

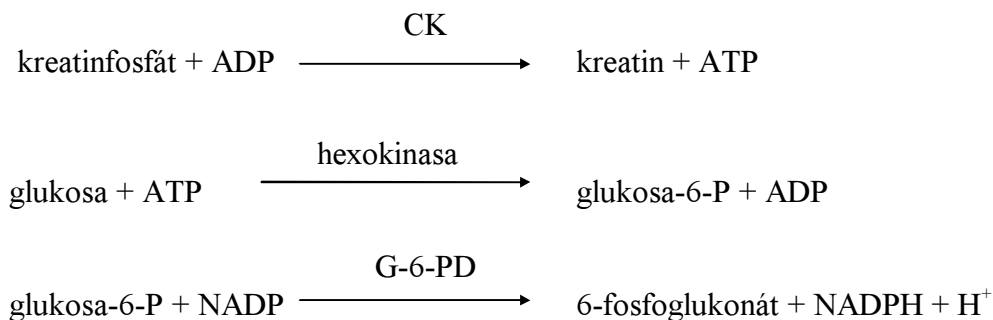
Úloha č. 6

IZOENZYMY KREATINKINASY (CK) A LAKTÁTDEHYDROGENASY (LD)

Pro diferenciální diagnostiku poruch různých orgánů má velký význam posouzení aktivit některých orgánově selektivních enzymů a zejména izoenzymů. V této úloze jsou demonstrovány dva přístupy používané při analýze izoenzymového spektra v krevním séru - v případě kreatinkinasy je to využití specifické inhibice jednoho izoenzymu protilátkou, u LDH je využito odlišné substrátové specifity izoenzymů.

A) KREATINKINASA je hojně zastoupena v různých tkáních (kosterní svalstvo, myokard, mozek, prostata, děloha). Enzym je dimerní; kombinací podjednotek M a B vytváří tři izoenzymy CK₁ (BB), CK₂ (MB) a CK₃ (MM). Isoenzym MB kreatinkinasy je specifický pro srdeční tkáň, zatímco izoenzym MM se vyskytuje v kosterním svalstvu. Stanovení aktivity kreatinkinasy, a to zejména izoenzymu MB, má velký význam při diagnostice srdečních onemocnění. Distribuční rozložení izoenzymů v séru: 96-100 % MM, < 4 % MB.

Stanovení aktivity kreatinkinasy využívá indikační a pomocné enzymové reakce a Warburgův optický test:



Monotest CK-MB fy. Merck obsahuje protilátky proti izoenzymu MM, a ty s ním vytvářejí komplex, který je enzymaticky inaktivní. Na izoenzym MB se protilátky nevážou, jeho enzymová aktivita je tedy neovlivněna.

B) LAKTÁTDEHYDROGENASA

Tetramer LD vytváří 5 izoenzymů kombinací dvou typů podjednotek H (heart) a M (muscle): LD₁ (H₄), LD₂ (H₃M), LD₃ (H₂M₂), LD₄ (H₃M) a LD₅ (M₄). K separaci a kvantifikaci jednotlivých izoenzymů se používají elektroforesa, ionexová chromatografie resp. imunoprecipitace; jinou možností je právě využití různé substrátové specifity těchto izoenzymů.

Distribuce izoenzymů v krevním séru: LD₁ 18-33 %, LD₂ 28-40 %, LD₃ 18-30 %, LD₄ 6-16 % a LD₅ 2-13 %.

a) *Stanovení celkové aktivity LD v séru*

Proveďte stanovení celkové aktivity LD Warburgovým optickým testem fy. Sevac.

b) *Stanovení α -hydroxybutyrátdehydrogenasy v séru*

Toto stanovení využívá skutečnosti, že izoenzym LD1 je schopen poměrně účinně oxidovat i 2-oxobutyrát (α -hydroxybutyrát). Tento izoenzym se vyskytuje především v srdeční tkáni, jeho stanovení má hlavní význam při diagnostice infarktu myokardu. V játrech a plicích je tohoto izoenzymu poměrně málo, nezanedbatelné aktivity však lze najít i v kosterním svalstvu, ledvinách a erythrocytech. Při vlastním stanovení postupujte podle návodu v setu fy. Sevac. Vyhodnoťte obsah izoenzymu LD1 na celkové aktivitě LD ve vašem vzorku.

GESTAGNOST - imunologický průkaz těhotenství

Gestagnost fy. Sevac slouží k průkazu choriogonádotropního hormonu v moči gravidních žen. Stanovení proveďte podle přiloženého návodu.