

OSNOVI ENZIMOLOGIJE

DIO 2

Bioregulatori

- Mnogi biohemijski procesi u organizmu zavise od strukture i funkcije specifičnih molekula koji se nalaze u ćeliji. Neki od njih su nazvani **bioregulatorima**.
- To su najčešće organski molekuli koji na različite načine “regulišu” ili “stimulišu” brojne biohemijske reakcije u metabolizmu. U grupu bioregulatora su svrstani *koenzimi i vitamini*.
- **Koenzimi** ulaze u sastav enzima, najčešće kao dio aktivnog centra, te na taj način direktno stimulišu katalitičku aktivnost enzima.
- **Vitamini** uglavnom ulaze u sastav koenzima.

KOENZIMI

- Većina koenzima sadrži u svojoj strukturi ***fosfornu kiselinu*** a neki sadrže i ***vitamine***, pa ih nazivamo i derivatima vitamina.
- Prema vrsti enzima u čiji sastav ulaze, sve koenzime dijelimo na:
 - ☐ koenzime oksidoreduktaza;
 - ☐ koenzime transferaza;
 - ☐ koenzime za prenos C1 jedinica;
 - ☐ koenzime za prenos C2 jedinica i
 - ☐ koenzime liaza, izomeraza i ligaza.

I. Struktura i funkcija koenzima oksidoreduktaza

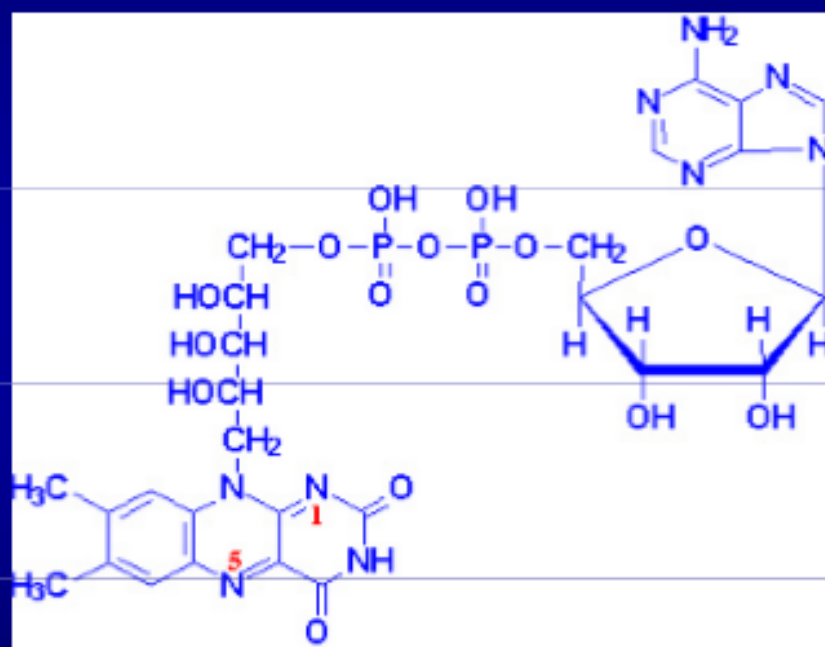
- Koenzimi oksidoreduktaza su sastojci preko stotinu specifičnih enzima, koji katalizuju oksidoredukcijske procese u ćeliji.
- Najznačajniji su:
 - ◆ *nikotinamidski nukleotidi - NAD, NADP,*
 - ◆ *flavinski nukleotidi – FMN, FAD,*
 - ◆ *ubihinoni – koenzim Q,*
 - ◆ *liponska kiselina – α -lipoinska kiselina,*
 - ◆ *citohromi (hem-proteini) – citohrom P450, i*
 - ◆ *ne-hem proteini – Fe-S protein (feredoksini).*

B3 vitamin (Niacin) sastavni dio NAD^+ i $NADP^+$

- **Niacin (Vitamin PP)** - je potreban za sintezu aktivnih oblika B3 vitamina :
 - **nikotinamid adenin dinukleotid (NAD^+)** i
 - **nikotinamid adenin dinukleotid fosfat ($NADP^+$)**.
- **Niacin-** nije vitamin u pravom smislu te riječi, jer se može dobiti iz *triptofana* ili *asparaginske kiseline*.
- Međutim, kapaciteti za sintezu niacina iz triptofana su nedovoljni i zahtijevaju prisustvo vitamina B1, B2 i B6, što može u normalnoj ishrani biti ograničavajuće.
- I NAD^+ i $NADP^+$ djeluju kao kofaktori brojnih dehidrogenaza u mitohondrijama, citosolu i EPR, kao što su: **laktat i malat dehidrogenaze**.

Riboflavin

- Riboflavin, poznat i kao **vitamin B2**. Riboflavin je prekursor koenzima, **flavin mononukleotida (FMN)** i **flavin adenin dinukleotida (FAD)**.
- Enzimi koji zahtevaju FMN ili FAD kao kofaktore označavaju se kao **flavoproteini**.
- Neki flavoproteini sadrže i jone metala i zovu se **metaloflavoproteini**.
- Obe klase enzima se uključene u različite **redoks reakcije**,
- Tokom enzimskih reakcija u koje su uključeni flavoproteini nastaju redukovani oblici FMN i FAD - FMNH_2 odnosno FADH_2 .



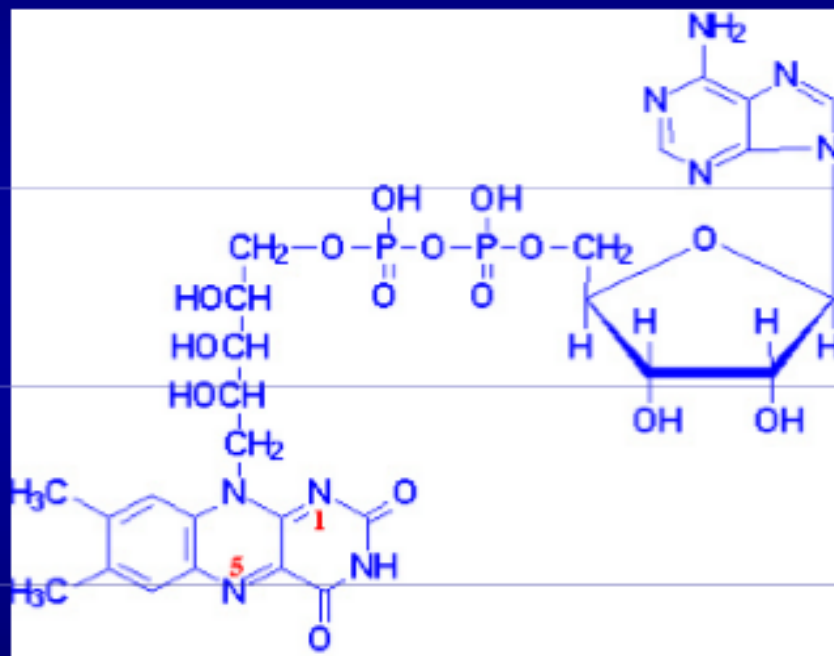
FAD i FMN su koenzimi – tipične prostetične grupe.

Vezani su kovalentno/nekovalentno za proteinski deo odgovarajuće dehidrogenaze.

Aktivan deo je izoaloksazonski prsten, koji prima i odpušta redukcione ekvivalente (može i pojedinačne e^-)

Riboflavin

- Obe klase enzima učestvuju u nizu oksidoredukcija, kao što su reakcije koje katališu
 - Sukcinat dehidrogenaza
 - Ksantin oksidaza
 - Oksidaza α -amino kiselina
 - Aldehid dehidrogenaza
 - Mitohondrijalna glicerol 3-fosfat dehidrogenaza
 - Acil-CoA dehidrogenaza
 - Dihidrolipol dehidrogenaza



C. Ubihinoni (Q; CoQ)

- **UBIHINONI (KOENZIMI Q; CoQ)** - su niskomolekularna redoks jedinjenja respiratornog lanca.
- Po hemijskom sastavu su benzohinonski derivati, koji u bočnom lancu sadrže 6-10 izoprenskih jedinica.
- *Razlažu se sporo kiseonikom, UV zracima i sunčevom svjetlosti.*

UBIHINONI (CoQ)

U raznim živim organizmima nalaze se različiti oblici koenzima Q od Co Q1 - Co Q10.

Smatra se da je **samo Co Q10** sposoban da inicira i modulira ćelijske energetske procese.

Ovaj koenzim služi kao prenosilac H koji dobija od NADH.

D. Liponska kiselina – vitamin N

- **Liponska kiselina** [Lip(S2)] – ili tioksična kiselina u bočnom lancu sadrži karboksilnu grupu.
- Koenzim je u reakcijama za ***prenos vodonika i acil-grupe***.
- Vezuje se karboksilnom grupom za **dehidrogenaze** (npr. dihidrolipoil-dehidrogenaza) ili **neke transferaze** (npr. dihidrolipoil-transferaza) i gradi **amidnu vezu**.
- Redukcijom gradi ***dihidroliponsku kiselinu*** .
- ***Obnavlja antioksidanse u organizmu (vit.C,E, glutation) i veže slobodne jone (u terapiji kod trovanja olovom i živom).***
- ***Sintetiše se u organizmu!!!!***

E. CITOHROMI (HEM PROTEINI)

- ❖ **CITOHROMI – CYP (HEM PROTEINI)** - su **porfirinski hromoproteini**, koji služe kao redoks katalizatori u respiraciji (prenose elektrone od dehidrogenaza na molekularni kiseonik -O₂).
- ❖ Sastavni dio su **svih ćelija** sa mitohondrijama i/ili drugim ćelijskim organelama.
- ❖ **Hem** je po hemijskom sastavu tetrapirolski helat sa gvožđem. Četiri pirola povezana metinskim vezama (–CH=) grade tetrapirrol ili porfirin u kojem H atomi mogu biti supstituisani.

Funkcije citohroma

- ❖ Oni deluju kao donori ili akceptori elektrona, koje preuzimaju sa koenzima Q, pri kojoj dolazi do **reverzne izmjene valence gvožđa**, koji se nalaze u centru porfirinskog kompleksa.
- ❖ Najznačajniji **citohromi u respiratornoj fosforilaciji** su:
 - citohrom c, c1 i
 - citohromi b1,b2,b3, i
 - citohromi a, a3 – **citohrom oksidaza**.
- ❖ Citohromi prenose 1 elektron, za razliku od koenzima Q koji prenosi 2 elektrona.
- ❖ Citohrom c nije vezan ni za jedan enzimski kompleks u respiratornom lancu, nego zajedno sa koenzimom Q slobodno difunduju mitohondrijalnom membranom.

Ne-hem proteini (feredoksini)

- **Ne-hem proteini (Fe-S-proteini)** - su posebna grupa redoks jedinjenja, koja sadrže **Fe-S-centre** i učestvuju u prenosu elektrona.
- Kako u svojoj strukturi **ne sadrže hem**, nazivaju se još i ne-hem proteini.
- Proteini ove grupe sadrže i **sumpor**, formirajući **Fe - S klastere (2Fe-S i 4Fe-S)**, koji su uključeni u transport elektrona u respiratornom lancu.

II. Struktura i funkcija koenzima transferaza

- ***Uloga*** koenzima transferaza jeste u prenosu ***fosfatnih grupa*** sa donora na akceptor unutar niz metaboličkih procesa.
- Najznačajniji su:
 - ◆ ***adenozin- trifosfat (ATP)***
 - ◆ ***guanozin-trifosfat (GTP)***
 - ◆ ***uridin - trifosfat (UTP)***
- ***Metabolički procesi u kojima se oslobađa energija u vidu ATP-a su:***
 - ***oksidativna fosforilacija na nivou respiratornog lanaca mitohondrija;***
 - ***glikoliza (fosforilacija na nivou supstrata);***
 - ***ciklus CTK (fosforilacija na nivou supstrata).***

Struktura i funkcija koenzima - ATP

■ **ADENOZIN-FOSFATNI** koenzimi:

- ✓ *adenozin-trifosfata (ATP),*
- ✓ *adenozin-difosfata (ADP) i*
- ✓ *adenozin-monofosfata (AMP)*

prenosioci orto- i difosfata (često pisani kao Pi i PPi). Od navedenih posebno je značajan ATP.

- **Adenozin-trifosfat (ATP)** - jedinjenje bogatog energijom (*oslobađa 34.5 kJ/mol kada prenosi orto-, odnosno 37.4 kJ/mol kada prenosi difosfat*).
- Kao koenzim, ATP ima katalitičku i regulatornu funkciju za brojne enzime, koji u zavisnosti od tipa reakcije, odnosno supstrata mogu biti **kinaze, ATP-aze, nukleotidil-transferaze itd.**

Struktura i funkcija koenzima - UTP

- **URIDIN-FOSFATI - (UTP,UDP)** su koenzimi biosintetskih reakcija šećera. Od posebnog je značaja uridin-trifosfat.
- **Uridin-trifosfat (UTP)** - jeste koenzim, enzima **glukoza-1-fosfat- uridintransferaze** (EC 2.7.7.1), zaduženog za prenos ostataka glukoze (Glc) u biosintezi saharoze.
- Učestvuje u sintezi *glikozida*.



III. Struktura i funkcija koenzima za prenos C1 ostataka

- ***C1 ostaci*** su hemijske grupe, koje sadrže jedan C atom.
- Za prenos ovih ostataka zaduženi su sledeći koenzimi:
 - ◆ S-adenozil metionin,
 - ◆ *folna kiselina*,
 - ◆ *biotin ili vitamin H*.

Struktura i funkcija koenzima SAM

- **S-adenozil metionin (SAM)** - je reaktivno sulfonijum jedinjenje, koje ima funkciju koenzima prenosioca **metil-grupe** (CH_3) u C1-metabolizmu.
- Koenzim učestvuje u reakcijama **metilovanja** supstrata, pod dejstvom enzima **metil transferaze**, pri čemu SAM prelazi u **S-adenozil homocistein**.

Struktura i funkcija koenzima folna kiselina

- **Folna kiselina (B9)** - konjugovani molekul se sastoji od pteridinskog prstena vezanog za para-amino benzojevu kiselinu (PABA), pri čemu nastaje **pteroična kiselina**. Sama folna kiselina se dobije konjugacijom pteroične kiseline sa glutaminskom kiselinom.
- Čovjek nije u mogućnosti sintetisati folnu kiselinu, ali je unosi hranom i deponuje u jetri.
- Redukovan oblik folne kiseline (**tetrahidrofolna kiselina, FH4**), nastaje u ćelijama djelovanjem **enzima dihidrofolat reduktaze**, koji zahtjeva **NADPH**.
- Značajna je u biosintezi **purina i pirimidina, serina, histidina i metionina**.

*Struktura i funkcija koenzima **biotina***

- ***Biotin je derivat imidazola.***
- **Biotin**
 - široko je zastupljen u namirnicama
 - mogu ga **sintetisati intestinalne bakterije**, tako da su deficiti ovog vitamina rijetki.
- **Deficiti** se uglavnom javljaju nakon ***dugotrajne antibiotske terapije***, koja remeti crijevnu floru ili nakon ***dugotrajnog konzumiranja sirovih jaja*** (AVIDIN, protein bjelanceta pokazuje jak afinitet ka biotinu - nastali kompleks se ne apsorbuje u tankom crijevu).

*Struktura i funkcija koenzima **biotina***

- **Biotin** - **nosač karboksilne grupe** (CO_2), u reakciji karboksilacije, gdje je prostetična grupa enzimima **karboksilaza i karboksil-transferaza**.
- *Redukovani oblik biotina je **biocitin**.*
- **Značaj u:**
 - sintezi masnih kiselina,
 - rastu ćelija,
 - glukoneogenezi i
 - metabolizmu masti i aminokiselina.
- *Poznat je po najjačoj protein-ligand interakciji – veže čvrsto **AVIDIN** (detekcija bioloških eukariotskih procesa).*

*Struktura i funkcija koenzima
za prenos C2 i više ostataka*

- Ovi koenzimi omogućavaju prenos hemijskih grupa sa dva i više C atoma.
- Najznačajni su:
 - ❖ tiamin-pirofosfat (TPP)
 - ❖ koenzim A (CoA).

*Struktura i funkcija koenzima **TPP**- vitamin B1*

- **Tiamin** je sačinjen od supstituisanog pirimidina i tiazola, međusobno povezani metilenskim mostom.
- **Tiamin** se brzo prevodi u svoj aktivni oblik, **tiamin pirofosfat-TPP**, u mozgu i jetri, pod dejstvom enzima tiamin difosfotransferaza.
- TPP je neophodan kao kofaktor enzima za prenos aktivirane aldehidne jedinice:
 - **piruvat dehidrogenaze,**
 - **alfa-ketoglutarat dehidrogenaze,**
 - **transketolaze (heksozo monofosfatni put).**

*Struktura i funkcija koenzima **acetil - CoA***

- Acetil - Co A jeste derivat **pantotenske kiseline ili vitamina B5**.
- Acetil-CoA ulazi u sastav proteina nosača - acil ostatka (**acyl carrier protein - ACP**), koji je u sastavu **sintaze MK**.
- **Postoji najmanje 70 enzima** za čije funkcionisanje su neophodni CoA ili ACP.

Najvažnije reakcije CoA

1. ***Oksidativna dekarboksilacija piruvata*** (I faza proizvodnje energije u mitohondrijama)
2. ***Oksidativna dekarboksilacija α – ketoglutarata*** (IV faza Krebsovog ciklusa)
3. ***Aktivacija masnih kiselina***
4. ***Sinteza acetil – CoA*** od oksidacije masnih kiselina (IV faza β - oksidacije)
5. ***Katabolizam acetata*** (iz etilnog alkohola) u hepatocitima

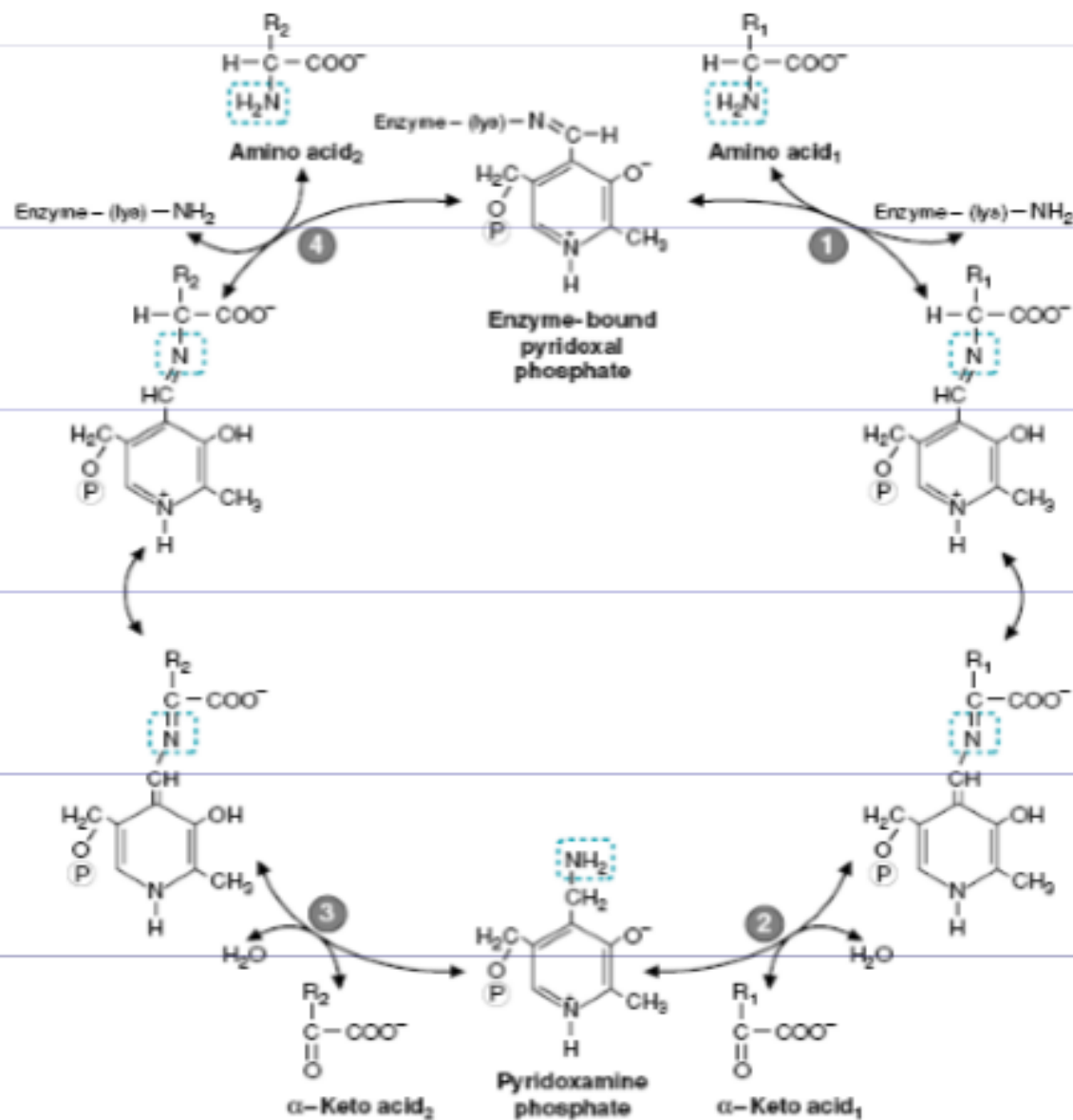
IV. Struktura i funkcija koenzima za prenos specifičnih jedinjenja

Jednim imenom se označavaju Vitamin B6:

- **piridoksal**
- **piridoksamin i**
- **piridoksin.**

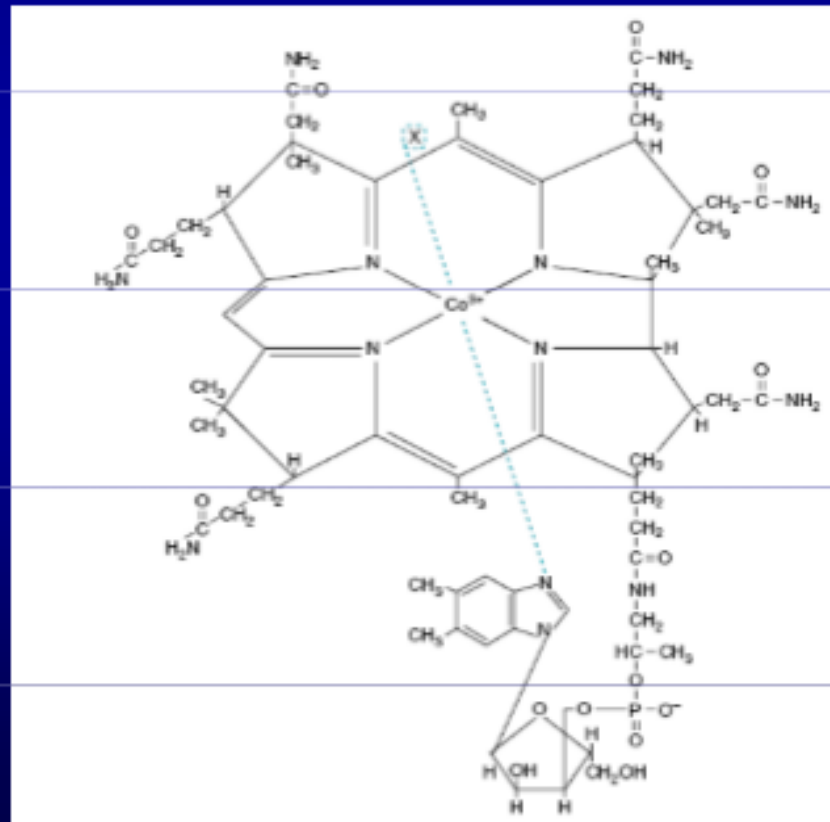
- Sva tri jedinjenja se efikasno prevode u biološki aktivni oblik vitamina B6 - **piridoksal fosfat (PLP)**, uz aktivnost enzima **piridoksal kinaze**.
- Koenzim je enzima **transaminacije, dekarboksilacije i aktivnosti aldolaze (racemizacije)**.

TRANSAMINACIJA



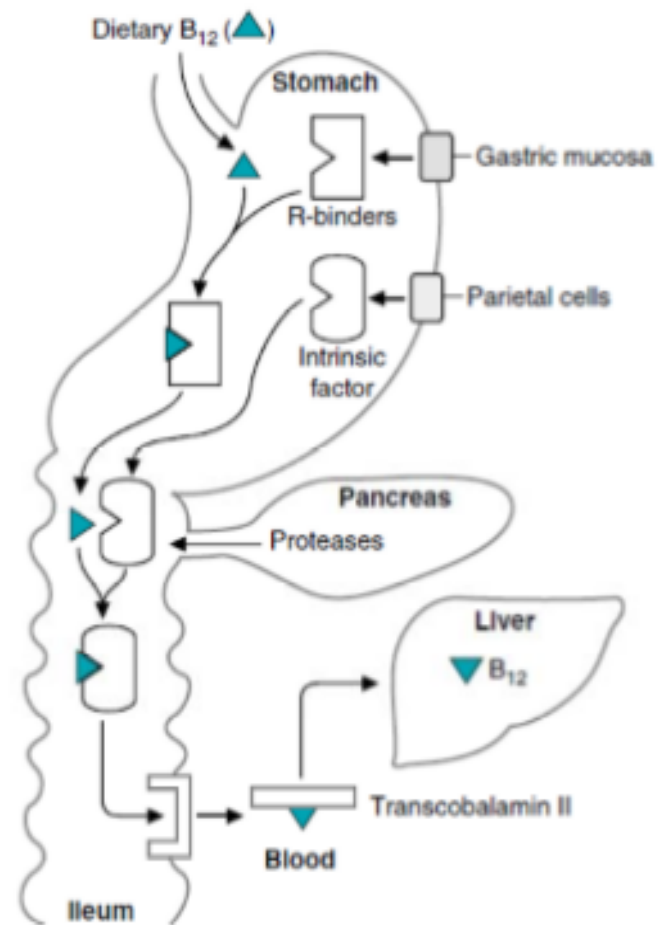
Kobalamin

- **Vitamin B12.**
- Vitamin B12 sačinjavaju kompleks tetrapirolskog prstena (korinski prsten) i jon kobalta u centru.
- Vitamin B12 **sintetišu isključivo mikroorganizmi** i u jetri se nalazi vezan za protein kao
 - **metilkobalamin** ili
 - **5'-deoksiadenozilkobalamin.**



Kobalamin

- Mora se odvojiti od proteina da bio aktivan.
- Hidroliza se odvija u želucu (HCl) ili u crevima (tripsin) nakon uzimanja mesa.
- Slobodan vitamin B12 se vezuje za transkobalamin I (haptokorin)
- Vitamin se zatim vezuje za **unutrašnji faktor**, protein koji sekretuju parijetalne ćelije u želucu, i prelazi u **ileum** gde se apsorbuje.
- Nakon apsorpcije vitamin se prenosi do jetre, a u krvi je vezan za **transkobalamin II**.



Kobalamin

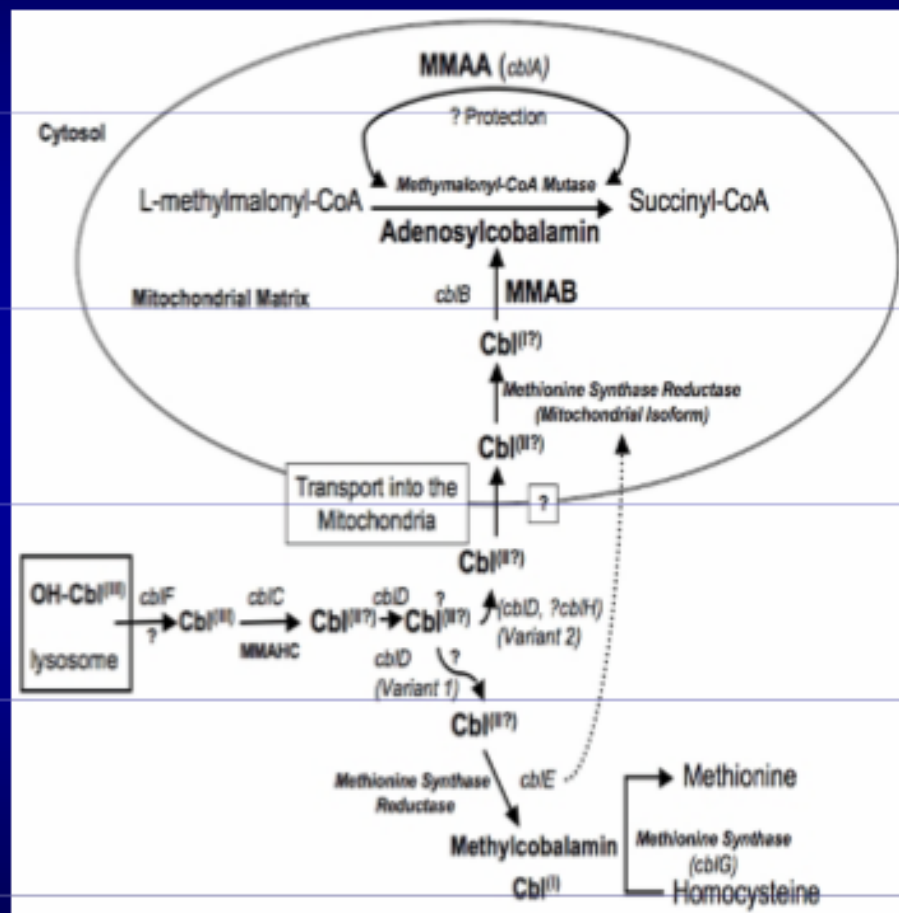
Postoje samo dve **klinički važne** reakcije u organizmu koje zahtevaju vitamin B12 kao kofaktor.

Jedan od enzima je **metilmalonil-CoA mutaza**, zahteva 5'-deoksiadenozin derivat kao kofaktor u prevođenju metilmalonil-CoA u sukcinil-CoA.

- Katabolizam MK sa neparnim brojem C atoma i AK valina, izoleucina i treonina daje propionil-CoA koji se prevodi u sukcinil-CoA koji se može oksidovati u Krebsovom ciklusu.

Druga reakcija je **prevođenje homocisteina u metionin** i katališe ga **metionin sintaza**.

- U reakciji dolazi do prenosa metil grupe sa N5-metiltetrahidrofolata na hidroksikobalamin i nastaju tetrahidrofolat (THF) i metilkobalamin.



Klinički značaj deficita vitamina B12

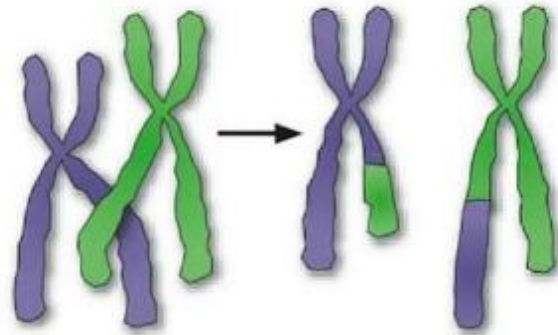
Depoi vitamina B12 u jetri su dovoljni za period do 6 godina, pa su deficiti retki.

Deficiti dovode do

- **Perniciozne anemije**
- **Neuroloških komplikacija**

POJAM IZOENZIMA

Gene duplication



Isoenzymes

Varied amino acid sequence

POJAM IZOENZIMA

- Ista hemijska reakcija (isti supstrat, isti proizvod)
- Ali
- Različita lokacija u genu;
- Različita sekvenca AK (primarna struktura)
- Različita tercijarna struktura (konformacija)
- Različita fiziko-hemijska svojstva (K_m , V_{max} , optimalna temperatura, optimalan pH i sl.)

KLINIČKI VAŽNI ENZIMI

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

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

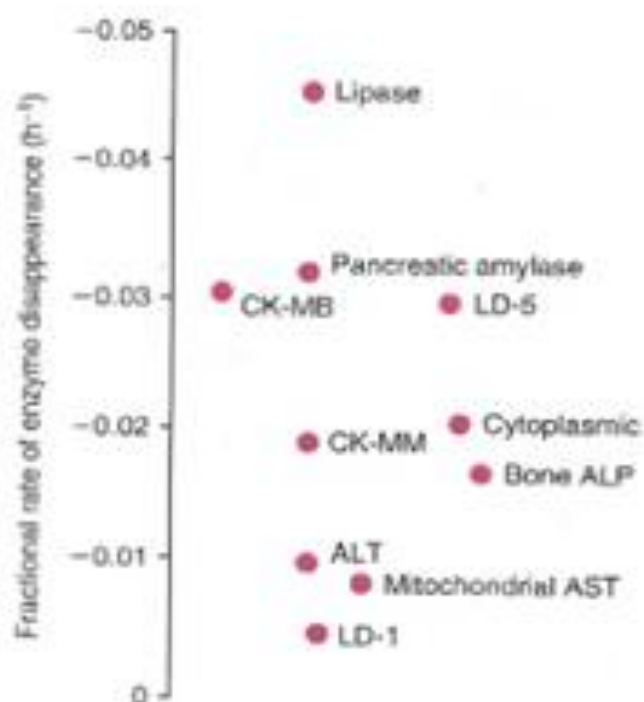
Poluživot enzima



- 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



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

Amilaza (α -1,4 glukano-4 glukano hidrolaza, EC 3.2.1.1)

Pripada klasi **hidrolaza**, katalizuje hidrolizu **1,4 α -glikozidnih veza** u polisaharidima.

Ona je **kalcijum**-metaloenzim (kalcijum neophodan za funkcionalni integritet), a puna aktivnost u prisustvu **Cl⁻**.

Molekularna masa: 55-60 hiljada

Prolazi glomerularnu membranu. **JEDINI ENZIM SERUMA KOJI SE NORMALNO NALAZI U URINU!**

Nalazi se u brojnim tkivima i organima, prije svega u PANKREASU (40%) i PLJUVAČNIM ŽLIJEZDAMA (60%). Vrlo mala aktivnost nađena u testisima, ovarijumima, jajovodima, suzama i mlijeku. Neki tumori pluća i ovarijuma mogu lučiti male količine amilaze. Nema aktivnosti u jetri.

Amilaza (α -1,4 glukano hidrolaza, EC 3.2.1.1)

Enzim u **serumu i urinu** je porijeklom iz:

PLJUVAČKE i **PANKREASA**.

Enzim u **urinu** je porijeklom iz plazme, a ascit i pleuralna tečnost mogu sadržati amilazu usljed prisustva tumora ili u sklopu pankreatitisa.

Govorimo o dva prava **izoenzima**:

P – pankreasna amilaza

S – salivarna amilaza

Optimum pH: 6,9-7,0.

Najznačajniji je marker akutnog pankreatitisa!

Akutni pankreatitis

Uzroci:

1. **Alkoholizam**
2. **Žučni kamenci**
3. **Hiperlipidemija**
4. **Hiperkalcemija**
5. **Ishemija**
6. **Ostali**



- povećanje aktivnosti posle 2 - 12 sati
- maksimum posle 12 - 72 sata
- vraćanje na normalu posle 3 - 4 dana

Aktivnost povećana u serumu 4 - 6 puta

- nije u korelaciji sa težinom oboljenja, ali veće aktivnosti ukazuju na ovo oboljenje; u 20 % slučajeva aktivnost enzima normalna

Aktivnost amilaze u urinu bolji pokazatelj

- češće povećana, veće povećanje, duže povećana.

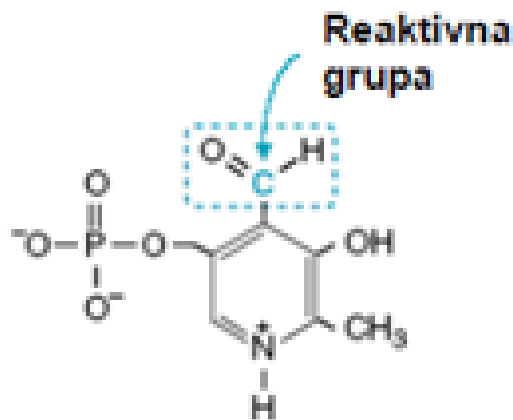
Aminotransferaze

Aspartat aminotransferaza **AST**

(ranije: glutamat oksalacetat transferaza GOT)

Alanin aminotransferaza **ALT**

(ranije: glutamat piruvat transaminaza GPT)

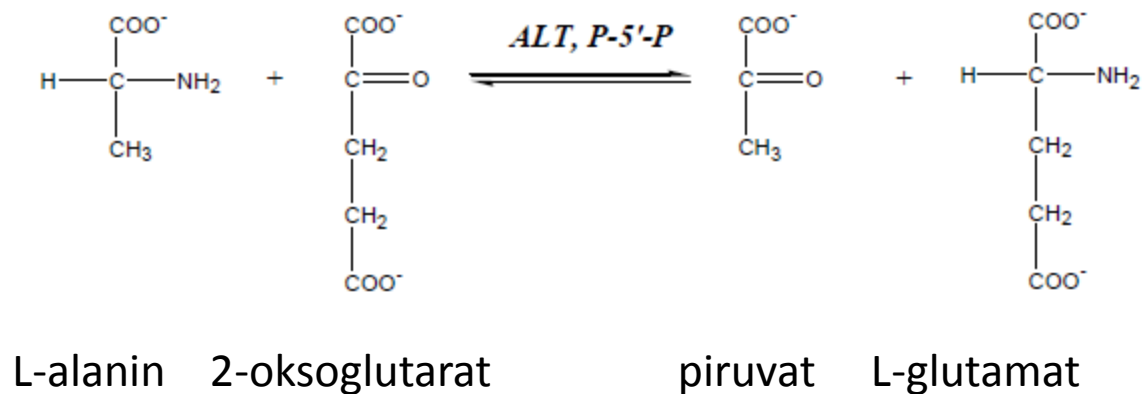
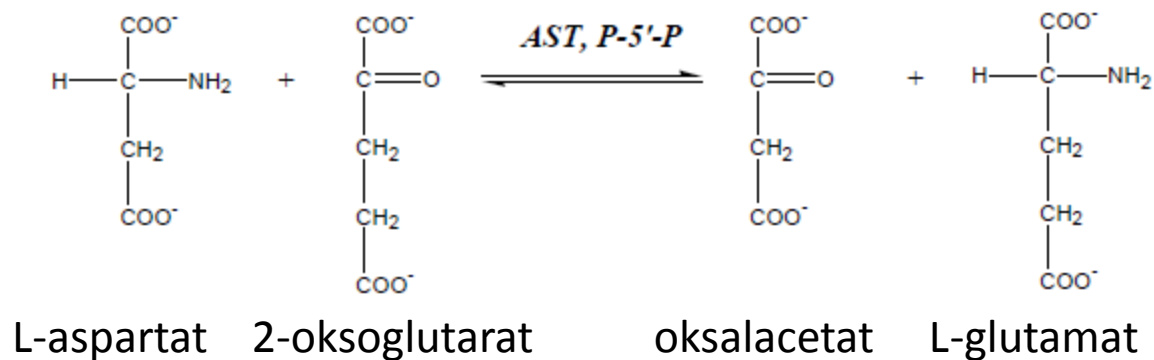


Piridoksal fosfat (PLP)

Koenzim transaminaza je
piridoksal fosfat (PLP)

Aminotransferaze

AST i ALT katalizuju sljedeće biohemijske reakcije:



Aminotransferaze

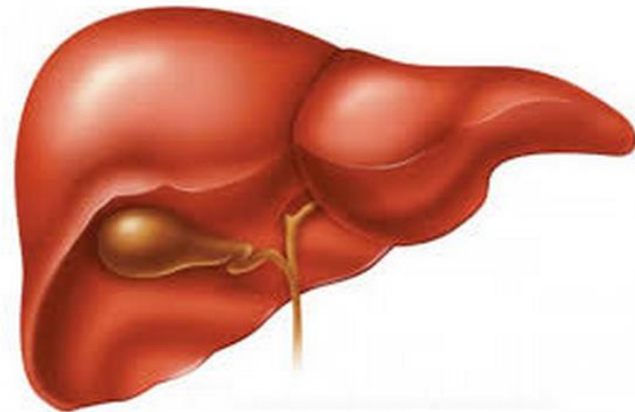
AST i ALT su normalno prisutne u:

- ☐ plazmi
- ☐ žuči
- ☐ cerebrospinalnoj tečnosti
- ☐ pljuvački

Nema ih u urinu, sem ako postoji lezija bubrega.

Povećanje aktivnosti AST i ALT postoje usljed:

- ✓ Oštećenja jetre
- ✓ Infektivne mononukleoze
- ✓ Akutnog infarkta miokarda
- ✓ Primjene nekih lijekova (statini!)



ALT – samo u citosolu

AST – i citosolna i mitohondrijalna

ALT i AST

$$\text{De – Ritisov koeficijent} = \frac{\text{ALT}}{\text{AST}}$$

AST (=GOT)



ALT (=GPT)



Normalno: <1

>1 = manje oštećenje hepatocita; obično reverzibilne promjene

<1 = veće oštećenje hepatocita; obično ireverzibilne promjene; oslobađanje mtAST

Visoka aktivnost AST u srčanom mišiću => AIM = visok porast aktivnosti AST

Porast: 6-8h

Pik: 18-48h

Normalizacija: 4-5 dana

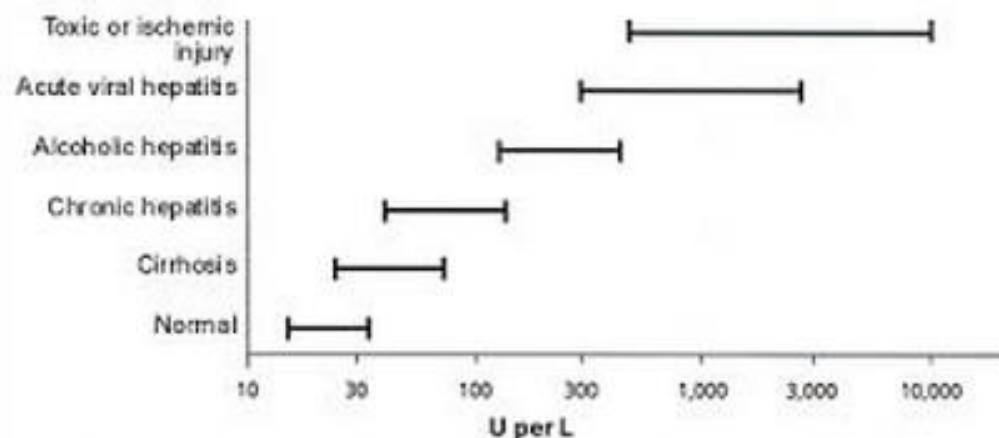
AST

Aktivnost AST (ponekad i ALT) u serumu će biti povećana usljed:

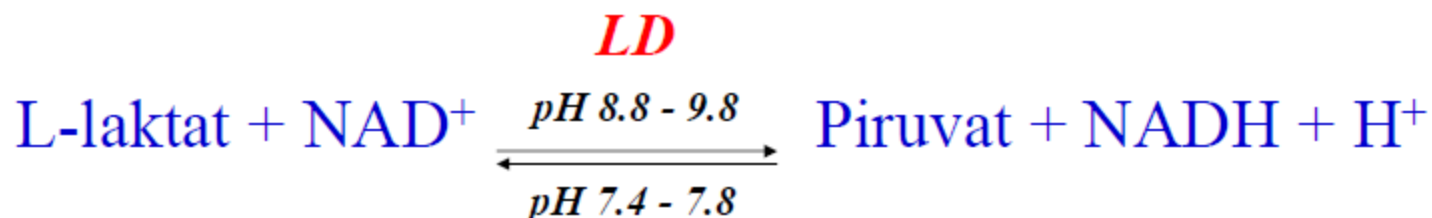
- nekih oboljenja mišića (npr. dermatomiozitis)
- plućnoj tromboemboliji
- akutnom pankreatitisu
- gangreni
- hemolitičkim bolestima
- „crush,, povredama mišića

Izoenzimi AST-a se mogu razdvojiti:

- elektroforezom
- imunohemijskim metodama
- hromatografijom
- diferencijalno – kinetičkim metodama



Laktat dehidrogenaza (LDH)



2 tipa subjedinica: **M** (ili A) i **H** (ili B) čija je struktura određena lokusima na hromozomima 11 i 12.

5 izoenzima

LDH-1 (HHHH; H_4)

LDH-2 (HHHM; H_3M)

LDH-3 (HHMM; H_2M_2)

LDH-4 (HMMM; HM_3)

LDH-5 (MMMM; M_4)

LDH je prisutna u svim ćelijama, i to u citosolu!

Laktat dehidrogenaza (LDH)

Različita je distribucija izoenzima u tkivima:

- Srčani mišić
 - Bubrezi
 - Eritrociti
- } LDH -1
LDH -2
- Jetra
 - Skeletni mišići
- } LDH -4
LDH -5
- Endokrine žlezde, slezina,
pluća, limfni čvorovi,
trombociti,
negravidni uterus
- } LDH -3

Laktat dehidrogenaza (LDH)

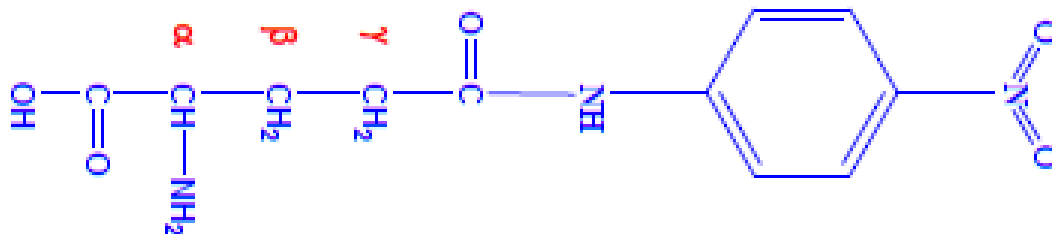
LDH nije tkivno specifičan enzim - ukupna aktivnost u serumu je povećana u velikom broju oboljenja.

Aktivnost **umereno** povećana :

- miokarditis
- srčana insuficijencija sa kongestijom jetre
- težak šok i anoksija
- hemoliza - profil promena izoenzima kao kod AIM
- megaloblastna anemija (50 puta u odnosu na gornju norm. vrednost)
- bolesti jetre
- bolesti bubrega
- maligne bolesti
- progresivna mišićna distrofija (LD-5)
- plućna embolija (LD -3)

Gama glutamil transferaza (GGT)

Katalizuje transfer **γ glutamil grupe** (sa peptida i jedinjenja koja ovu grupu sadrže) na neki akceptor. Djeluje samo na peptide i peptidima slična jedinjenja koja sadrže terminalni glutamil ostatak vezan za preostali dio jedinjenja preko terminalne γ – karboksilne grupe.



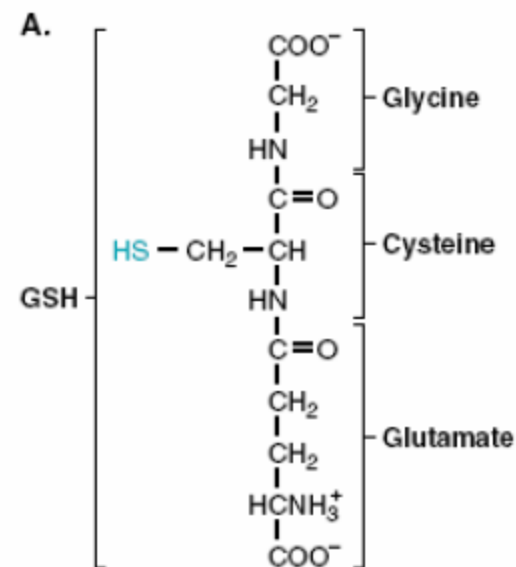
Gama glutamil transferaza (GGT)

GGT je prisutna u:

- serumu
- svim ćelijama (osim mišića)

Veća frakcija enzima je locirana u membranama, a manje frakcija se nalazi u citosolu!

GGT može učestvovati u nekim aspektima metabolizma glutationa!

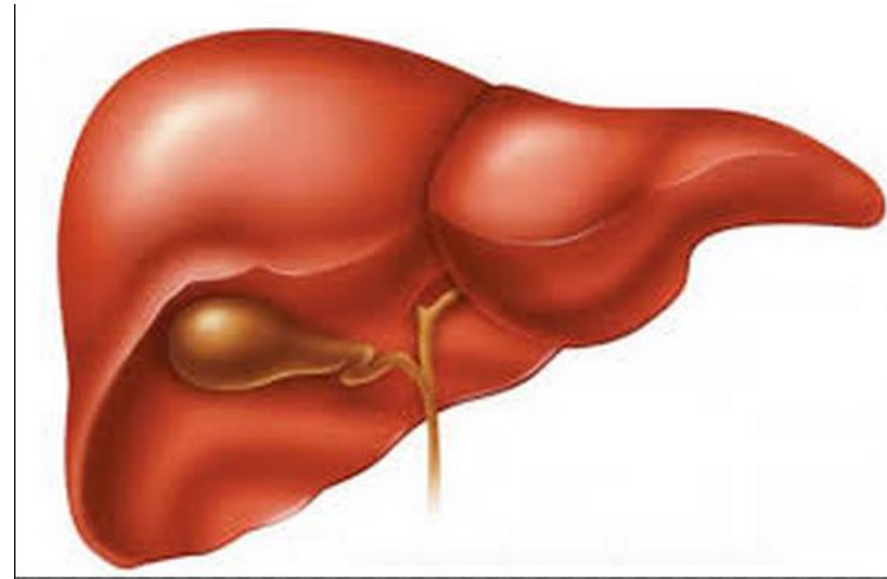


GGT

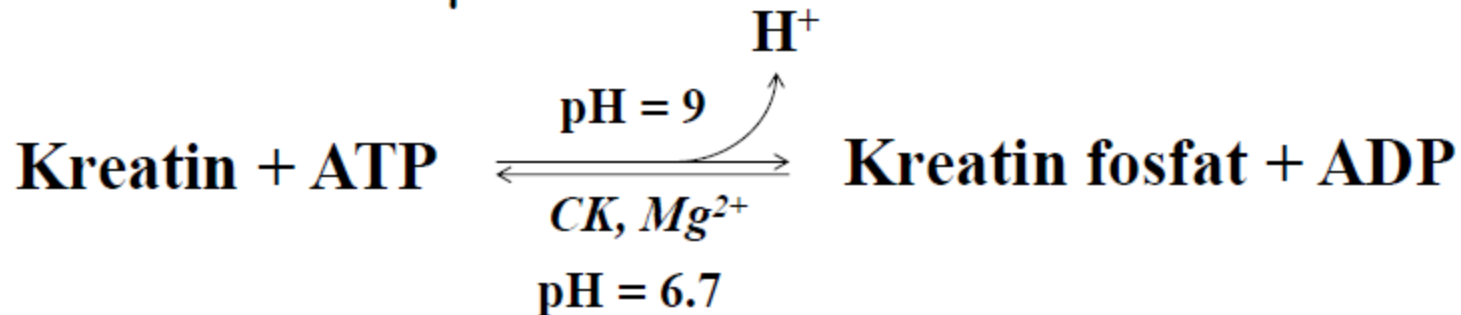
- GGT u serumu je primarno porijeklom iz hepatobilijarnog sistema.
- Najviši porast aktivnosti u slučajevima:
 - Intrahepatičneolestaze
 - Ekstrahepatičneolestaze
 - Primarnih i sekundarnih tumora
- Senzitivnija od ALP i transaminaza u detekciji opstruktivne žutice!

GGT

- Umjereni porast u slučajevima:
 - Infektivnog hepatitisa
 - Masne jetre
 - Intoksikacije lijekovima
 - ALKOHOLIZAM
 - Alkoholna ciroza ...
 - Akutni pankreatitis
 - Karcinomi pankreasa
 - Tumori prostate...



Kreatin kinaza (CK)



Dimer građen od dvije subjedinice:

B (brain) i **M** (muscle)

Prema tome, ima **3 izoenzima**:

BB (CK-1) **MB** (CK-2) **MM** (CK-3)

Izoenzimi su označeni na osnovu elektroforetske pokretljivosti (CK-1, CK-2 i CK-3), tako da forma koja se kreće najbrže ka anodi ima najmanji broj.

Otkriven je i **četvrti izoenzim MiMi** – između spoljašnje i unutrašnje membrane mitohondija u miokardu i skeletnim mišićima.

Kreatin kinaza (CK)

- Najviša aktivnost nađena u:
 - Poprečno – prugastim mišićima
 - Srcu
 - Mozgu

Aktivnost u jetri je praktično nemjerljiva.

Prema tome, aktivnost CK će biti povećana u oboljenjima:

- Skeletnih mišića (miš. distrofija; virusni miozitis, polimiozitis i sl.)
- Srca (AIM, miokarditis, perikarditis i sl.)
- CNS-a (Reyeov sy, trauma glave, SAH, i sl.)
- Štitaste žlezde (hipotireoidizam – povećanje od 5x do 50x)

CK – akutni infarkt miokarda

- **Najznačajnije povećanje aktivnosti CK-2**
- **Aktivnost se povećava 3 - 8 sati** (6 sati najčešće) od nastanka bola u grudima
- **Maksimum** posle **10 - 24 sata** (20 sati najčešće)
- **Normalizacija** nivoa posle **3 - 4 dana** (obično 4)

Poluživot CK-2 - 12.5 sati tako da je određivanje značajno u prvih 48 sati od sumnje na infarkt.

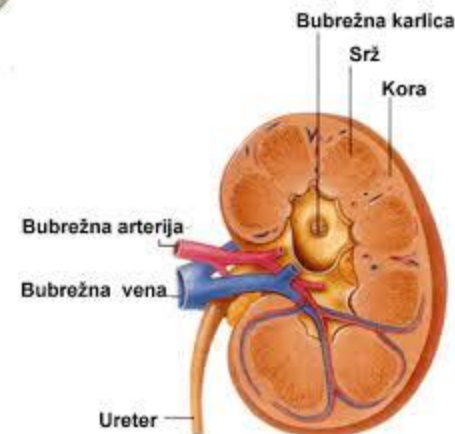
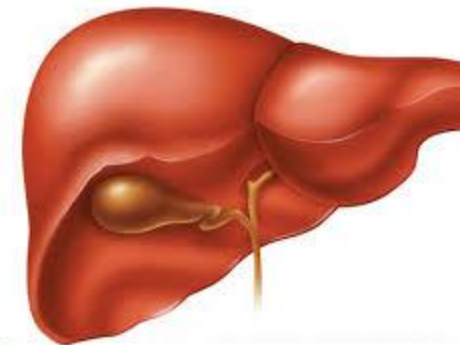
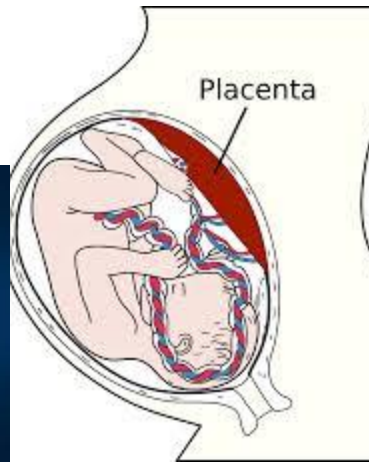
Određivanje je značajno za **ranu dijagnozu infarkta**, utvrđivanje njegove **veličine** i posebno u **ranoj detekciji re-infarkta**.

CK – akutni infarkt miokarda

- Aktivnost CK iznad 160 U/L (određena CK-NAC akt. metodom) i CK-2 koji prelazi 6% ukupne aktivnosti ukazuju da postoji sumnja na infarkt miokarda.
- Kod ostalih oboljenja koja povećavaju aktivnost CK-2 (zapaljenja mišića, neurohirurške i abdominalne operacije, oboljenja tireoideje, nakon koronarne angiografije, kateterizacije itd.) aktivnost CK-2 može biti povećana ali ne prelazi 6 % ukupne aktivnosti CK.

Alkalna fosfataza (ALP)

- Katalizuje alkalnu hidrolizu estarske veze fosforne kiseline na velikom broju prirodnih i vještačkih supstrata.
- Nalazi se u svim ćelijama u tijelu, posebno **na ili u membranama**.
- Visoku aktivnost ALP pokazuje u:
 - intestinalnom epitelu
 - kanalima bubrega
 - kostima (osteoblasti)
 - jetri
 - placenti



Alkalna fosfataza (ALP)

- Govorimo o **5 izoenzima** alkalne fosfataze:
 - Tkivno nespecifični (bubrezi, jetra, kosti...)
 - Placentalni
 - Placentalni slični
 - Intestinalni
 - Tumorski
- Iako metabolička funkcija nije u potpunosti poznata, izgleda da je enzim povezan sa:
- transportom lipida u crijevima
 - procesom kalcifikacije u kostima

Alkalna fosfataza (ALP)

Mg^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} - aktivatori

Zn^{2+} - ulazi u sastav enzima

Potreban je adekvatan odnos Mg^{2+}/Zn^{2+}

Enzim u **serumu** je porijeklom iz:

- **Jetre** (uglavnom)
- **Kostiju** (do ½ aktivnosti)
- **Crijeva** (vrlo mala aktivnost)

Enzim u **urinu** je porijeklom iz bubrežnog tkiva (ali nije dio serumskog enzima koji se filtrira)

Alkalna fosfataza – klinički značaj

- Fiziološki uslovi u kojima je povećana aktivnost ALP:
 - Intenzivan rast dugih kostiju (djeca)
 - Zarastanje preloma dugih kostiju
 - Trudnoća (posebno posljednji trimestar)



Alkalna fosfataza – klinički značaj

Mjerenje aktivnosti ALP ima za cilj detekciju 2 grupe oboljenja:

- Oboljenja jetre i žučnih puteva (holestaza!)
- Oboljenja kostiju povezana sa osteoblastnom aktivnosti

- Holestaza

- Odgovor jetre na holestazu je indukcija sinteze ALP!
 - Intrahepatička holestaza (npr. invazija Ca)
 - Ekstrahepatička holestaza (npr. karcinom glave pankreasa)

Alkalna fosfataza – klinički značaj

- Bolesti kostiju
 - Pagetova bolest
 - Rahitis
 - Osteomalacija
 - Osteogeni tumori kos
 - Primarni i sekundarni hiperPTH



