

# **Plazma enzimek analízise**

**Kőszegi Tamás**

**PTE KK Laboratóriumi Medicina  
Intézet**

# **Az enzimek biokémiai sajátságai**

**Enzimek - Fehérjék**

**Aktivitás: poszttranszlációs módosulások**

**prosztetikus csoportok**

**aktivációs mechanizmusok**

**(proteolízis, karboxiláció, stb)**

**inaktivációs mechanizmusok**

**(proteolízis, antiproteáz, stb)**

# A vérplazma enzimei eredetük szerint

**Eredet:** sejtalkotó (transzamináz, glikolízis, kreatin kináz, stb)

termék (alvadási faktorok, pseudo-kolinészteráz, amiláz, stb)

**Aktivitás változása szöveti károsodáskor**

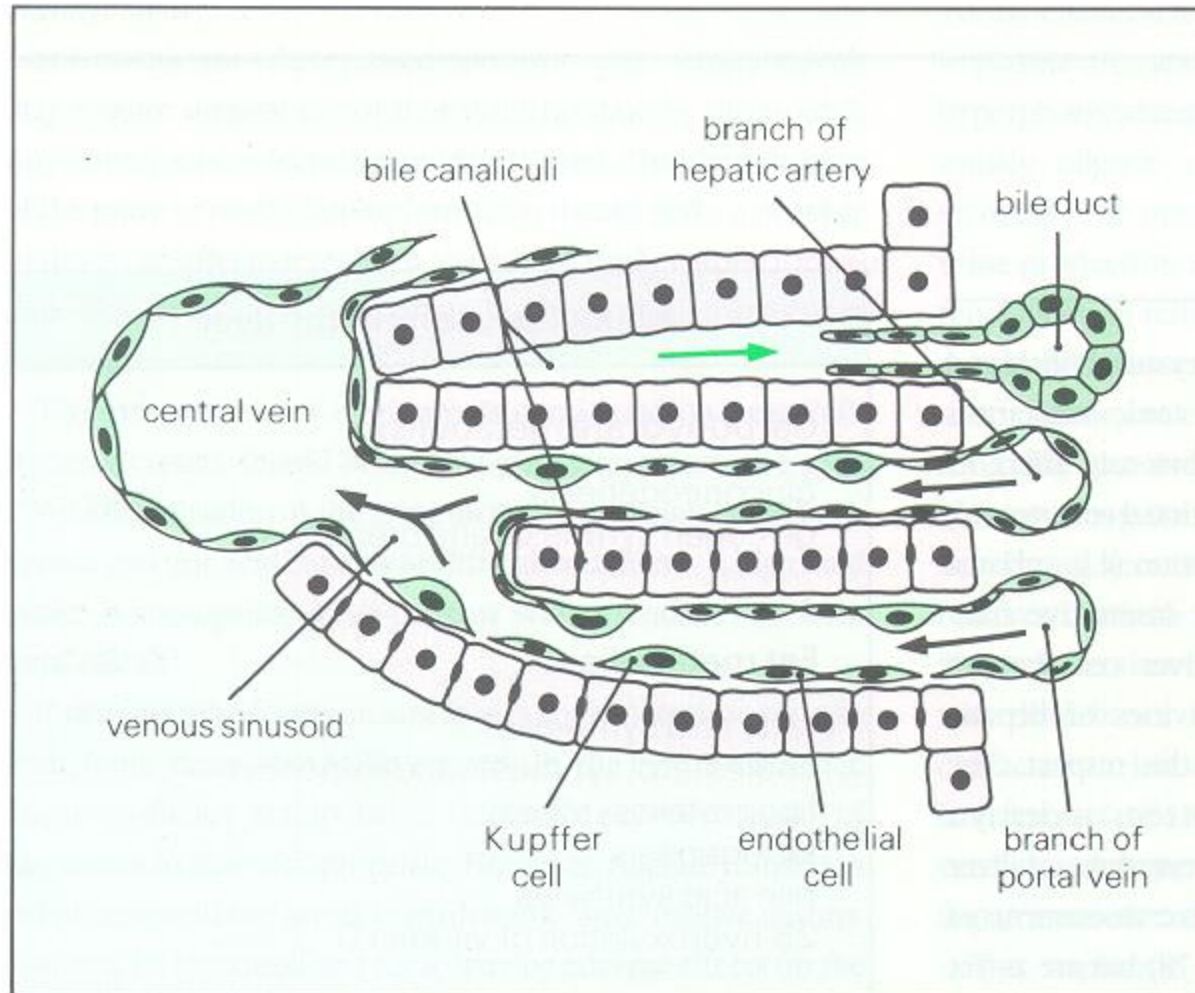
sejtalkotó - emelkedés

termék - csökkenés

# **Miért vannak enzimek a vérplazmában?**

- **Funkciót töltenek be (termékek)**
- **Normális sejt turnover (apoptózis, újdonsképződés) során kerülnek bele (termék + sejtalkotó)**

# A máj mikro-szerkezete, a bekerülés útjai



# Mitől függ a referencia tartomány?

- Szintézis sebessége - szekréción
- Vérellátás
- Sejt turnover - életkor!
- Izoenzimek jelenléte
- Terhesség
- Nem
- ??????

# Enzimek felosztása

**Oxidoreductases (EC Class 1)**

**Transfer electrons (RedOx reactions)\**

**Transferases (EC Class 2)**

**Transfer functional groups between molecules**

**Hydrolases (EC Class 3)**

**Break bonds by adding H<sub>2</sub>O**

**Lyases (EC Class 4)**

**Elimination reactions to form double bonds**

**Isomerases (EC Class 5)**

**Intramolecular rearrangements**

**Ligases (EC Class 6)**

**Join molecules with new bonds**

# Az enzimek kimutatási lehetőségei

Enzimek - Fehérjék

Fehérje - specifikus antitest (tömeg/térfogat)

**nem mond semmit az aktivitásról!**

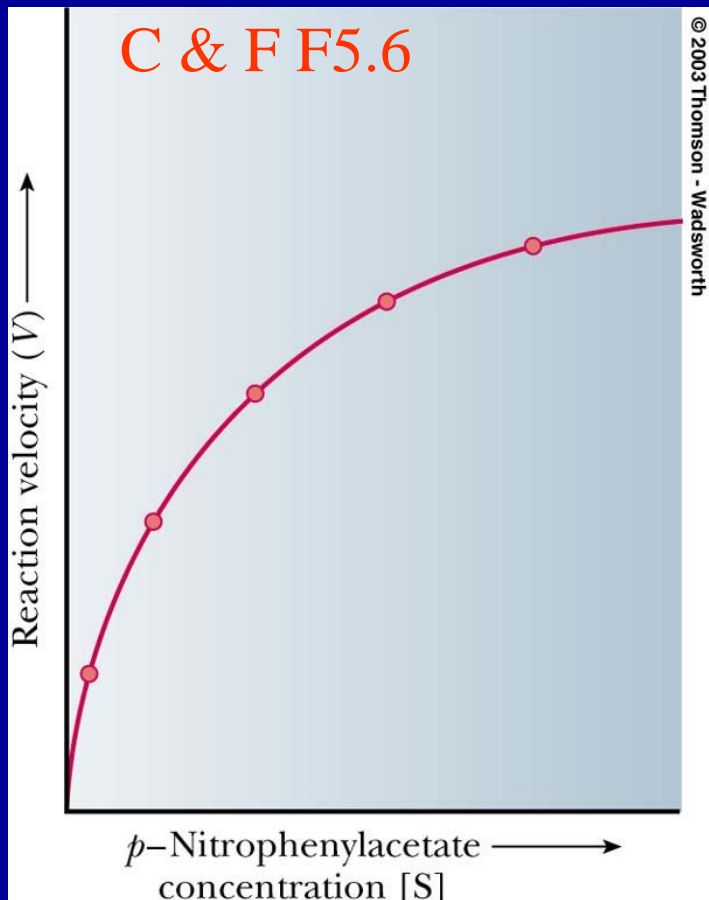
Aktivitás - funkcionális próba (szubsztrát,

detektáló reakció, IU/l v. kat/l)

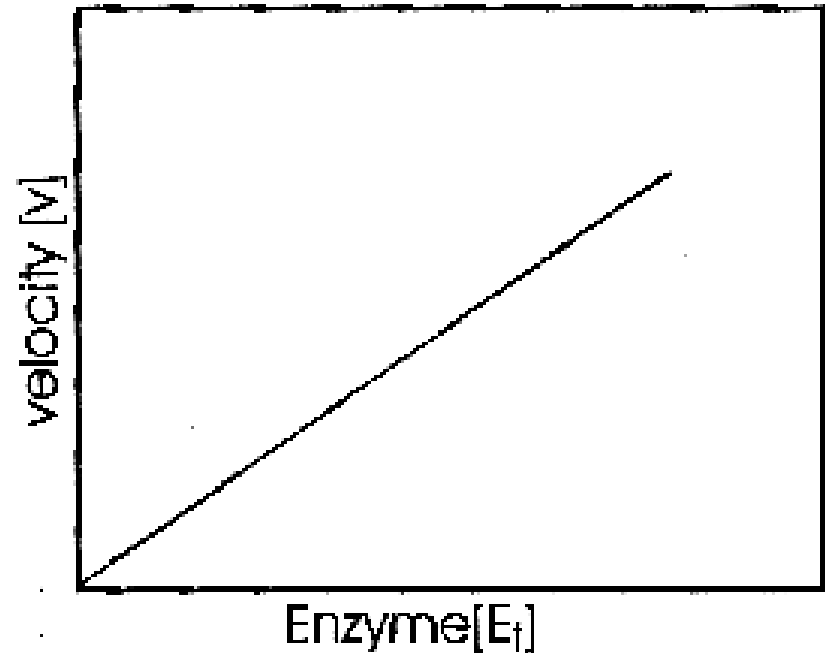
**nem mond semmit a koncentrációról!**



# Egy “egyszerű” enzim reakció



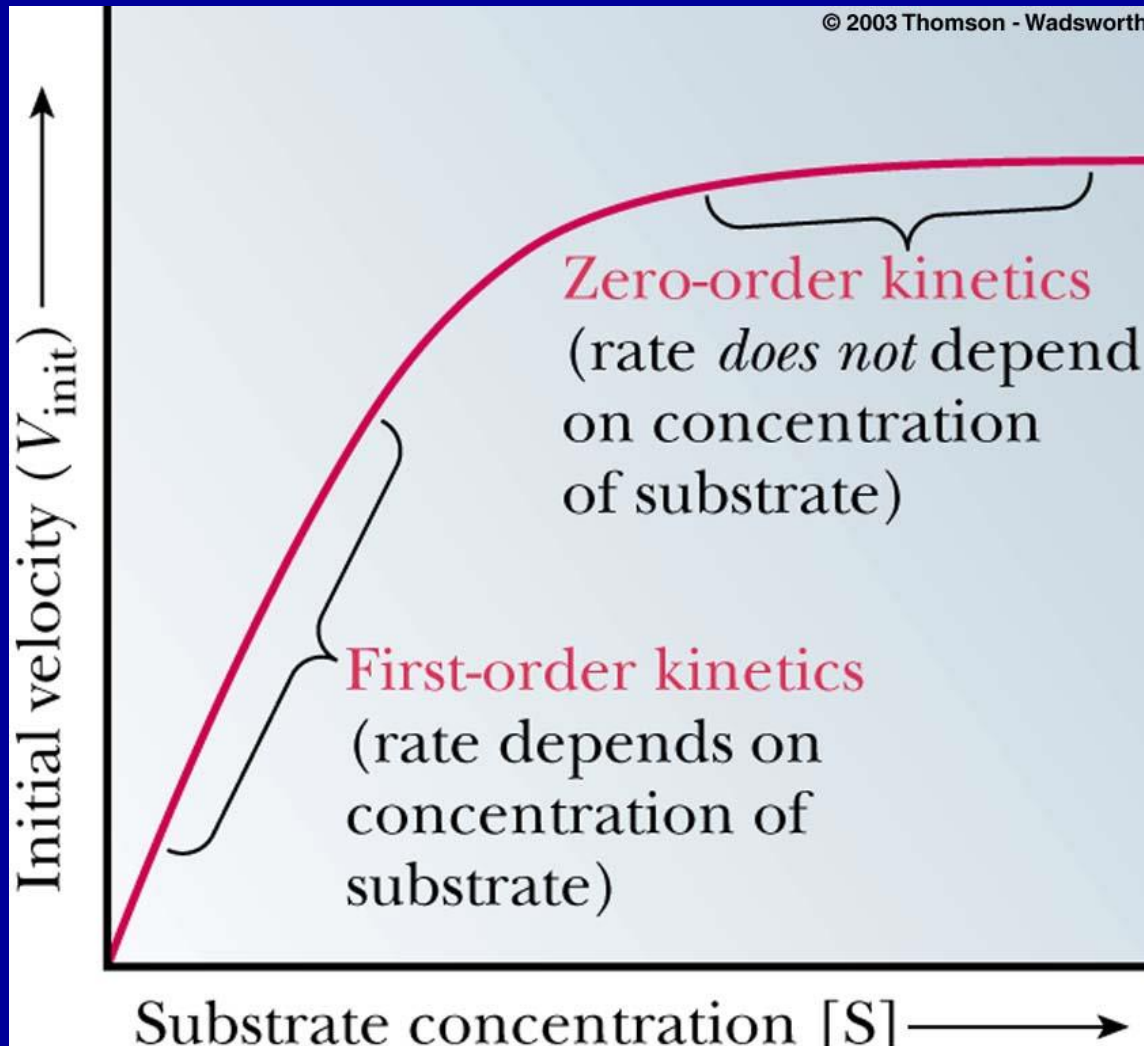
A plot of velocity,  $v$ , versus substrate [S] is a rectangular hyperbola (may be sigmoidal for a complex enzyme)



A plot of velocity,  $v$ , versus enzyme concentration, [E] is linear – we say the reaction is 1<sup>st</sup> order in E

# $v$ versus $[S]$ enzim reakcióban

C & F 5.8



$[E]$  is held constant. Shows how nature of kinetics changes as  $[S]$  increases

# A Michaelis-Menten egyenlet

$$v = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$K_m$  is the Michaelis constant.

$V_{\max}$  is the maximum velocity

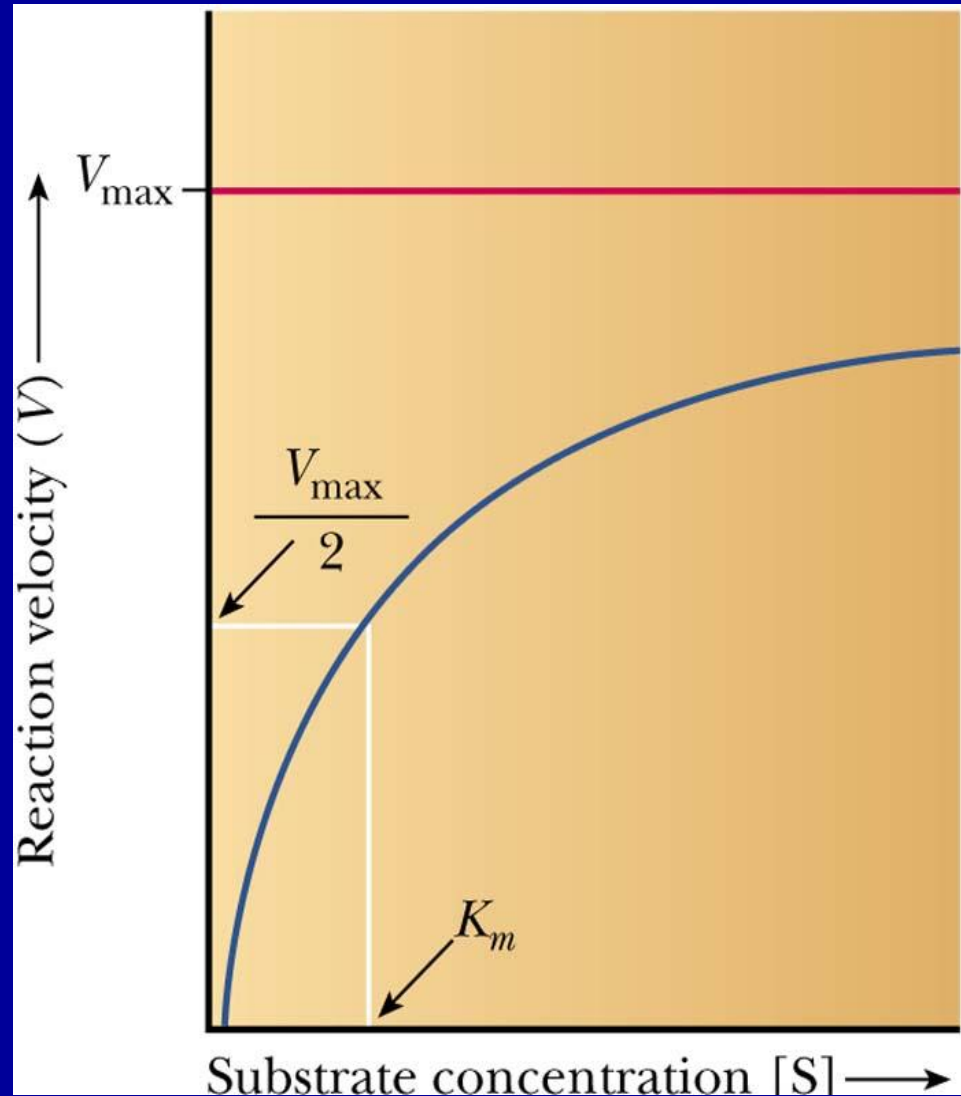
$[S]$  is the substrate concentration

Fits the hyperbolic shape of curve

# A $K_m$ értelmezése egyszerűen

$$v = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

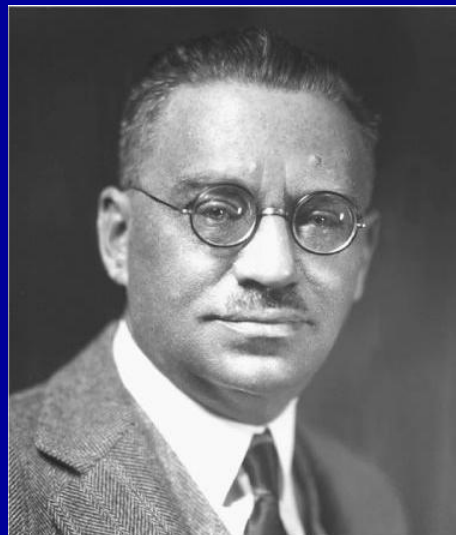
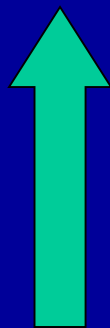
- Look at what happens when  $v = V_{\max}/2$ :
  - $V_{\max}/2 = V_{\max}[S]/(K_m + [S])$
  - or  $K_m + [S] = 2[S]$
  - $K_m = [S]$
- In other words we may think of  $K_m$  as the substrate concentration at half maximal velocity



# A Michaelis-Menten egyenlet értelmezése

*Combination of 0-order and 1st-order kinetics*

- When [S] is low, the equation for rate is 1st order in S – linear relation between [S] and  $v$ 
  - $v = (V_{\max}/K_m)[S] = \text{constant} \times [S]$
- When [S] is high, the equation for rate is 0-order in S:  $v$  is independent of [S]
  - $v = V_{\max} = \text{constant}$



# Enzimaktivitás mérésének követelményei

**Aktivitás mérése: optimált, kinetikus módszerrel!**

**$S \gg K_M$  (kb. 20x)**

**pH, kofaktorok, hőmérséklet**

**indikátor reakció, kapcsolt reakció**

**kinetikus detektálás, linearitás ellenőrzése**

**0-ad rendű reakció!**

# **Plazma enzimaktivitás mérésének célja**

- **Szöveti károsodás jelzése**
- **Szöveti károsodás mértékének becslése**
- **Szöveti károsodás eredetének vizsgálata**
- **Inhibitorok, gyógyszerek, mérgek hatásának kimutatása**
- **Egy-egy szerv állapotának megítélése**
- **Terápia követése**

# Termék enzimek vizsgálata

- **Véralvadási faktorok: bonyolult kaszkád, funkcionális/aktivációs próba/monitoring**
- **Pszeudo-kolinészteráz: szintézis változás inhibíció (mérgezés)**
- **Emésztő enzimek (lipáz, amiláz, tripszin)**  
**A hasnyálmirigy paradoxon!**



# A hasnyálmirigy paradoxon!

## Akut károsodás

- Szöveti károsodás jelzése? - **igen**
- Szöveti károsodás mértéke? - **nem**
- Szöveti károsodás eredete? - **is**  
**izoenzim vizsgálat!**
- Terápia követése? - **is**
- Kiegészítő vizsgálatok? - **szükségesek**
- Vizelet vizsgálata? - **is, makroamiláz**

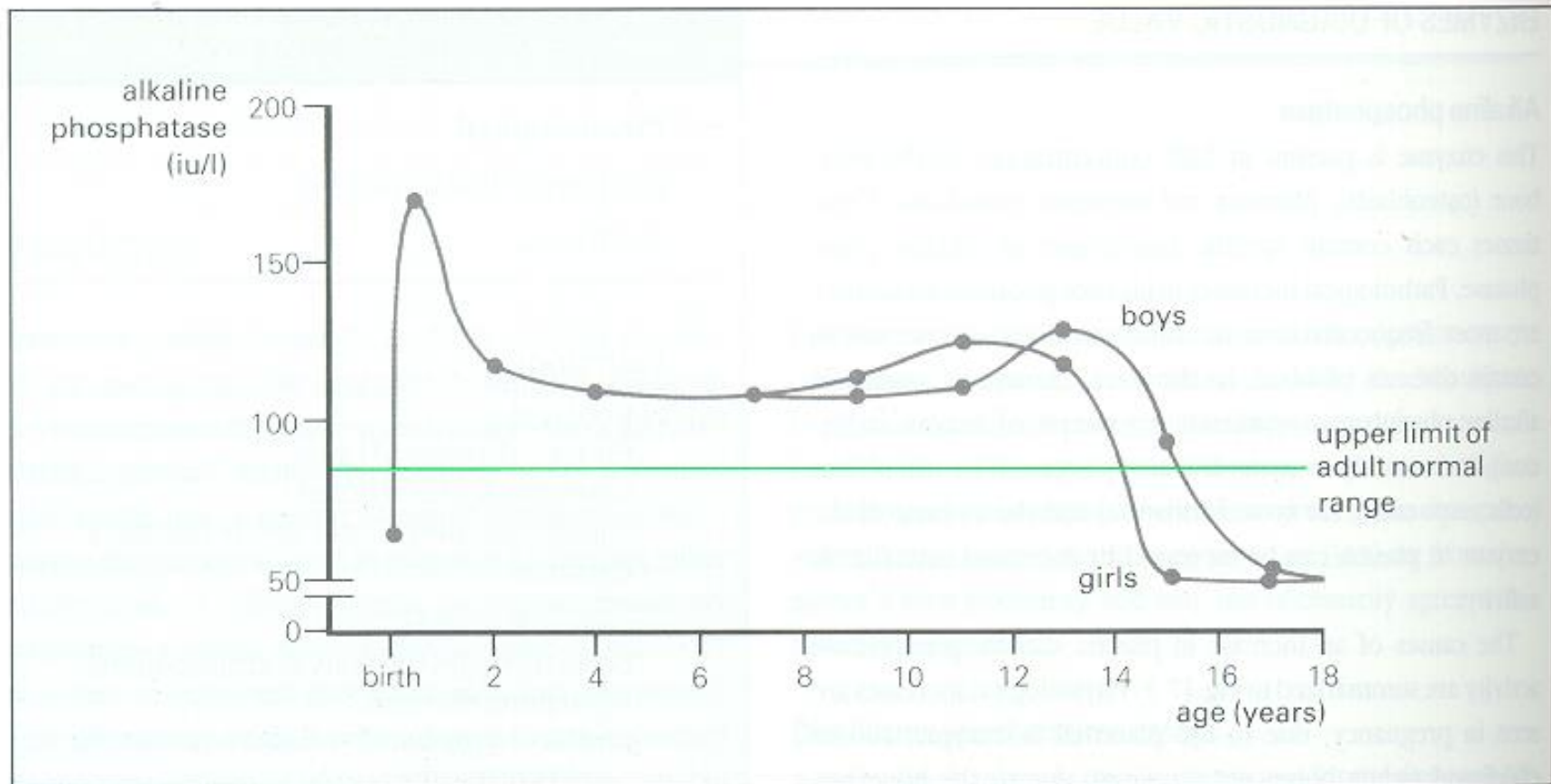
# Sejtalkotó enzimek vizsgálata

- Szöveti károsodás jelzése? - **igen**
- Szöveti károsodás mértéke? - **igen/nem**
- Szöveti károsodás eredete? - **részben**  
**izoenzim vizsgálat!**
- Terápia követése? - **igen**
- Kiegészítő vizsgálatok? - **szükségesek**
- Mintavétel időzítése - **fontos**
- Szerv funkciójának megítélése - **részben**

# Mitől függ a referencia tartomány?

- Szintézis sebessége - szekréción
- Vérellátás
- Sejt turnover - életkor!
- Izoenzimek jelenléte
- Terhesség
- Nem
- ??????

# Referencia tartomány változása egészségesekben: alkalikus foszfátáz



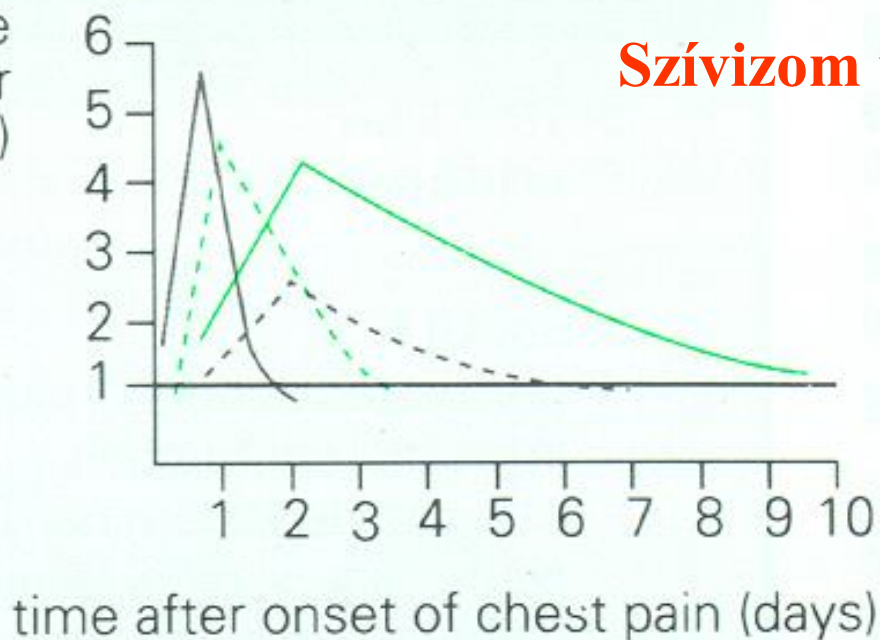
# Mitől függ a sejtalkotó bekerülésének sebessége patológiás állapotban?

- Sejt turnover (pl. daganat)
- Sejt energetikai állapota (oxigénhiány, metabolikus blokk, stb)
- Szövet vérellátása
- Enzimek sejten belüli kompartmentalizációja
- ??????

# Szöveti károsodás monitorozása: szívinfarktus

**Szívizom troponinek!!**

serum enzyme  
activity (x upper  
limit of normal)



— creatine kinase-MB

..... creatine kinase-total

..... aspartate transaminase

—  $\alpha$ -hydroxybutyrate dehydrogenase

# Alkalikus foszfátáz izoenzimek

