

M. Luisa Lorêdo A. Jorge

Major Veterinário PMERJ mestranda em Clínica e Reprodução Animal - UFF



# Enzimologia Clínica

## **Enzimas**

 Auxílio diagnóstico de processos patológicos 1900 – Lipase sérica

1007 F 6 1 AL II

1927 – Fosfatase Alcalina

## Alteração da atividade sérica

- Permeabilidade da membrana celular
- Necrose celular
- Remoção ou depuração diminuída
- Síntese aumentada ou diminuída



# Enzimologia Clínica

## Sensibilidade diagnóstica

- Distribuição em tecidos diversos
- Predominância em órgãos
- Isoenzimas fórmulas moleculares diferentes com mesma atividade catalítica

## Extensão e gravidade de lesão

Destruição celular proporcional a massa de celulas destruidas



# Enzimologia Clínica

## Localização intracelular da enzima

- Citoplasmática Passam por membrana celular marcadores diagnósticos sensíveis
- Mitocondriais Lesão da organela atravessam 2 ou 3 membranas
- Lisossomais Grânulos intracelulares
- De membrana Não são solúveis, ficam aderidas Lesão severa
   Estímulo a aumento de produção (drogas,hormonios)



# Enzimologia Clínica

# Evolução de uma afecção

Meia vida no soro

## Critérios para escolha

- Especificidade tissular
- Sensibilidade de suas variações
- Confiabilidade da dosagem

## Enzima ideal

- Na prática: Dosagens combinadas
- Isoenzimas



# Enzimologia Clínica

## Atividade sérica normal

- Morte celular fisiológica
- Degradação, inativação (sistema monofagocítico, excreção)
- Regeneração celular

## Limites de normalidade

- Fisiológico x patológico
- Limítrofres (distribuição)
- Indivíduo



# Enzimologia Clínica

## Determinação da atividade enzimática

- Soro + substrato + cofator
- 2 leituras
- Concentração de substrato/produto

## Fatores que afetam a atividade

 pH, temperatura, concentração de substrato, cofatores, inibidores e estabilizadores

História clínica

Valores de referência de cada laboratório



# Enzimologia Clínica

## Cuidados com a amostra

- Enviar o mais rápido possível
- Estéril
- Evitar desnaturação
- Soro/plasma Anticoagulamtes quelantes (EDTA, citrato) interferem em enzimas que requerem íons metálicos para atividade
- Usar soro
- Hemólise liberação de enzimas
- Lipemia refração da luz



# **Enzimologia Clínica**

## Cuidados com a amostra

- Separação de elementos figurados do sangue Liberam LDH e AST no soro
- Estabilidade em temperaturas diversas
- Metodologia e Controle de qualidade do Laboratório





Estabilidade das enzimas no soro					
Enzima	Estocagem	Tempo (dias)	Atividade (%)		
α-Amilase	Temperatura ambiente	8	100		
Creatina-quinase	Temperatura ambiente	1	25		
	0-4°C	1	32-65		
	Congelada	8	25		
Glutamato desidrogenase	Temperatura ambiente	2	60		
	0-4°C	2	60-100		
	Congelada	2	60		
Aspartato aminotransferase	Temperatura ambiente	4	90		
	0-4°C	8	87		
	Congelada	2	90		
Alanina aminotransferase	Temperatura ambiente	4	75		
	0-4°C	8	78		
	Congelada	8	31		
L- Lactato desidrogenase	Temperatura ambiente	8	74-88		
	0-4°C	8	81		
	Congelada	8	81		
Fosfatase alcalina	Temperatura ambiente	8	71		
	0-4°C	8	71		
	Congelada	8	68		
Sorbitol desidrogenase	Espécie dependente	-	-		
	0-4°C	8	71		
Fonte: Kaneko et al. (1997)					





# Diagnóstico de Afecções Musculares

## Aumento da atividade sérica

- Degeneração de fibras musculares
- Aumento de permeabilidade de membrana
- Aumento de produção pelas células do parênquima
- Obstrução das rotas normais de excreção

# Miopatias e neuromiopatias



# Diagnóstico de Afecções Musculares

Creatina Quinase CK (EC 2.7.3.2)
Aspartato Amino Transferase ALT (EC 2.6.1.1)
Lactato Desidrogenase LDH (EC 1.1.1.27)





# Diagnóstico de Afecções Musculares

## CK

- Musculatura esquelética
- Miocárdio
- Cérebro Pouca ou nenhuma troca entre LCE e plasma

## Varia com

Atividade física, idade, sexo

Altamente específica



# Diagnóstico de Afecções Musculares

## Isoenzimas

- Dímero
- Subunidades M e B CK<sub>1</sub> CK<sub>2</sub> CK<sub>3</sub> CK-Mt

## Aumento da atividade

- Distrofias musculares nutricionais agudas em potros aumento para 1.000 UI/L
- Rabdomiólise de esforço aguda 5.000 a 10.000UI/L
- Animais não condicionados após exercício vigoroso aumento de permeabilidade de membrana



# Diagnóstico de Afecções Musculares

## CK Valores séricos

- Pico 4-6 horas
- Permanece 3-4 dias
- Quantidade total de CK circulante no equino = encontrada em 1g de músculo

3 a 5x o valor da atividade sérica = miólise aproximada de 20g de músculo



# Diagnóstico de Afecções Musculares

## AST

- Não é específica
- Atividade alta em fígado, eritrócitos...
- Meia vida de 7-10 dias
- Pico 24h
- Varia com a atividade física
- Isoenzimas MAST (mitocôndrial)
   CAST (citiplasmática)



# Diagnóstico de Afecções Musculares

# LDH

- Atividade alta em vários tecidos
- Não é específica
- tetrâmero
- Isoenzimas LDH<sub>1</sub> LDH<sub>2</sub> LDH<sub>3</sub> LDH<sub>4</sub> LDH<sub>5</sub>
- Maior em fibras de contração rápida
- Pico 12 horas





Valores dos constituintes sangüíneos encontrados por MULLEN et al. (1979), LUMDSEN et al. (1980) e ROSE & HODGSON (1994), em eqüinos Puro Sangue de Corrida.

Autores variações	MULLEN et al. (1979)	LUMDSEN et al. (1980)	ROSE & HODGSON (1994)
Creatino quinase (CK)	16,0 a 120,3 ± 141,9U L <sup>-1</sup>	38,7 ± 40U L <sup>-1</sup>	100 a 300U L <sup>-1</sup>
Aspartato minotransferase (AST)	$102 \pm 20,8 \text{ a } 253 \pm 155 \text{U L}^{-1}$	$217 \pm 140 \mathrm{U~L^{-1}}$	150 a 400U L <sup>-1</sup>
Alanino inotransferase (ALT)		$4.3 \pm 3.6 \mathrm{U~L^{-1}}$	
Lactatodesidrogenase (LDH)		$140 \pm 33,5 \text{U L}^{-1}$	< 250U L <sup>-1</sup>
Uréia	18,8 ±2,4 e 27,6 ±2,6mg dL <sup>-1</sup>	11,1 ±1,7mmol L <sup>-1</sup>	24 a 48mg dL <sup>-1</sup>
Creatinina			1,1 a 1,8mg dL <sup>-1</sup>
Sódio (Na)		$140 \pm 1,5 \text{mmol L}^{-1}$	133 a 144mmol L <sup>-1</sup>
Potássio (K)	3,7±0,6 a 5,0±0,3mmol L <sup>-1</sup>	$3.6 \pm 0.4$ mmol L <sup>-1</sup>	3,2 a 4,2mmol L <sup>-1</sup>
Cálcio (Ca)	13,6±0,6 e 15,1±0,7mg dL <sup>-1</sup>	3,0 ±0,1 mmol L <sup>-1</sup>	10,8 a 13,2mg dL <sup>-1</sup>
Glicose	45,1±12,1 e 83,4±8,1mg dL <sup>-1</sup>	4,5 ±0,5mmol L <sup>-1</sup>	70 a 140mg dL <sup>-1</sup>



