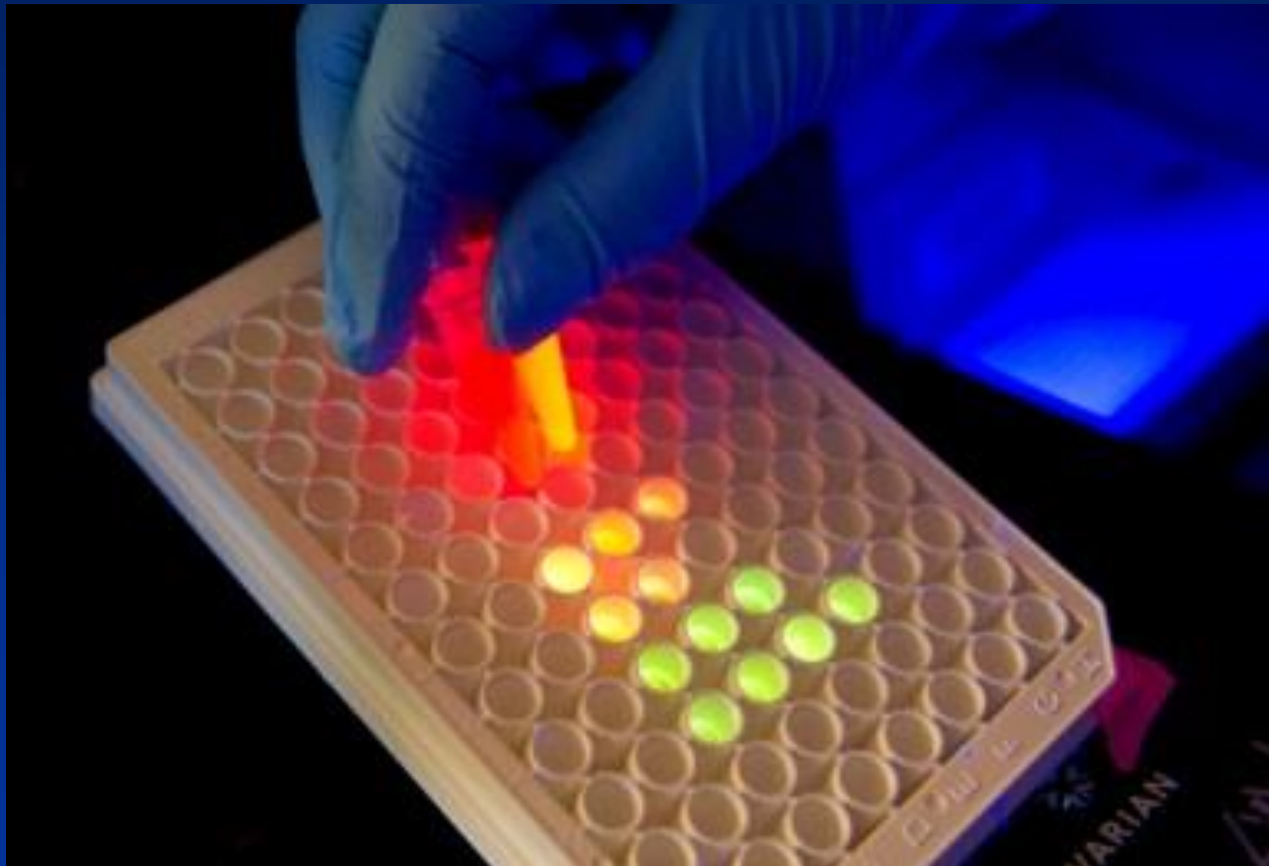
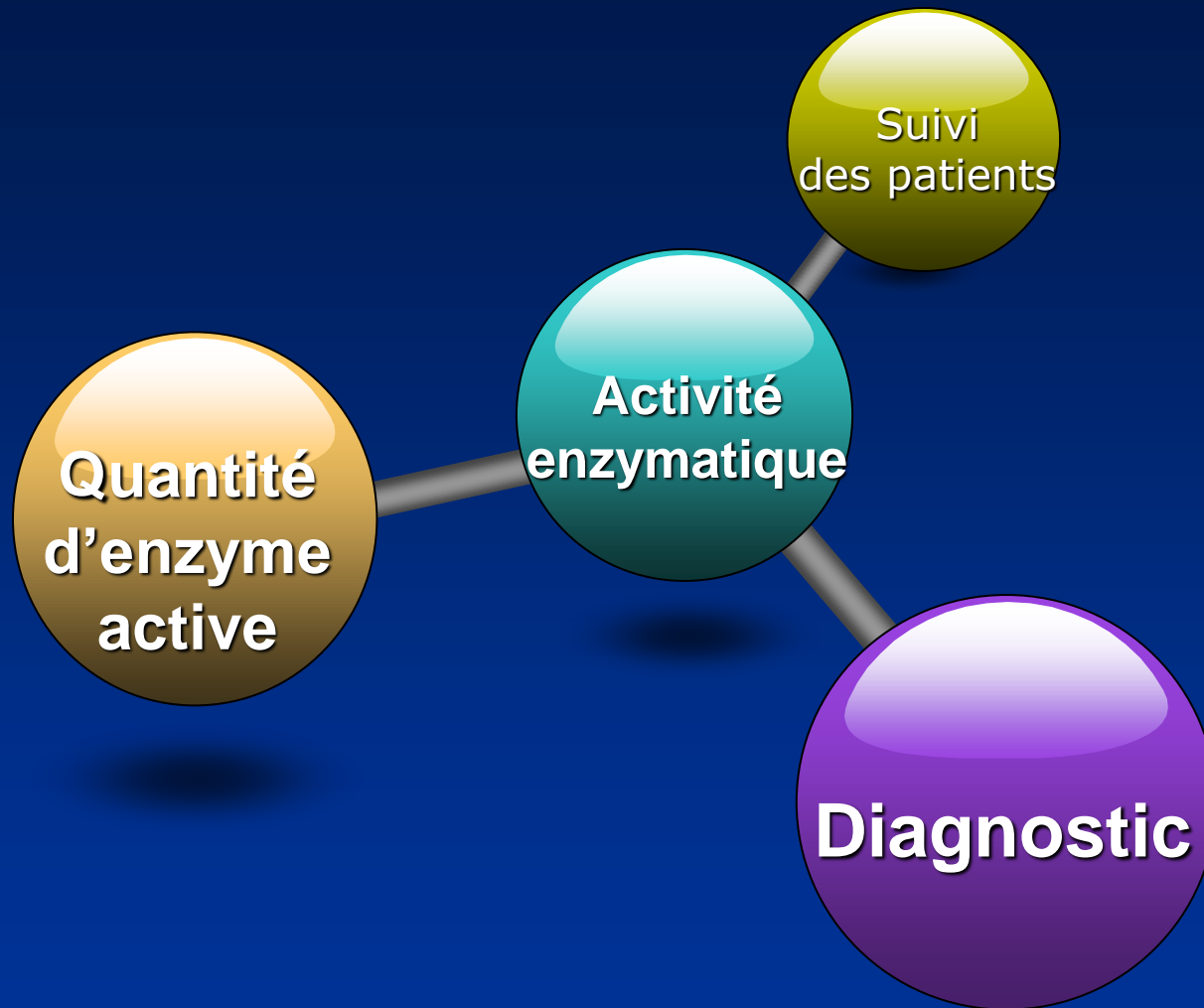


# Dosage de l'activité enzymatique

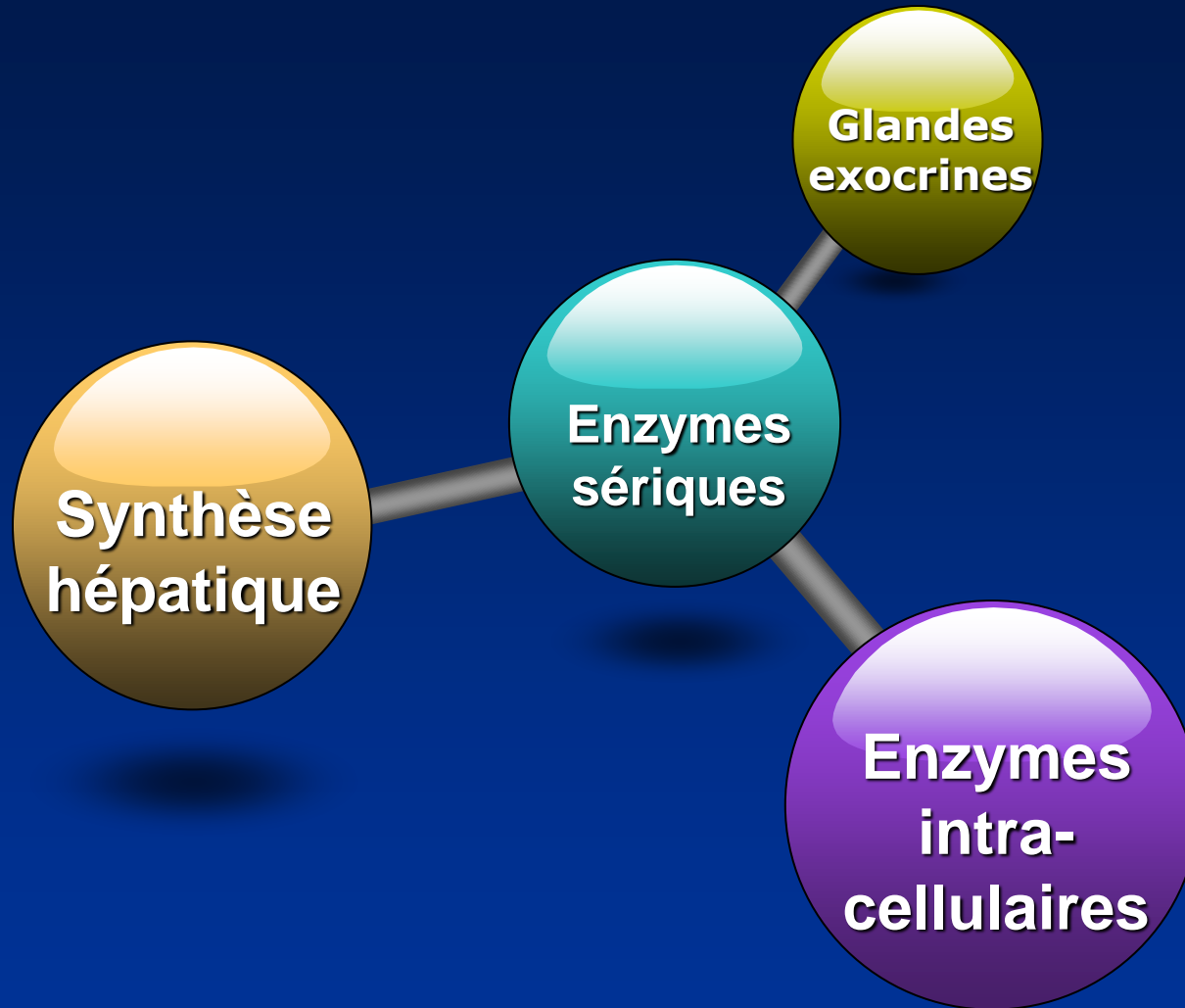


# Importance des dosages enzymatiques



Proportionnalité directe: activité enzymatique  $\leftrightarrow$  quantité d'enzyme  
Enzymes: biomarqueurs  $\rightarrow$  diagnostic et suivi thérapeutique

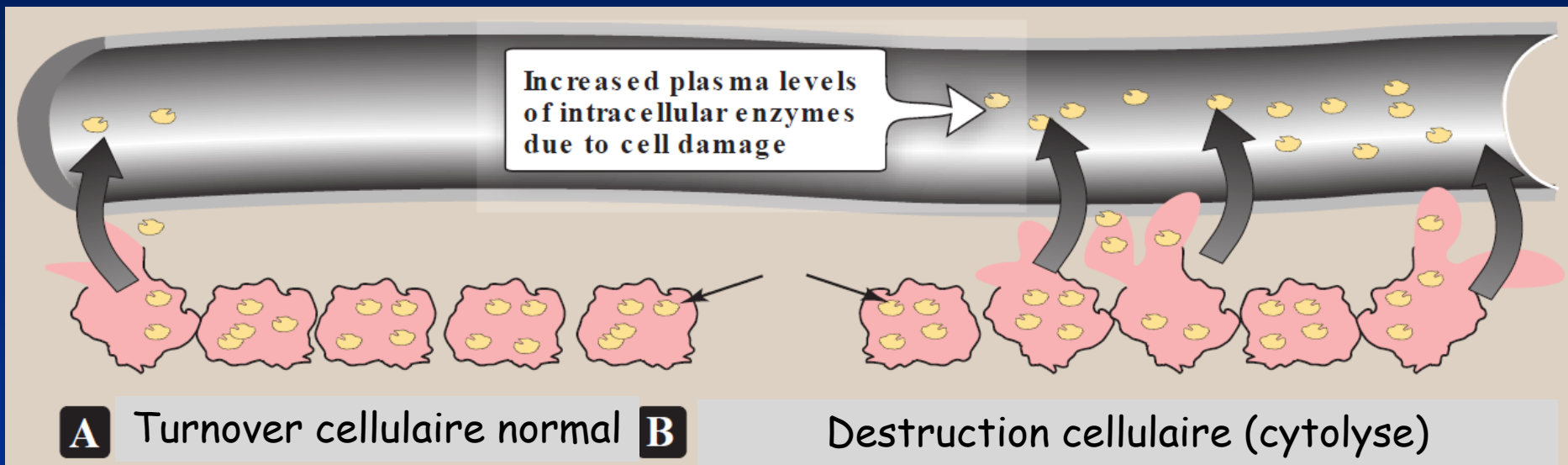
# Origine des enzymes circulantes



# Origine des enzymes circulantes

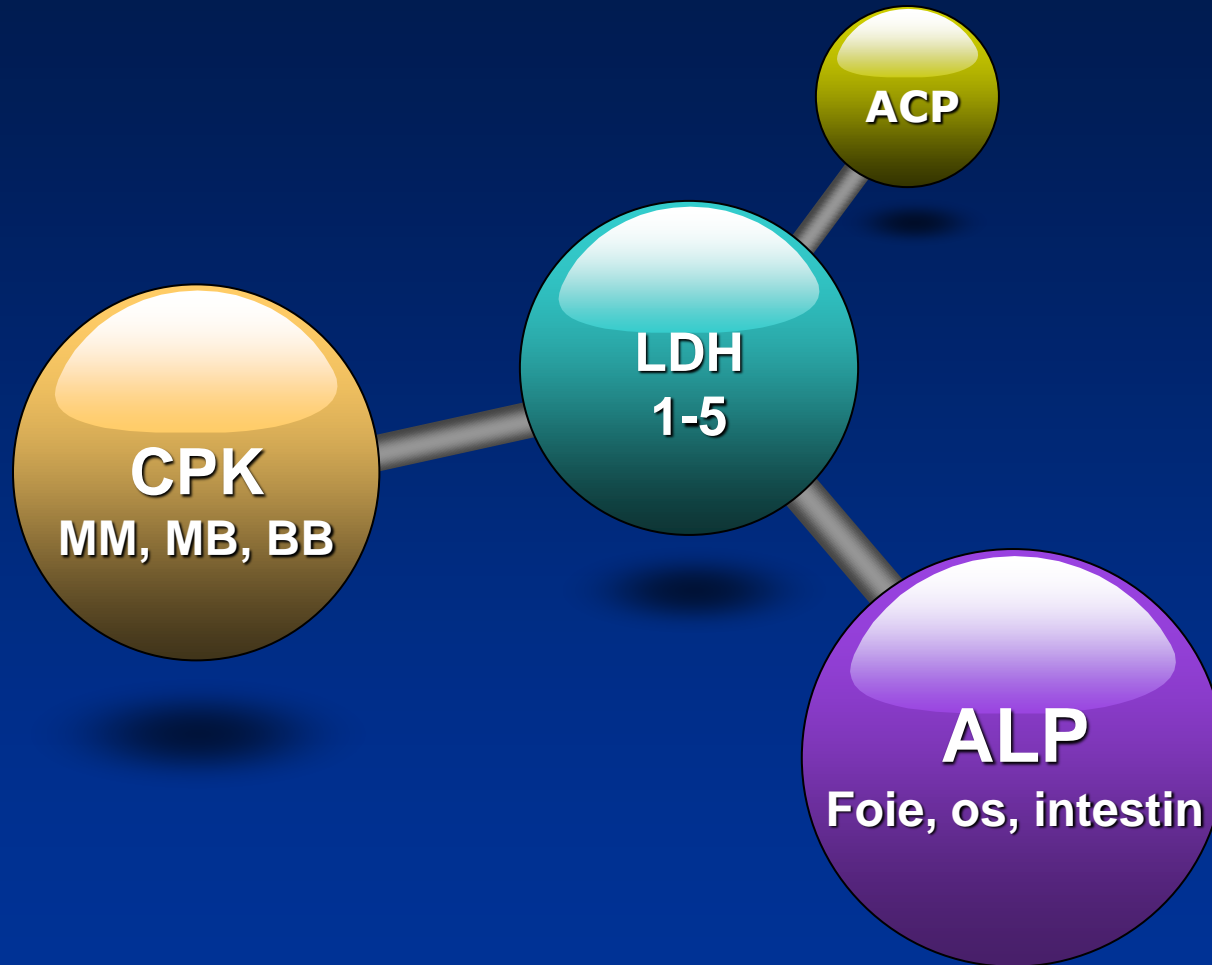
Tissu ou compartiment d'origine	Exemples	Importance médicale
<b>Foie:</b> synthèse → sécrétion → sang	Activité dans le sang (cholinestérase, facteurs de coagulation...)	↓ activité sérique: insuffisance hépatique
<b>Glandes exocrines</b> (pancréas, glandes salivaires...)	Activité dans les tissus (amylase, lipase, phosphatase acide...): faible taux sanguin	↑ activité sérique: lésion des glandes exocrines / blocage de leur sécrétion → passage dans le sang
<b>Cellules</b> (cytoplasme, organites cytoplasmiques)	Activité dans les cellules (ASAT, ALAT, LDH, CPK...)	↑ activité sérique: syndrome de cytolyse

# Syndrome de cytolysse



Augmentation sérique de l'activité des enzymes intracellulaires

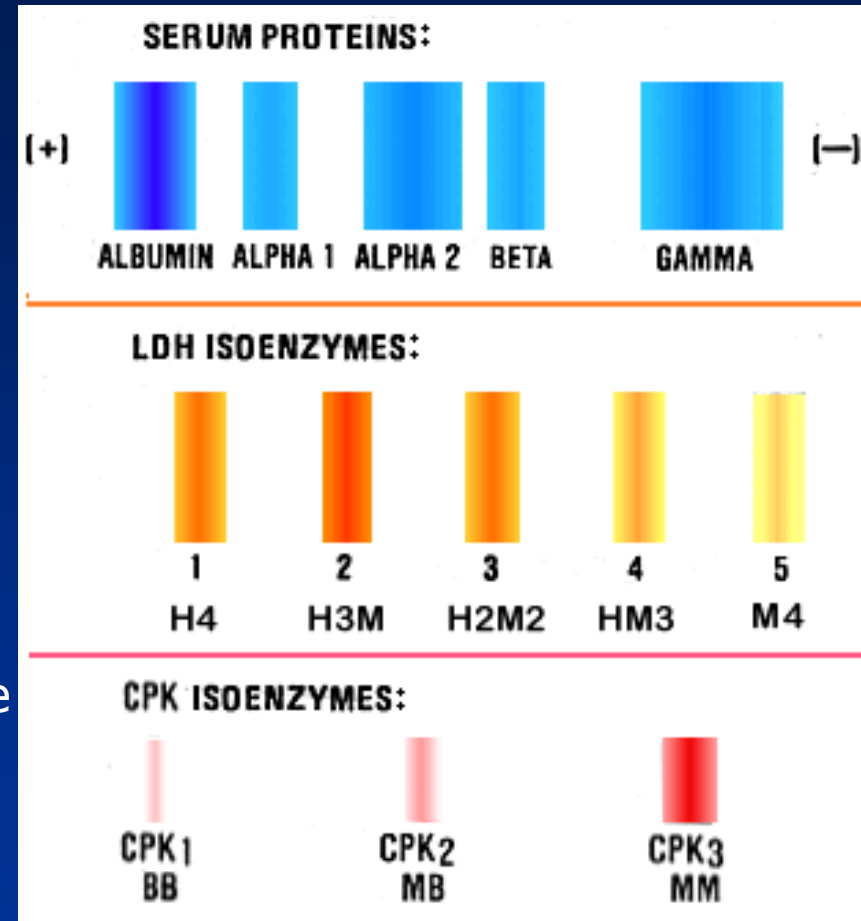
# Isoenzymes



Variantes moléculaires: même activité catalytique, mais propriétés différentes (structure, localisation, paramètres cinétiques...)

# Importance des isoenzymes

- **LDH** (4 sous-unités, H/M)
  - $H_4$  ( $LDH_1$ ): myocarde
  - $H_3M$ ,  $H_2M_2$ ,  $HM_3$
  - $M_4$  ( $LDH_5$ ): foie, muscle squelettique
- **CPK** (2 sous-unités, M/B)
  - BB: cerveau
  - MB: myocarde
  - MM: muscle squelettique, myocarde
- **Phosphatase alcaline**
  - Isoenzyme hépatique:  $\uparrow$  sérique  $\rightarrow$  maladies hépatobiliaires
  - Isoenzyme osseuse:  $\uparrow$  sérique  $\rightarrow$  maladies osseuses.



Electrophorèse des isoenzymes  
LDH, CPK

# Expression de l'activité enzymatique

- **Réaction générale**  $A + B \rightarrow C + D$ 
  - Activité enzymatique: mesure de  $\Delta S/\Delta t$  ou  $\Delta P/\Delta t$  ( $\downarrow[S]$ ,  $\uparrow[P]$ )
- **Unité internationale (UI)**: quantité d'enzyme qui catalyse la transformation d'une  $\mu\text{mole S/min}$  (conditions optimales)
  - **Enzymes sériques**: UI/L (UI/mL)
  - **Enzymes tissulaires**: UI/mg protéines (activité spécifique)
- **Katal (K)**: quantité d'enzyme qui catalyse la conversion d'une mole S/sec (conditions optimales).

# Principe des dosages enzymatiques

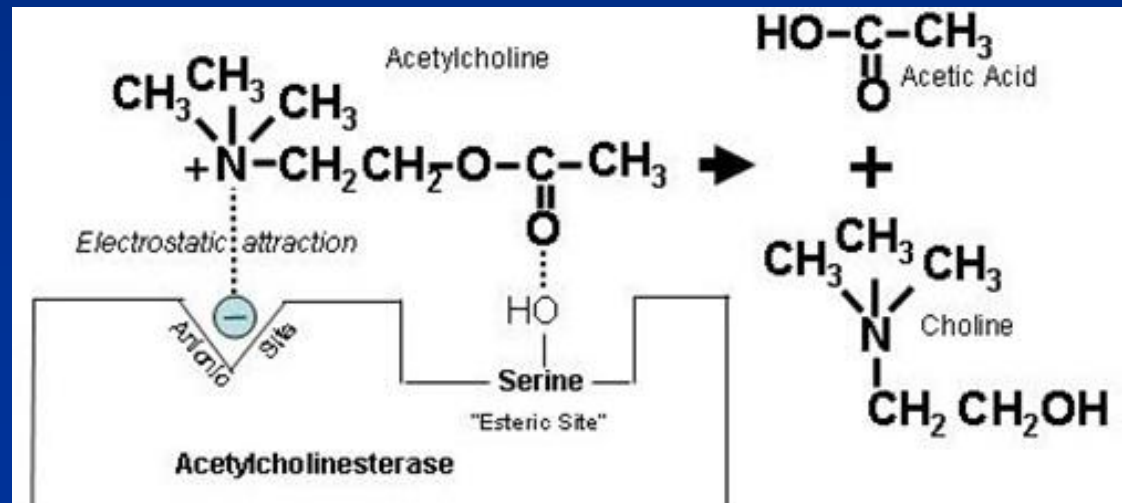
- $DO = \epsilon cd \rightarrow \Delta DO = \epsilon \Delta c d \rightarrow \Delta c = \Delta DO / (\epsilon d)$
- $A = \Delta c / \Delta t = \Delta DO / (\epsilon d \Delta t)$
- $A \text{ (UI/L)} = [\Delta DO / (\epsilon d \Delta t)] \times 10^6 \times (V_t / V_e) \times \text{dilution s\u00e9rum}$ 
  - A: activit\u00e9 enzymatique [UI/L]
  - $\Delta DO$ : variation de l'absorbance optique (pendant la r\u00e9action)
  - $\epsilon$ : coefficient molaire d'absorbance lin\u00e9aire [ $L \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ]
  - d: longueur du trajet optique [cm]
  - $\Delta t$ : temps d'incubation [min]
  - Facteur  $10^6$ : expression [UI/L]
  - $V_t$ : volume total dans le tube (s\u00e9rum, tampon, substrat...)
  - $V_e$ : volume d'\u00e9chantillon (s\u00e9rum) dans le tube \u00e0 essai.

# Exemples d'applications numériques

- Calculez l'activité de la phosphatase alcaline (UI/L) mesurée dans un échantillon de 0,005 mL de sérum auquel on ajoute 5 mL de substrat, si l'incubation a lieu pendant 15 minutes et la variation de l'absorbance est de 0,07 ( $\varepsilon = 50 \times 10^3 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ).
  - $A = (0,07/50 \times 15) \times 10^{-3} \times 10^6 \times (5,005/0,005) = 93,43 \text{ UI/L}$
- Calculez l'activité d'une enzyme mesurée dans un échantillon de 0,1 mL de sérum pur, auquel on ajoute 3 mL de substrat. La variation de la DO est de 0,002/min ( $\varepsilon = 6,2 \times 10^3 \text{ L} \times \text{mol}^{-1} \times \text{cm}^{-1}$ ).
  - $A = (0,002/6,2) \times 10^{-3} \times 10^6 \times (3,1/0,1) = 10 \text{ UI/L}$

# Dosage de la cholinestérase sérique

- **Importance**: synthèse hépatique → sang → hydrolyse des esters de la choline (acétylcholine)
- **Valeurs normales**: 3-8 UI/mL (adulte)
- **Variations pathologiques**
  - ↑ **sérique**: syndrome néphrotique
  - ↓ **sérique**: insuffisance hépatique (hépatites, cirrhose hépatique), intoxication avec dérivés organophosphorés, déficit congénital...



# Influence du pH sur l'activité enzymatique

- **Activité catalytique**: dépendante de l'état d'ionisation des groupes fonctionnels au centre actif
  - $\Delta$  pH  $\rightarrow$   $\Delta$  charge électrique des groupes fonctionnels  $\rightarrow$  modification conformationnelle du centre actif  $\rightarrow$   $\downarrow$  / blocage de l'interaction E-S  $\rightarrow$   $\downarrow$  activité enzymatique
- **pH optimum (spécifique)**: maximum d'activité enzymatique.
- **Action des phosphatases sériques**: hydrolyse des esters phosphoriques
  - **Phosphatase acide** (pH 4,8),  
 $\uparrow$  sérique: cancer de la prostate, maladies génétiques (Gaucher)
  - **Phosphatase alcaline** (pH 10,5),  
 $\uparrow$  sérique: syndrome de cholestase, maladies osseuses.

