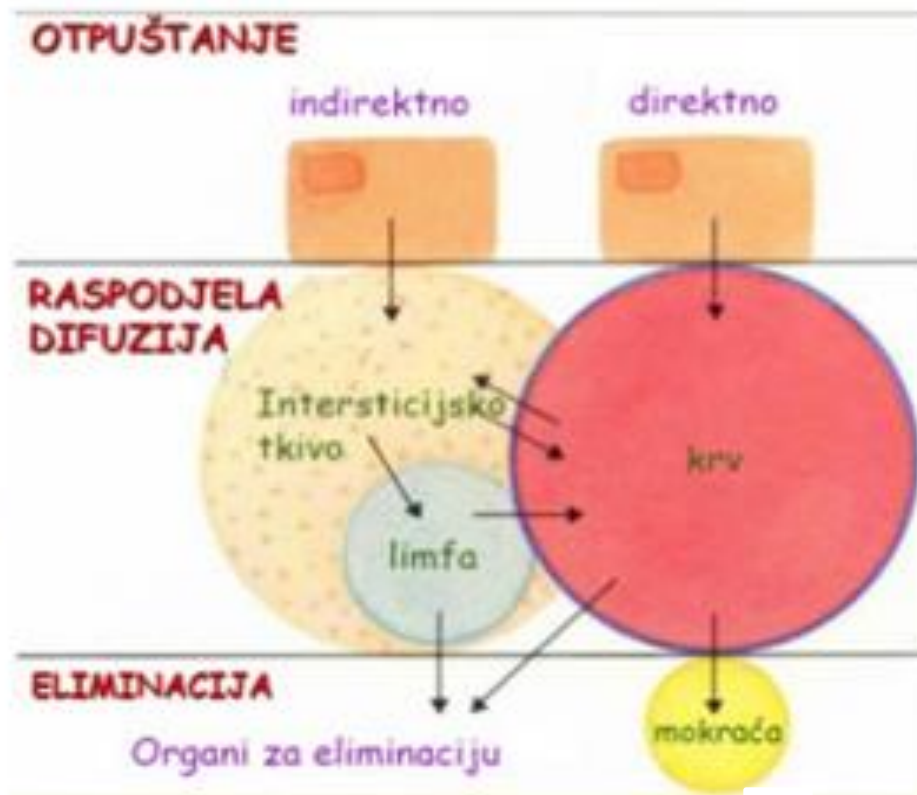
1. Urina (amilaza)

2. RES

kostna srž, slezina i jetra

(Kupferove ćelije)

CK, AK, mAST i cAST, MD



Molekularna masa dijagnostički važnih enzima, kDa

| | |
|--|---------|
| • Lipaza | 48 000 |
| • Amilaza | 50 000 |
| • Kreatin kinaza (CK) | 80 000 |
| • Aspartat-aminotransferaza (AST) | 90 000 |
| • Alanin-aminotransferaza (ALT) | 180 000 |
| • Kisela fosfataza (ACP) | 100 000 |
| • Laktat-dehidrogenaza (LD) | 140 000 |
| • Alkalna-fosfataza (ALP) | 140 000 |
| • γ -Glutamil transferaza (GGT) | 300 000 |

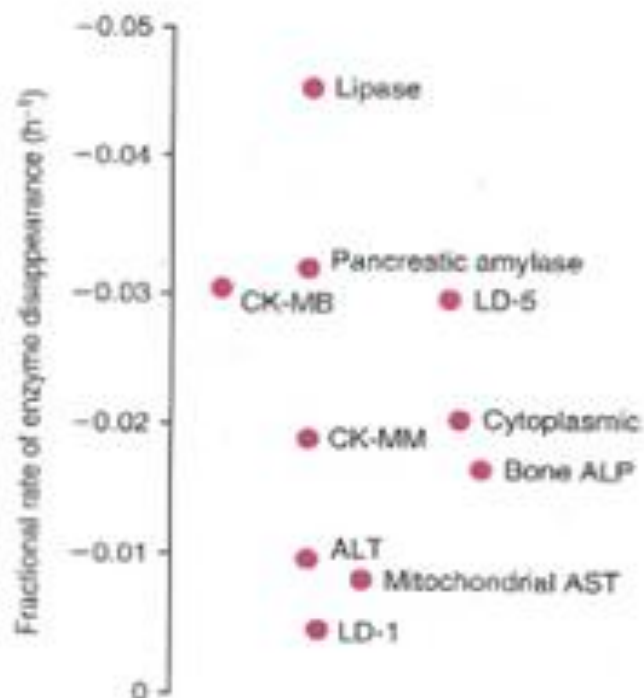
Poluživot enzima



- Poluživot enzima varira:
- Od nekoliko sata do nekoliko dana
- Prosečno $t_{1/2}$ od 6 do 48 sati

$$K_d = 2,303 \log \frac{2}{t_{1/2}} = \frac{0,693}{t_{1/2}}$$

Frakciona brzina uklanjanja (u satima)
za najvažnije enzime u serumu



Biološki poluživot enzima u plazmi

LD1

LD5

CK

AST

ALT

ALP

GGT

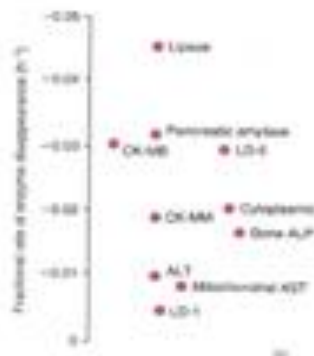
Poluživot enzima



- Poluživot enzima varira:
- Od nekoliko sati do nekoliko dana
- Prosečno 17,2 od 6 do 48 sati

$$k_d = 2,303 \log \frac{2}{t_{1/2}} = \frac{0,693}{t_{1/2}}$$

Frakcijska brzina uklanjanja (u satima)
za najvažnije enzime u serumu



3-7 sati

3-7 sati

1. Određivanje organo specifičnih enzima

Enzimi kao tkivni markeri

| | Serum | Eritrociti | Jetra | Srce | Mišić |
|------------|-------|------------|-------|--------|--------|
| AST | 1 | x15 | x7000 | x8000 | x5000 |
| ALT | 1 | x7 | x3000 | x400 | x300 |
| LD | 1 | x300 | x1500 | x1000 | x700 |
| CK | 1 | <1 | <10 | x10000 | x50000 |

Osetljivost

Specifičnost

Enzimski profil

3. Enzimski profili

Određivanje nekoliko enzima (enzimski profil) i posmatranje relativne enzimске aktivnosti, izračunavanje određenih koeficijenata

Mišića i srca

CK

AST

LDH

ALD

GP

Jetre

ALT

AST

ALP

GGT

5NT

CHE

AST/ALT

Pankreasa

Amilaza

Lipaza

Tripsin

Himotripsin

Elastaza-1

Kosti

ALP

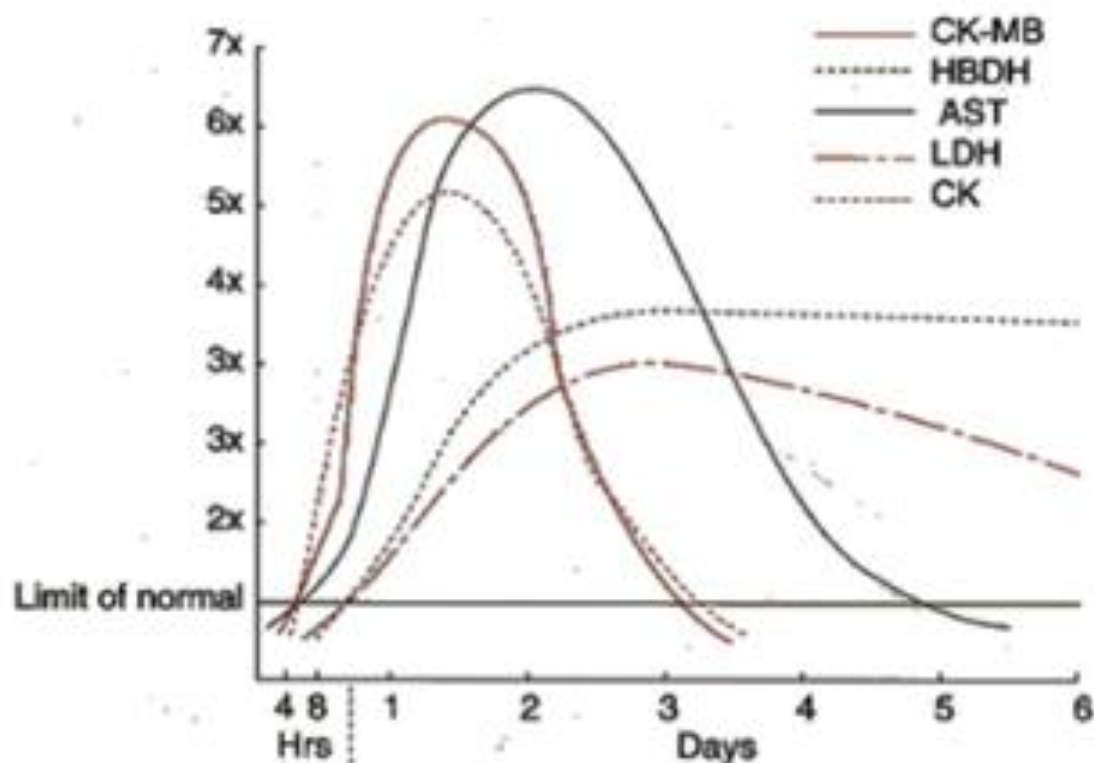
AcP

4. Praćenje enzimske aktivnosti u toku određenih vremenskih intervala

Dinamika promena enzima u akutnom infarktu miokarda

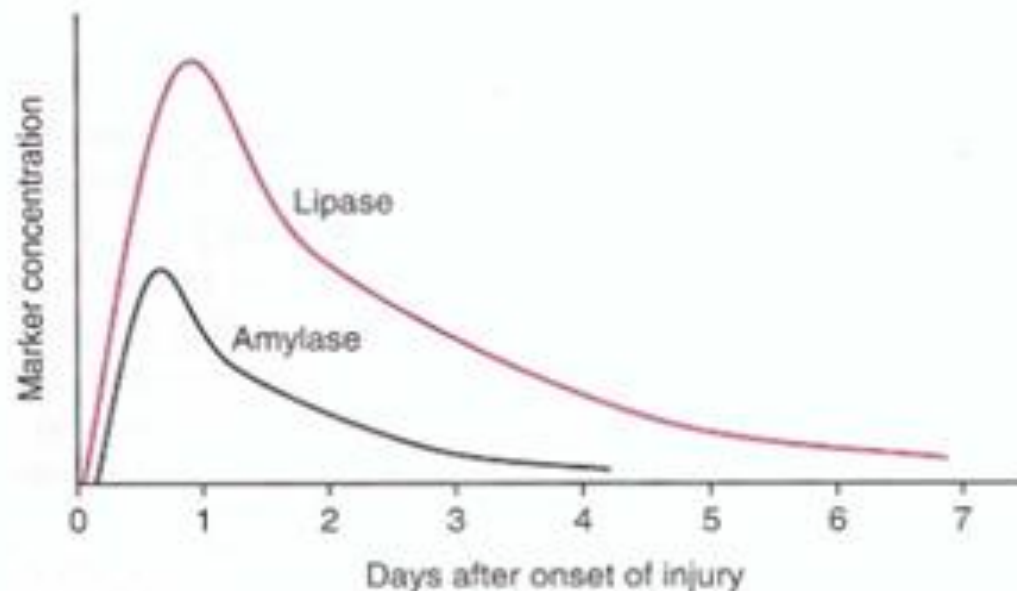
Dijagnostički prozor enzima

Rani i kasni markeri



4. Praćenje enzimske aktivnosti u toku određenih vremenskih intervala

Dinamika promena enzima u akutnom pankreatitisu



Dinamika promena lipaze i amilaze nakon akutnog pankreatitisa

1. Veće vrednosti lipaze 3x URL
2. Duže ostaju povišene vrednosti u serumu

AMINOTRANSFERAZE

Aminotransferaze

- Uloga
- Mehanizam reakcije transaminacije
- Distribucija u ćeliji i organima
- Klinički značaj
- Analitika
- Preanalitički uticaji
- Referentne vrednosti

Aminotransferaze ili transaminaze

- Aminotransferaze predstavljaju grupu enzima koji katalizuju interkonverziju aminokiselina u 2-oksokiseline transferom amino grupe

Aspartat aminotransferaza AST (ASAT)

- Stari naziv: glutamat oksalacetat transaminaza
- Skraćenica GOT ili SGOT (serumska GOT)
- Enzimski broj: EC 2.6.1.1;
- L-aspartat: 2-oksoglutarat aminotransferaza; AST

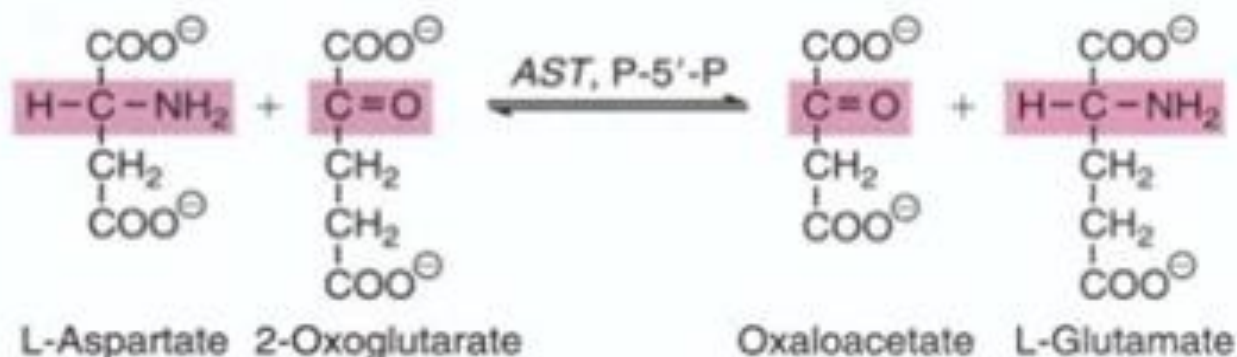
Alanin aminotransferaza, ALT (ALAT)

- Stari naziv: glutamat piruvat transaminaza
- Skraćenica GPT ili SGPT (serumska GPT)
- Enzimski broj: EC 2.6.1.2;
- L-alanin: 2-oksoglutarat aminotransferaza; ALT

Aminotransferaze

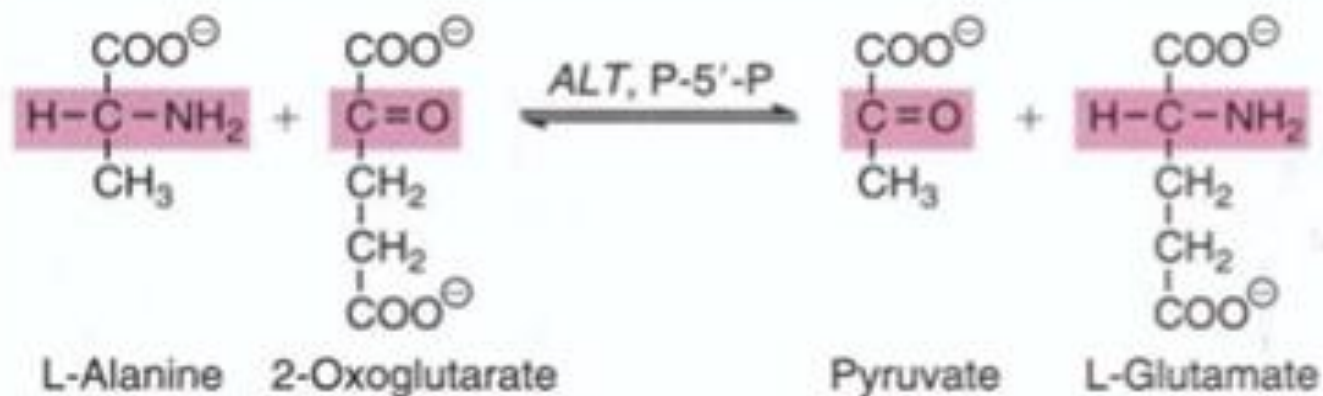
- Par 2-oksoglutarat/L-glutamat ili 2-ketoglutarat/L-glutamat služi kao akceptor amino grupe i kao donor u svim reakcijama transfera aminogrupe
- Specifičnost pojedinačnog enzima proističe iz specifične aminokiseline koja služi kao donor amino grupe

AST katalizuje sledeću reakciju



Aminotransferaze

ALT katalizuje sledeću reakciju



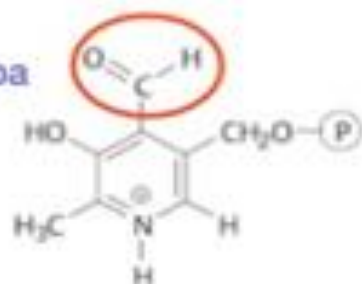
Reverzibilne reakcije

Ravnoteža je više pomerenjena ka stvaranju aspartata i alanina

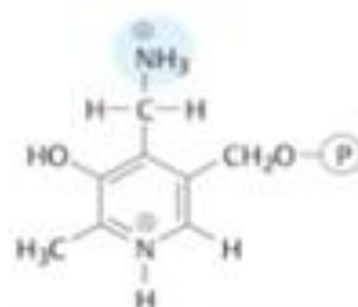
Aminotransferaze

- Piridoksal-5'-fosfat (P-5'-P) i njegov amino analog piridoksamin-5'-fosfat funkcionišu kao **prostetične grupe** u reakciji transfera amino-grupe.
- P-5'-P je vezan za apoenzim i služi kao prava prostetična grupa
- P-5'-P vezan za apoenzim prihvata amino grupu od prvog supstrata, aspartata ili alanina i gradi kompleks enzim-vezan piridoksamin-5'-fosfat i prvi reakcioni produkt oksalacetat ili piruvat.
- Koenzim u amino formi zatim vrši transfer njegove amino grupe na sekundarni supstrat, 2-oksoglutarat, pri čemu gradi sekundarni produkt, glutamat, a P-5'-P se regeneriše.

Reaktivna grupa
aldehidna



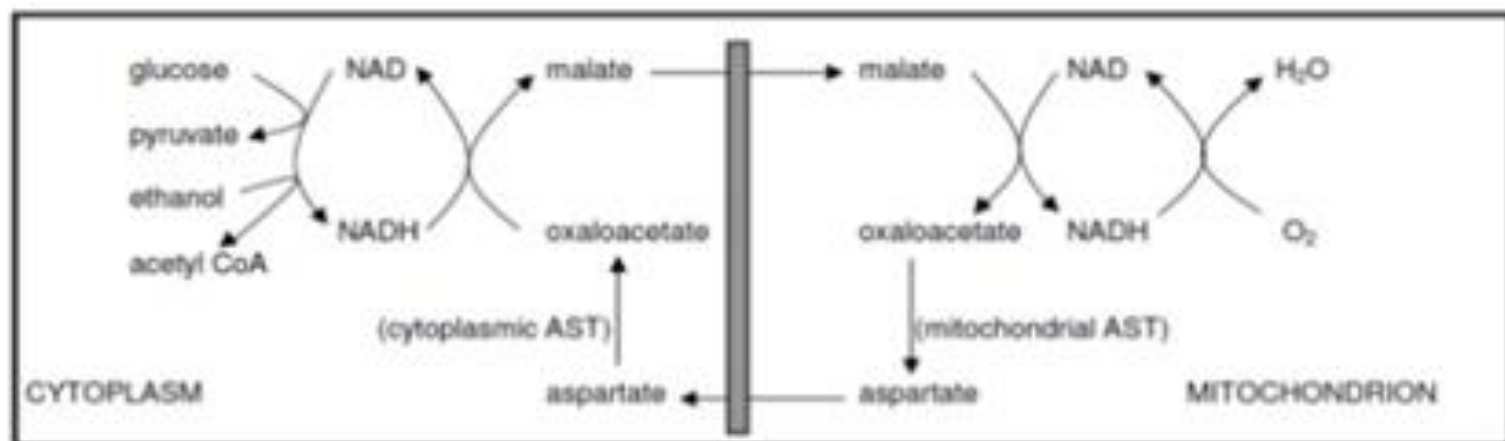
Piridoksal-5'-fosfat



Piridoksamin-5'-fosfat

Uloga aminotransferaza u metabolizmu

- ALT učestvuje u katabolizmu aminokiselina
 - Veza sa glukoneogenezom
- AST u prenošenju redukcionih ekvivalenata u mitohondrije
 - Malatni šatl sistem



Distribucija aminotransferaze

Distribucija u organima

- Aminotransferaze su široko rasprostranjene u organizmu
- AST se primarno nalazi u srcu, jetri, skeletnim mišićima
- AST je manje prisutna u bubrezima, mozgu, plućima, eritrocitima
- ALT je pre svega zastupljena u jetri (najviše) i bubrezima, sa mnogo manjim količinama u srcu i skeletnim mišićima

Ćelijska lokalizacija:

- ALT je prevashodno citoplazmatični enzim
- AST postoji kao mitohondrijalna m-AST i citoplazmatična forma c-AST

Struktura izoenzima AST

- Ovo su genetski dva različita izoenzima sa dimernom strukturom
- Dva identična polipeptidna lanca sa po 400 AK.

Aktivnosti aminotransferaza u humanim tkivima u odnosu na serum

| | AST | ALT |
|----------------|------|------|
| Srce | 7800 | 450 |
| Jetra | 7100 | 2850 |
| Skeletni mišić | 5000 | 300 |
| Bubrezi | 4500 | 1200 |
| Pankreas | 1400 | 130 |
| Slezina | 700 | 80 |
| Pluća | 500 | 45 |
| Eritrociti | 15 | 7 |
| Serum | 1 | 1 |

Klinički značaj transaminaza



ALT – bolesti jetre

AST – bolesti jetre, skeletnih mišića, srčanog mišića

AST/ALT De Ritisov koeficijent (AAR)

Hepatogram: AST, ALT, ALP, GGT, bilirubin, ukupni proteini i albumin

Bolesti jetre

- Jetreni enzimi u diferencijalnoj dijagnostici 2 najvažnija tipa oboljenja jetre:
 - Hepatocelularna oštećenja iolestaza
- Transaminaze služe za detekciju inflamacije i oštećenja nekroze hepatocita
- Za dijagnozu i prognozu bolesti jetre
- **Bolesti jetre su najvažniji uzrok povećane aktivnosti transaminaza u serumu**
- U najvećem broju bolesti jetre, aktivnost ALT je veća od AST, izuzev u alkoholnom hepatitisu, hepatičnoj cirozi i neoplazmi jetre

Klinički značaj transaminaza

Akutni alkoholizam

Alkoholni hepatitis

- Povećane vrednosti transaminaza
- $AST > ALT$
- Uzrok porasta transaminaza
 - Oštećenje mitohondrija i porast mAST
 - ALT osetljiviji na deficijenciju piridoksal fosfata
 - Nutritivna deficijencija
 - Deficijencija B6 - koenzim transaminaza

- Odnos $AST : ALT > 2$

Klinički značaj transaminaza

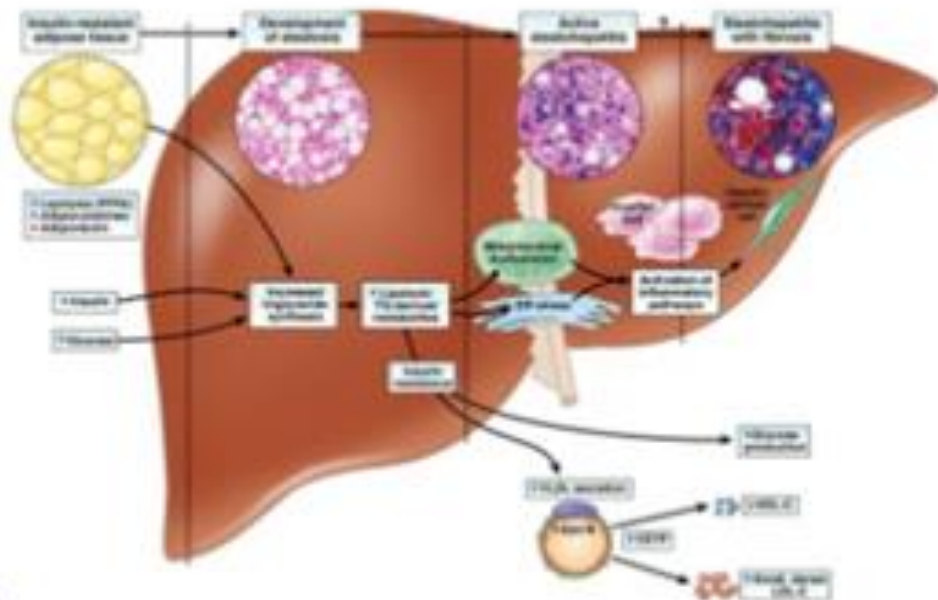
Nealkoholna masna jetra

NAFLD (nonalcoholic fatty liver disease)

- NAFLD – pojava masne jetre najčešće dolazi do povećanja aminotransferaza ukoliko nije virusni i alkoholni hepatitis
- Uzroci bolesti nealkoholne masne jetre:
 1. Gojaznost
 2. Insulinska rezistencija
 3. Metabolički sindrom

Gojaznost i nealkoholna masna jetra

Jetra ima određen kapacitet sinteze VLDL
Višak TG masna jetra



Učestalost:
gojazne odrasle osobe: 50-75%
gojazna deca: 25-50%

Nealkoholna masna jetra steatoza → steatohepatitisa → fibroze → ciroze → kancera

Nealkoholna masna jetra je hepatična manifestacija insulinske rezistencije.

Klinički značaj transaminaza

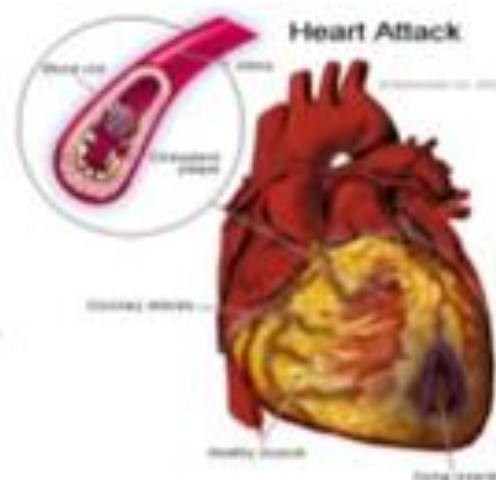
Hepatotoksično dejstvo lekova

- Blaga ili srednja povećanja oba enzima i ALT i AST su dobijena kod davanja raznih medikamenata
 - Nesteroidni antiinflamatori lekovi, antibiotici, antiepileptici, inhibitori HMG-KoA reduktaze, ili opijati.

Povećanje transaminaza kod raznih bolesti bolesti jetre

- Kod pacijenata sa povišenim vrednostima transaminaza, negativni virusni markeri ili negativna istorija uzimanja lekova i alkohola, treba posumnjati na ređe bolesti poput:
- hemohromatoze, Vilsonova bolest, autoimunihepatitis, primarna bilijarna ciroza, sklerozirajući holangitis i deficijencija alfa-1-antitripsina.

Klinički značaj transaminaza Aspartat aminotransferaza



Bolesti srca

- Posle akutnog infarkta miokarda, povišene aktivnosti AST u serumu zbog visokih aktivnosti AST u srčanom mišiću

Mišićne bolesti

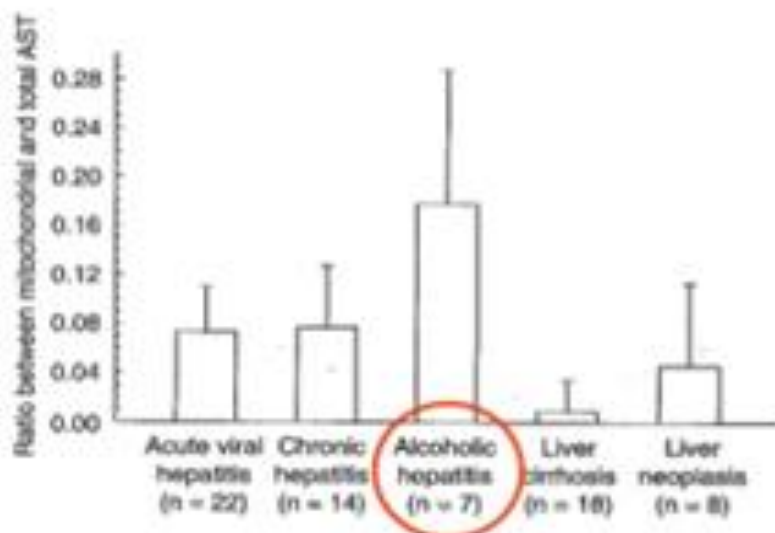
- AST je povišen i u progresivnoj mišićnoj distrofiji i dermatomiozitisu
 - povećane aktivnosti i do osam puta u odnosu na normalne
- AST normalan u mišićnim oboljenjima sa neurološkim poreklom
- Oštećenje poprečno prugastih mišića uporedni porast AST i CK

Druge bolesti

- Embolija pluća može povećati AST dva do tri puta,
- Slaba povišenja su detektovana kod:
 - celijačne bolesti, akutnog pankreatitisa, mišićnih povreda i hemolitičkih bolesti

Mitochondrijalna AST

- Generalno aktivnost mitohondrijalne AST (m-AST) u serumu pokazuje povećanje kod pacijenata sa ekstenzivnom degeneracijom i nekrozom jetrenih ćelija
- Važan je odnos m-AST i ukupne aktivnosti AST kod alkoholnog hepatitisa.
- Ovaj odnos jasno identifikuje stanje sa **nekrotičnim tipom** oštećenja jetrenih ćelija
- Alkoholni hepatitis
 - Slabo povećanje enzima
 - Veće povećanje mitohondrijalnog enzima



Referentne vrednosti aminotransferaza

- Metode sledjive referentnoj IFCC metodi:
- AST gornja granica (97,5-pecentil referentne distribucije) **35 U/L**

Uticaj pola

- AST nema razlika prema polu
- ALT pokazuje razlike između muškaraca i žena.
- Gornja granica je **60 U/L** za muškarce i **42 U/L** za žene.

Uticaj godina

- ALT nema razlika po godinama kod dece
- AST je povećana kod beba i dece do 3 godine 2x viša nego kod odraslih u pubertetu se izjednačavaju

Zaključci

Tumačenje kliničkog značaja transaminaza

Povećan samo ALT

- Verovatno je u pitanju bolest jetre

Povećan samo AST

- Moguća bolest jetre, srca i skeletnih mišića

Povećan i ALT i AST

- Verovatno je u pitanju bolest jetre

Oboljenja jetre

- **GAMA GLUTAMIL TRANSFERAZE (γ GT)**
- *Prisutna u jetri, bubrezima, pankreasu i prostati*
- *Referentne vrijednosti: Muškarci: 30 U/L*
Žene < 25 U/L
- *Signifikantno povećanje:*
- *Indukovano alkoholom ili lijekom fenobarbitonom*
- *Hronični alkoholni hepatitis*
- *Holestatske bolesti jetre*

Oboljenja jetre

ALKALNA FOSFATAZA (ALP)

- **Signifikantno povećanje:**
 - *Oboljenja kostiju kao što je osteomalacija, rahitis, Padžetov osteogenetski karcinom, i sekundarni depoziti u kostima.*
 - *Oboljenja jetre kao što je holestaza, tumor ili intoksikacija lijekovima*
 - *Tumor: kosti ili jetre, primarni ili sekundarni depoziti*

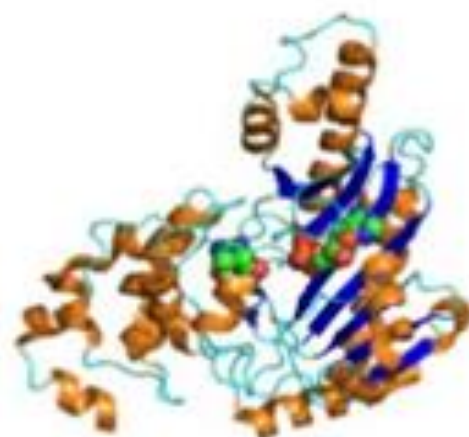
Oboljenja jetre

- *ALKALNA FOSFATAZA (ALP)*
- *Prisutna u kostima, hepatobilijarnom, intestinalnom traktu, renalnim tubulima i placenti*
- *Referentne vrijednosti*
- *Muškarci: 40-258 U/L*
- *Žene: 35-258 U/L*

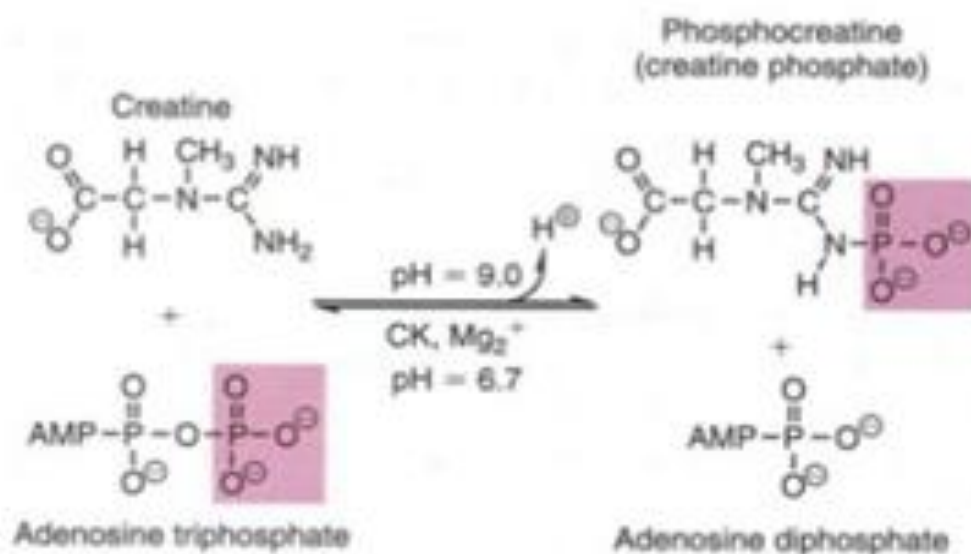
KREATIN KINAZA

Kreatin kinaza

- Kreatin kinaza
- EC 2.7.3.2;
- adenzin trifosfat: kreatin N-fosfotransferaza
- Skraćenica CK (creatine kinase)
- Stari naziv: kreatin fosfokinaza CPK



Kreatin kinaza



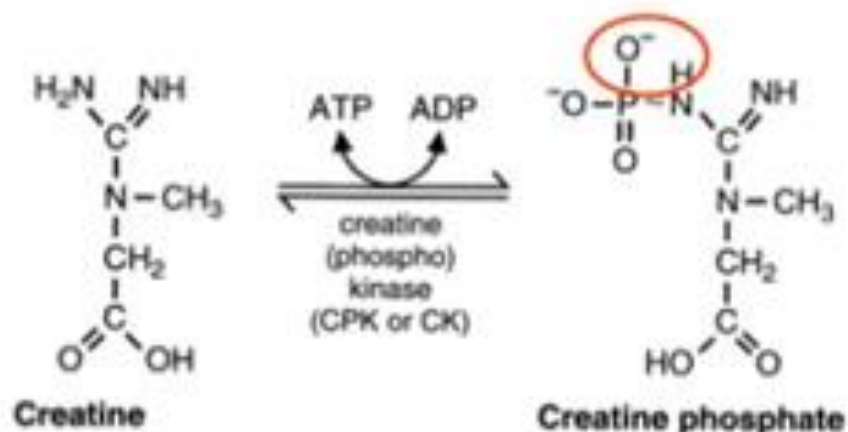
Uticaj pH

Pri neutralnom pH, CrP ima mnogo veći kapacitet fosforilacije nego ATP, ovaj viši potencijal favorizuje reversnu reakciju tj stvaranje ATP iz CrP.

Reversna reakcija se odvija 2 do 6 puta brže nego prva reakcija, zavisno od uslova. Optimalan pH reakcije je 9,0 a reversne reakcije je 6,7.

Uloga CK u metabolizmu

- Glavna uloga CK je da učestvuje u obezbeđivanju energije
- ATP je „moneta“ u ćelijskom metabolizmu
- ATP se stvara u mitohondrijama u procesu ćelijske respiracije
- Najveći potrošači energije su mišići i mozak jer su oni metabolički najaktivnija tkiva
- Kreatin fosfat - depo energije
- Kreatin kinaza - **trenutni pufer za energiju**
- Visoko energetska veza je neuobičajena azot-fosfatna veza.



Distribucija kreatin kinaze u organizmu

- Kreatin kinaza je vezana za mesta gde se energija oslobađa (mitohondrije) ili troši (metabolički aktivna tkiva)
- Reakcija je kuplovana za glikolizu i aktin-miozinski sistem
- Aktivnost kreatin kinaze je najveća u:
 - poprečno prugastim mišićima i
 - srčanom mišiću, koji sadrže 2500 i 550 U/g proteina.
 - mnogo manju aktivnost CK imaju mozak,
 - GIT, mokraćna bešika.
- U ćeliji kreatin kinaza je lokalizovana u citoplazmi ili vezana za miofibrile i u mitohondrijama

Kreatin kinaza: citoplazmatična i mitohondrijalna

Kreatin kinaza

```
graph TD; A[Kreatin kinaza] --- B[Izoenzimi]; A --- C[Makro forme]; A --- D[Izoforme];
```

Izoenzimi

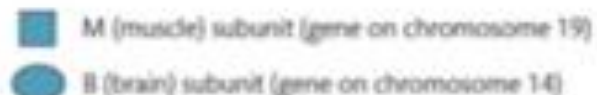
Makro forme

Izoforme

Izoenzimi CK

Citoplazmatski izoenzimi

- CK je dimer
- Subjedinice M i B (svaka po 40.000 kDa)
- Genski lokus na hromozomu 14 i 19



Tri citoplazmatska izoenzima:

- CK-BB ili CK-1 moždani izoenzim
 - CK-MB ili CK-2 srčani izoenzim (hibridni)
 - CK-MM ili CK-3 mišićni izoenzim
-
- Komisija za biohemijsku nomenklaturu preporučuje da se izoenzimi obeležavaju na bazi njihove elektroforetske pokretljivosti
 - Izoenzimom koji najviše anodno putuje dobija najmanji broj
 - Na osnovu toga izoenzimi CK su obeleženi kao CK-1, CK-2 i CK-3.



Distribucija kreatin kinaze i njenih izoenzima u organima

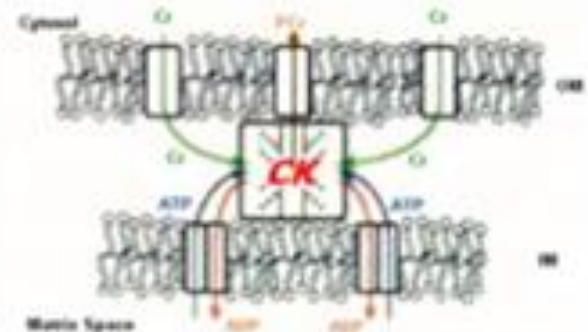
Relativne aktivnosti pojedinih citozolnih izoenzima CK u tkivima

TABLE 7.1 The percentage distribution of the isoenzymes of creatine kinase (see Figure 7.3 (a)).

| Isoenzyme | Brain | GIT | Cardiac muscle | Skeletal muscle |
|------------|-------|-------|----------------|-----------------|
| CKBB (CK1) | 100 | 95-96 | 1 | 0 |
| CKMB (CK2) | 0 | 1-2 | 22 | 3 |
| CKMM (CK3) | 0 | 3 | 77 | 97 |

Mitochondrijalna kreatin kinaza

- Pored ovih citozolnih postoji i četvrti izoenzim
- Razlikuje se imunološki i na osnovu elektroforetske pokretljivosti
- CK-Mt izoenzim je lociran između unutrašnje i spoljašnje membrane mitohondrija
- U srcu on čini 15% od ukupne CK aktivnosti
- Dve forme mitCK
- **Sarkomerna**
- **Ubihinonska**

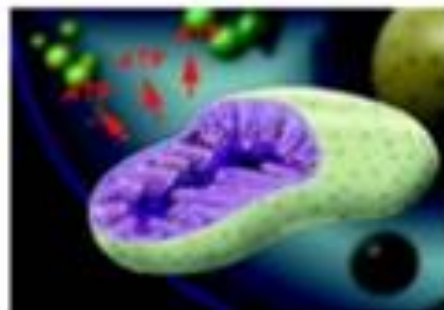
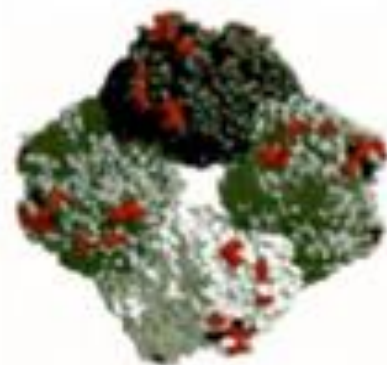


Izoenzimi CK

Mitohondrijalni izoenzimi

- Gen za mitCK je na hromozomu 15
- Struktura CK-Mt
 - Oligomerni izoenzim
 - **Oktamer**
- Uloga mitohondrijalne CK
- **Kreatinfosfat/kreatin šatl sistem**
- Prenosi kreatin fosfat iz mitohondrija na citozolnu kreatin kinazu koja predaje ATP kuplovanim ATPazama poput aktin-miozin (kontrakcija mišića) ili jonski transporteri koji su ATP-zavisni (transport Ca iz sarkoplazmatičnog retikuluma)
- Kreatin fosfat nije samo energetski pufer već i prenosilac energije iz organele gde se proizvodi ATP do mesta utroška

oktamer



Geni kreatin kinaze

*Geni za dve subjedinice su na različitim hromozomima:
B na 14q32 i M na 19q13.*

gen

[CKB](#)

[CKBE](#)

[CKM](#)

[CKMT1A](#), [CKMT1B](#)

[CKMT2](#)

protein

kreatin kinaza, brain -mozak, BB-CK

Kreatin kinaza, ektopična ekspresija

kreatin kinaza, mišićna, MM-CK

kreatin kinaza mitohondrijalna 1;
ubiquitous mtCK; ili μ -mtCK

kreatin kinaza mitohondrijalna 2;
sarkomerna mtCK; or μ -mtCK

Kreatin kinaza

- Kinetičke karakteristike kreatin kinaze
- Uticaj Mg(II) jona:
 - gradi kompleks sa ATP i ADP
 - aktivacija (uski opseg koncentracije Mg jona)
 - i inhibicija jonima Mg
- Inhibitori reakcije:
 - Mn, Zn, Ca, Cu
 - joni: hloridi, bromidi, fluorid, jodoacetat, citrat, sulfat, ADP u višku,
 - urati i cistein inhibitori u serumu
 - važno održavanje koncentracija Cl i sulfata
- Značaj SH grupa
- enzim nestabilan zbog SH grupa
- Reagensi koji reaktiviraju CK
 - N-acetil cistein, monoliolglicerol, ditioeritriol, ditiotreitol (Clelandov reagens) i glutation
 - najbolji N-acetilcisten u koncentraciji od 20 mmol/L u reakcionoj smesi

Fiziološke varijacije CK

- Pol
- Mišićna masa
- Fizička aktivnost
- Rasa
- Godine



Klinički značaj CK

Povećane vrednosti CK kod bolesti srca i skeletnih mišića zbog:

- povreda
- inflamacija
- nekroze

Određivanje CK ima klinički značaj kod:

- Bolesti skeletnih mišića
- Akutnog infarkta miokarda
- Oštećenja mozga

Klinički značaj CK

- Infarkt miokarda i oštećenja srčanog mišića
- Skeletni mišići: oštećenja i bolesti
- Hipotiroidizam
- Intramuskularne injekcije
- Generalne konvulzije
- Cerebralna oštećenja
- Maligna hiperpirekcija
- Produžena hipotermija

Klinički značaj CK

Mišićne bolesti

- Povišene vrednosti CK mogu biti jedini znak subkliničke neuromuskularne bolesti.
- 30-44 % asimptomatskih pacijenata sa hiper CK aktivnošću (5x veća od URL) ima miopatiju.
- Aktivnost serumske CK je mnogo povišena u svim tipovima **mišićne distrofije**.
- U progresivnom tipu mišićne distrofije, kakva je Dušenova distrofija aktivnost enzima je najveća u detinjstvu od 7 do 10 godine i može biti povećana dugo vremena pre nego što se klinički ispolji.
- Serumska CK posle opada pošto pacijenti postanu stariji jer se funkcionalna mišićna masa smanjuje sa progresijom bolesti.
-

Dušenova mišićna distrofija

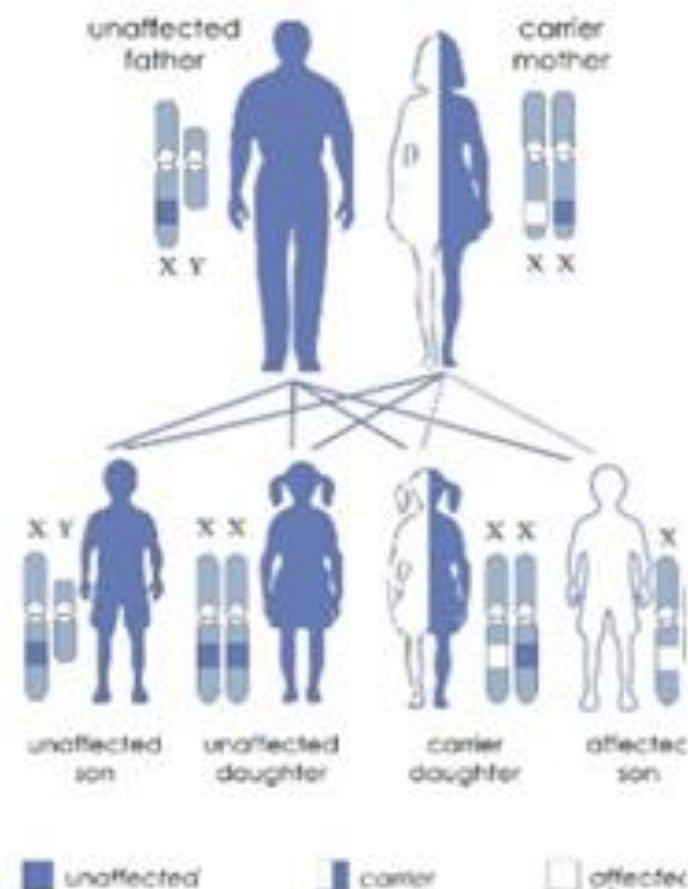
Vrednosti CK vrlo visoke kod obolelih
Bolest vezana za pol

Žene su prenosioci gena

Kod 50 do 80 % žena nosioca gena za mišićnu distrofiju koje ne oboljevaju imaju povišen CK 3 do 6 puta.
Vrednosti mogu pak biti normalne ako nema fizičke aktivnost

Značaj prenatalne dijagnostike

X-linked recessive inheritance



Klinički značaj CK

Mišićne bolesti

- Visoke vrednosti CK su zabeležene kod
- virusnog miozitisa, polimiozitisa i sličnih bolesti mišića
- Kod neurogenih mišićnih bolesti:
- miastenia gravis, multipla skleroza, polimijelitis i parkinsonizam vrednosti CK su normalne
- Vrlo visoke vrednosti su kod maligne hipertermije, bolesti koja se manifestuje visokom groznicom i koja je izazvana davanjem inhalacione anestezije (halotan) kod obolele osobe.

Klinički značaj CK

Mišićne bolesti

- U akutnoj rambdomiolizi zbog kraš oštećenja, sa teškom destrukcijom mišića, vrednosti serumske CK aktivnosti su 200x URL
- Serumska CK može biti povećana i kod drugih trauma mišića
 - intramuskularne injekcije i hirurške intervencije.



- Postoje i lekovi koji u farmakološkim dozama povećavaju vrednosti CK u serumu:
 - statini, fibrati, antiretroviralni lekovi i antagonisti receptora angiotenzina II.
 - Razne vrste miopatija se mogu javiti kod davanja statina, blagi mijalgični sindrom pa sve do rambdomiolize (0,02 %).
- Fizička aktivnost
 - Fizički trening
 - Maratonci



Praćenje efekta terapije hipolipidemicima Preporuke ESC/EAS 2011

- Praćenje neželjenih efekata statina:
 - rabdomijelize
 - hepatotoksičnost
- Određivanje aktivnosti enzima
 - CK
 - ALT
- CK se preporučuje kod pacijenata sa visokim rizikom za miopatiju
 - starije osobe sa drugim ko-morbiditetima
 - pacijenti sa ranijim mišićnim simptomima
 - mogućnost interakcije lekova



Praćenje efekta terapije hipolipidemicima Preporuke ESC/EAS 2011

- Praćenje se preporučuje u intervalima od 6 do 12 meseci
- U cilju monitoringa potencijalnih toksičnih sporednih efekata
- Nema prediktivne vrednosti za CK kod rabdmiolize povećanje CK i kod oštećenja mišića i kod intenzivnog vežbanja
- CK se mora odmah odrediti, pogotovo kod starijih ako se jave bolovi u mišićima i slabost
- tretman da se obustavi ako su vrednosti **> 5 xULN**



Praćenje efekta terapije hipolipidemicima

Preporuke ESC/EAS 2011

- **Koliko često treba određivati CK kod pacijenata koji primaju hipolipidemike ?**
 - Pre tretmana
 - Ako je bazalna vrednost CK > 8 X URL ne započinjati terapiju
- **Monitoring**
 - Rutinski monitoring CK nije potreban
 - Proveriti CK ako se kod pacijenta javi mialgija
 - Povećati opreznost ako se radi o starijoj osobi, interferirajućim lekovima, uzimaju više lekova, prisutna bolest jetre ili bubrega
- **Šta treba uraditi ako se povećaju vrednosti CK kod pacijenata na terapiji hipolipidemicima ?**
- **> 5 X URL**
 - Zaustaviš tretman, proveriti funkciju bubrega i pratiti CK svake 2 nedelje
 - Proveriti da li je porast CK prolazno na primer zbog vežbanja
 - Isključiti druge uzroke koji mogu dovesti do miopatije ukoliko CK ostane povišen
- **< 5 X URL**
 - Ukoliko nema simptoma na mišićima nastaviti sa terapijom i savetovati pacijenta da prati promene na mišićima
 - Ukoliko se pojave simptomi , pratiti ih i regularno kontrolisati CK
 - Ponovno uvođenje terapije se može sprovesti tek kada se ALT vrati u normalu

Klinički značaj kreatin kinaze

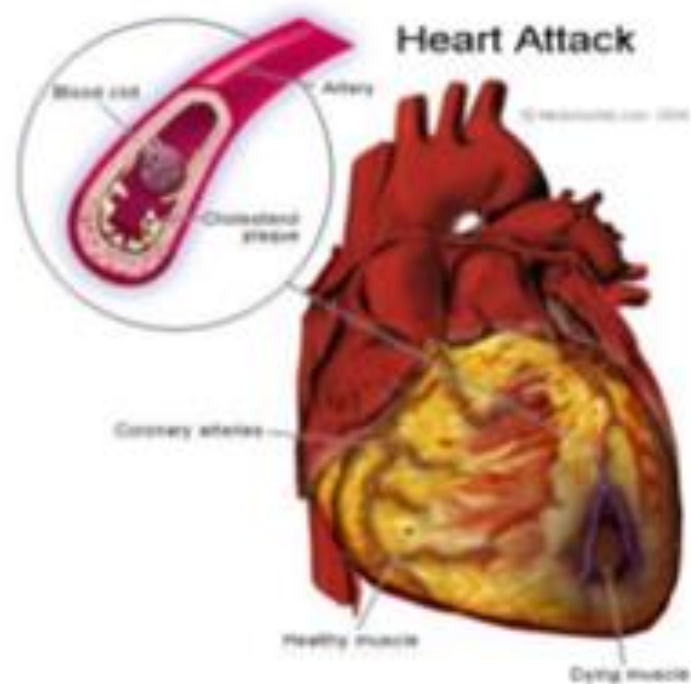
Hipotiroidizam

- Aktivnost CK u serumu pokazuje inverznu povezanost sa funkcijom tiroideje
- Oko 60 % pacijenata sa hipotiroidizmom pokazuje prosečno povećanje CK od pet puta u odnosu na gornju granicu referentnih vrednosti
- Povećanje može biti i mnogo veće
- Glavni izoenzim koji se povećava je CK-MM, što ukazuje da je vezano za skeletne mišiće

Klinički značaj CK i CK-BB

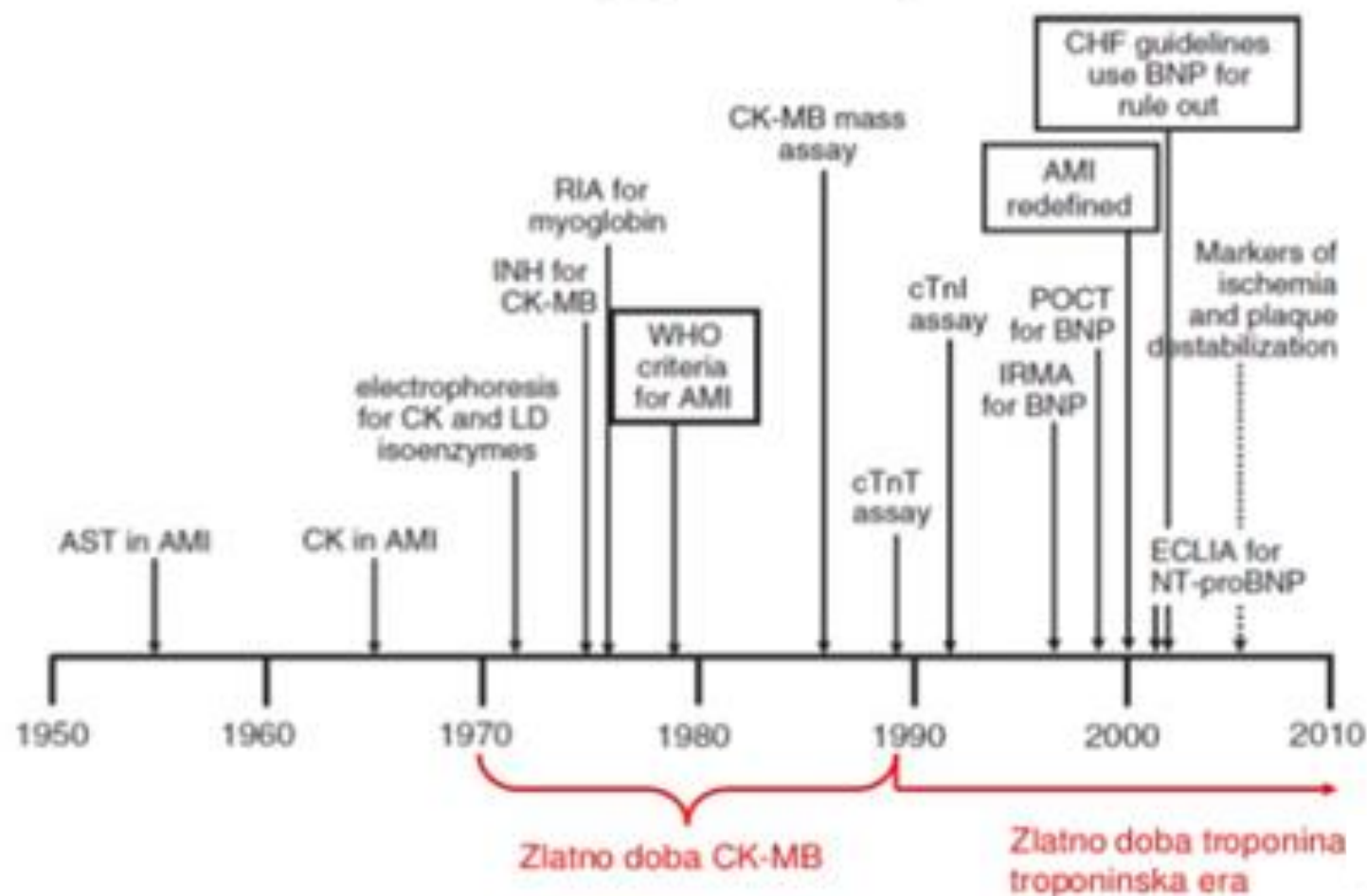
- U toku **porođaja** povećava se serumska CK kod majke i do 6 puta.
- Ukoliko je porođaj praćen i nekom **hirurškom intervencijom** povećanje je mnogo veće
- CK-BB može biti povećan kod beba, ako je **mozak oštećen** ili ako je mala težina novorođenčadi
- Pojava CK-BB u krvi u niskoj koncentraciji, može predstavljati i normalnu fiziološku pojavu nekoliko prvih dana života

Klinički značaj CK i CK-MB u akutnom infarktu miokarda



- Promene CK i izoenzima CK-MB posle akutnog infarkta miokarda bili su glavni testovi u dijagnostici mnogo godina
- Markeri nekroze tkiva
- Sada se koriste mnogo kardio-specifičniji neenzimski markeri (citolni proteini) kao što su troponin I i troponin T

Razvoj i primena biohemijskih markera oštećenja miokarda i njegove funkcije



Dijagnoza akutnog infarkta miokarda

Hronologija dijagnostike

- 1986. WHO uključeni biomarkeri
 - Prisutna dva kriterijuma od sledećih tri:
 1. Istorija bola u grudima
 2. Promene u ECG
 3. Povećanje biohemijskih markera 2x od normale
2000. godina ECS, ACC, revizija **2007. g**



Kriterijumi za detekciju akutnog infarkta miokarda

Objedinjene preporuke: ESC/ACCF/AHA/WHF Task force

1. Detekcija porasta i/ili pada kardijačnih biomarkera (pre svega troponina) sa bar jednom vrednošću preko 99 –og percentila u odnosu na gornju granicu referentnih vrednosti, zajedno sa dokazom ishemije. Dokaz ishemije na osnovu bar jednog parametra:
 - a) Simptomi ishemije
 - b) Elektrokardiogram (EKG) promene za novu ishemiju (novi ST) ili novi blok leve grane (LLLB)
 - c) Razvoj patološkog Q talasa na EKG
 - d) Imaging tehnika za dokaz nove abnormalnosti miokarda tj abnormalnosti motiliteta regionalnog zida

Redefinicija akutnog infarkta miokarda na osnovu vrednosti troponina

Biohemijski markeri ishemije i nekroze miokarda

Biohemijski markeri akutnog infarkta miokarda

Aktuelni kardijačni markeri

- CK MB masa
- Troponin: cTnT i cTnI
- Mioglobin

Budući markeri

- Ishemijski modifikovan albumin
IMA ischemic modified albumin
- Protein koji vezuje masne kiseline
H-FABP (heart-fatty acid binding protein)
- Glikogen fosforilaza BB

Kardijačni markeri manjeg značaja

- CK ukupna aktivnost
- CK izoenzimi
- CK-MB aktivnost
- AST
- LD ukupna aktivnost
- Izoenzimi LD
- HBD

Klinička primena CK i CK-MB u dijagnostici akutnog infarkta miokarda

I aktivnost CK

- Pik posle 18 sati

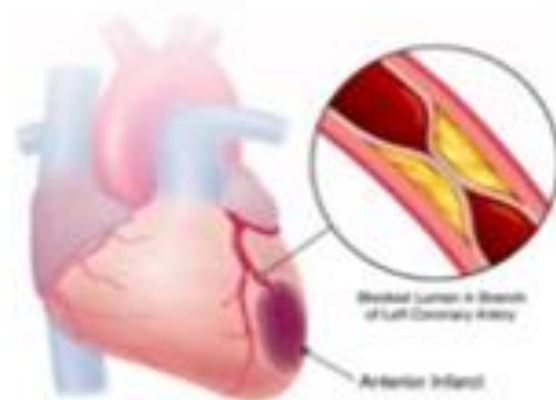
II aktivnost izoenzima CK-MB

- Pik posle 6 sati

CK-MB je bio zlatni standard 20 godina u dijagnostici akutnog infarkta miokarda, zajedno sa EKG, istorijom bolesti i bolom u grudima

III masena koncentracija CK-MB

- Ranija detekcija abnormalnih vrednosti
- Povećana senzitivnost
- Smanjena specifičnost zbog CK-MB iz mišića
- Interferencija makro-CK - nema



Klinička primena izoformi CK u dijagnostici akutnog infarkta miokarda

IV Izoforme CK

- Post-translacione modifikacije i uklanjanje lizina sa M subjedinice (pozitivno naelektrisan)
- Promene u elektroforetskom razdvajanju izoenzima CK
- CK-MM tj. CK-MM3 → CK-MM2 i CK-MM1
- CK-MB tj. CK-MB2 → CK-MB1
- **Veća senzitivnost i specifičnost u odnosu na izoenzim CK-MB**
 - **Specifičnost CK-MB1** 6 sati od bola je 95,7 % i 93,9 %
 - **Specifičnost CK-MB aktivnost** 6 sati od bola je 48,2 % i 94,0 %

Problemi sa izoformama CK:

- Uticaj oštećenja skeletnih mišića
- Metoda separacije izoformi:
 - Specijalna elektroforeza na agarozu pri visokom naponu
 - Imunoekstrakcija sa specifičnim CK-MB2 antitelima

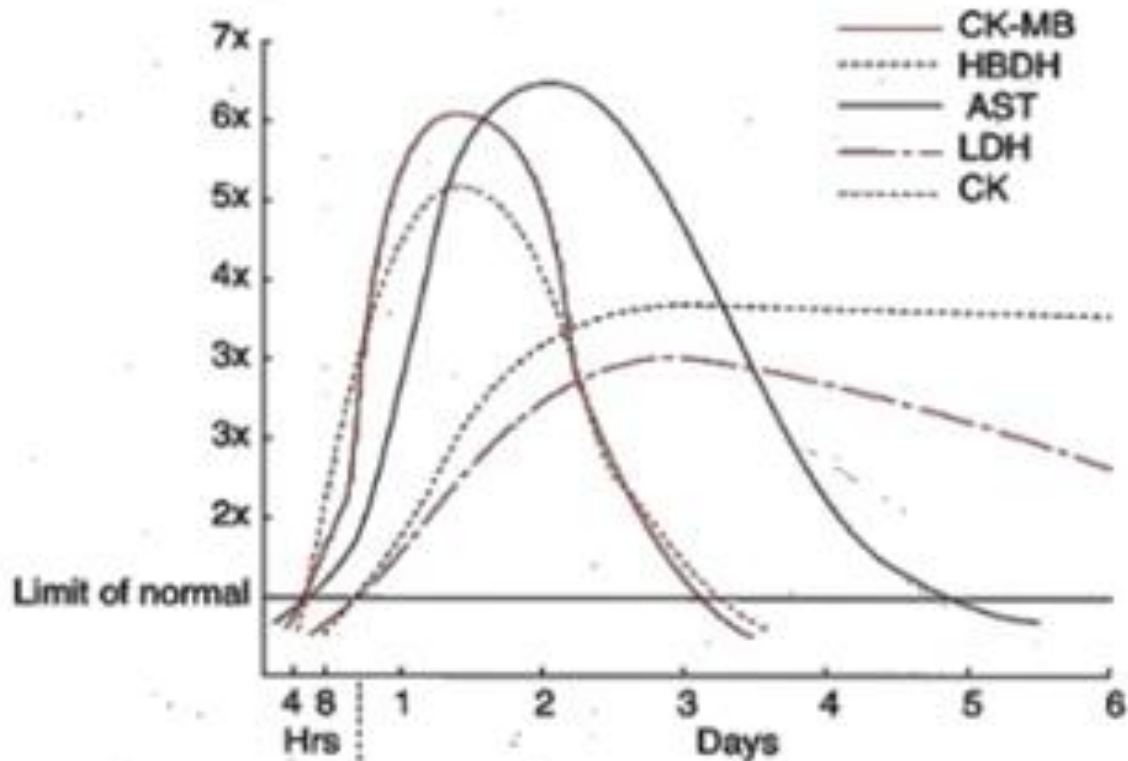


Karakteristike CK MB kao biomarkera akutnog koronarnog sindroma

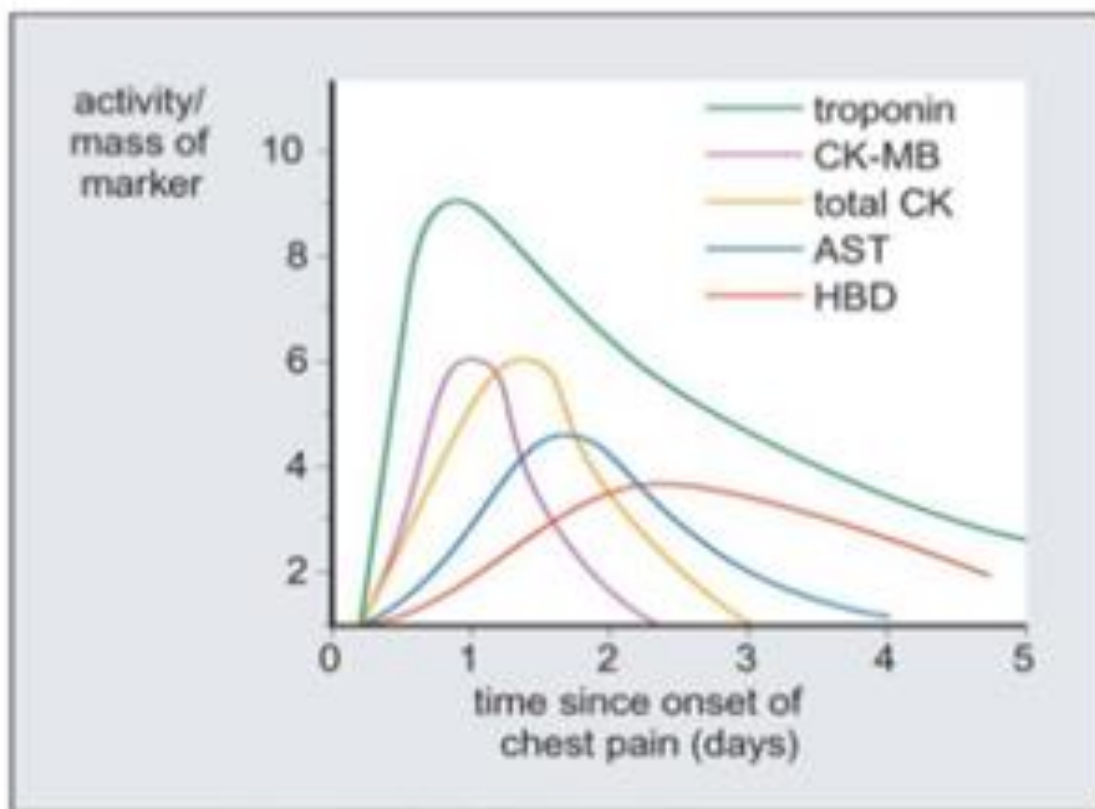
- Rani marker infarkta miokarda
- Oslobođanje 3-6 h posle pojave bola
- Maksimum oko 24 h
- Normalizacija 24-72 h
- Specifičan biomarker

Dinamika promena enzima u akutnom infarktu miokarda

Zlatno doba CK-MB 1970.g-1990.g



Dinamika promena enzima u akutnom infarktu miokarda Troponinska era



Zaključci: Klinički značaj CK i CK-MB u akutnom infarktu miokarda

- Promene u CK i CK-MB izoenzimu posle akutnog infarkta miokarda bili su glavni testovi u dijagnostici mnogo godina.
- Sada se koriste mnogo kardio-specifičniji neenzimski markeri (citozolni proteini) kao što su troponin I i troponin T.
- **CK-MB masa se još uvek može koristiti uspešno za procenu širine miokardijalne nekroze i za procenu prognoze infarkta.**
- Kada se uporedi pik CK-MB sa veličinom infarkta, dobija se dobra korelacija.
- Problem kod korišćenja CK-MB masa za ovu svrhu je što mora često da se određuje CK-MB kako bi se našao pik vrednosti



Granične vrednosti pika CK-MB i veličine infarkta

- Mikroskopski infarkt miokarda < 10 µg/L
 - Fokalna nekroza
- Mali infarkt miokarda 10-60 µg/L
 - <10 % leve ventrikule
- Srednja veličina infarkta 60-225 µg/L
 - 10-30 % leve ventrikule
- Veliki infarkt > 225 µg/L
 - >30 % leve ventrikule

Klinički značaj CK i CK-MB u drugim bolestima srca



Pored infarkta i neka druga kardiološka stanja povećavaju vrednosti CK i CK-MB u serumu

- kardiopulmonalni bypass
- koronarni arterijski bypass
- transplantacija srca
- miokarditis
- perikarditis
- pulmonalni embolizam

Amilaza

- *Prisutna u salivi i pankreasnom soku. Može se ekstrahovati iz žlijezda, skeletnih mišića i adipoznog tkiva*
- *Referentne vrijednosti 28–100 U/L*

Blago povećane vrijednosti:

- *Akutni holecistitis*
- *Intestinalna opstrukcija*
- *Zauške*
- *Salivarni kalkulusi*
- *Abdominalne traume*

Signifikantno povećanje:

- *Akutni pankreatitis*
- *Perforacija peptičkog ulkusa*

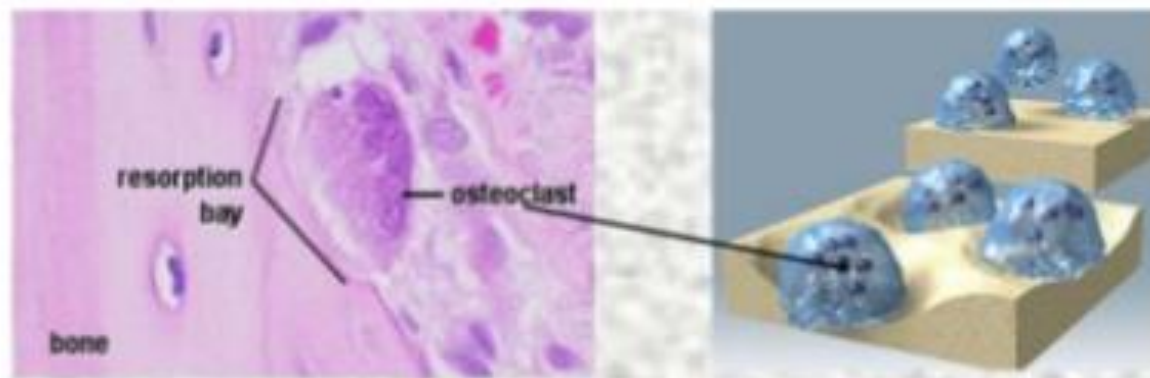
Kisela fosfataza

Ćelijska lokalizacija

- Lizosomalna ACP
 - ACP je prisutna u lizozomima, a to su organele prisutne u svim ćelijama izuzev eritrocita.
- Ekstralizosomalna ACP je prisutna u mnogim ćelijama

Distribucija u tkivima

- Najveća koncentracija ACP je u prostati, kostima (osteoklastima), slezini



Distribucija kisele fosfataze u krvi

- Eritrociti, trombociti i leukociti

Izoenzimi i izoforme kisele fosfataze

Pet tipova kisele fosfataze (4 izoenzima)

Elektroforetska pokretljivost na PAAG

1. Lizosomalna LAP **tip 3**
 - Mast ćelije
2. Prostatična kisela fosfataza PACP **tip 2b**
 - Prostata, mozak, slezina, jetra, trombociti
3. Eritrocitna EACP **tip 1**
 - Eritrociti
4. A. Makrofagna MACP **tip 5a**
 - Makrofage jetre, slezine i pluća

B. Osteoklastna OsACP **tip 5b**

 - Osteoklasti kostiju

Svojstva kisele fosfataze

- Stabilnost kisele fosfataze – nestabilna
 - Na temperaturi preko 37°C
 - Nestabilna u alkalnoj sredini, pH >7,0
 - Neke forme u serumu su labilne i više od 30 % ACP aktivnosti se gubi tokom 3 sata na sobnoj temperaturi
 - Acidifikacija seruma na pH ispod 6,5 pomaže u stabilizaciji enzimske aktivnosti.
- Uticaj jona, aktivatora i inhibitora
 - Na aktivnost ne utiču joni Mg²⁺ i Zn²⁺.
 - Aktivnost ACP stimulišu hidroksilna jedinjenja - akceptori fosfata
 - Izoenzimi ACP se međusobno razlikuju i po osetljivosti prema inhibitorima kao što su etanol, formaldehid, L-(+)-tartarat, gvožđe, bakar i fluorid.



Izoenzimi kisele fosfataze

Lizosomalna kiselna fosfataza

- Deficijencija LACP
- Autozomalno recesivno oboljenje
- Poremećaji u metabolizmu

Prostatična kiselna fosfataza

- Serumski marker kancera prostate
- U semenoj tečnosti
- Marker u forenzici za seksualne delikte
- Ranije se prostatična ili tartarat osetljiva kiselna fosfataza koristila za praćenje karcinoma prostate ali sada je u potpunosti zamenjena sa prostata- specifičnim antigenom (PSA).
- Novija ispitivanja prognostičkog značaja PACP
- Vrednosti su višestruko povećane kod karcinoma prostate

Eritrocitna kiselna fosfataza

- EACP pokazuje genetski polimorfizam
- Utvrđivanje očinstva
- Poremećaj hemolitički favizam



Klinički značaj tartarat rezistentne kisele fosfataze

Blaga ili umerena povećanja serumske TR-ACP

1. Pagetova bolest
2. Hiperparatiroidizam sa manifestacijama na kostima
3. Malignim invazijama na kostima pri kanceru dojke kod žena
4. Osteoklastoma tumor giant ćelija - osteoklastna neoplazma
5. Osteopetrosis – mermerna bolest kostiju gde osteoklasti ne mogu da resorbuju kost

Kisela fosfataza u Pagetovoj bolesti

Među bolestima kostiju umeren porast se dobija kod Pagetove bolesti (osteitis deformans)

Rezultat dejstva osteoklastnih ćelija
Povećana aktivnost u prvoj fazi, ali specifičnije je povećanje ALP

Rentgenski snimak

Osteolitička mesta na delu osteoklastne resorpcije kostiju

Sklerotična mesta na delu aktivnosti osteoblasta

