

Introduction

Le sang d'une personne saine contient normalement des enzymes que les différents organes déversent dans la circulation. La plupart des enzymes sanguines (hormis l'amylase) ne se retrouvent pas dans les urines, car elles ne sont pas réabsorbées au niveau des néphrons. Elles devront être transformées avant d'être éliminées sous d'autres formes.

Lorsque le pouvoir de synthèse de ces organes diminue, l'activité de ces enzymes dans le sang décroît. Autre fait important, lors d'une souffrance cellulaire, des enzymes habituellement intracellulaires peuvent se retrouver libres dans le plasma à de fortes concentrations. En effet, le dosage de ces enzymes permet de déterminer l'organe lésé, voire son degré d'atteinte.

Pour rechercher une pathologie, des tests enzymatiques sont fréquemment pratiqués sur des prélèvements sanguins. Ce qui facilite la connaissance de la provenance de l'enzyme retrouvée en quantité anormale et aidera le clinicien à résoudre divers problèmes diagnostiques.

L'interprétation des résultats de dosages prend en compte les caractéristiques physiologiques du patient (l'âge, le sexe, le poids, ...) et les symptômes répétés dans le but d'aboutir au diagnostic de la pathologie.

1 Dosage de l'activité enzymatique

La mesure de l'activité enzymatique consiste à évaluer la quantité du substrat (S) transformé ou du produit (P) apparu par unité de temps et dans des conditions réactionnelles bien déterminées. En effet, elle correspond soit à la vitesse de disparition d'un substrat, soit à la vitesse d'apparition d'un produit, soit à la vitesse d'utilisation d'une coenzyme.

Généralement, l'activité enzymatique est exprimée en unités internationales (UI) : elle correspond à la quantité d'enzyme qui transforme une micromole (μ mole) de substrat par minute dans un volume réactionnel d'un litre et dans des conditions précises : de température, de pH et de milieu. Une autre unité est également utilisée ; c'est le Katali. Il représente la quantité d'enzyme capable de catalyser la transformation d'une mole de substrat en une seconde. Le katal est beaucoup trop grand ; pour cela, on utilise généralement le μ kat (10^{-6} katal).

Il y a deux façons de mesurer l'activité enzymatique par des méthodes discontinues ou des méthodes continues

1.1 Dosage par méthode discontinue

Cette méthode est appelée également méthode en point final ou à deux points. Elle consiste à mesurer la quantité de produit (P) apparue ou la quantité de substrat (S) disparue durant un temps fixé. Sachant la durée de l'incubation, la vitesse de la réaction peut donc être déterminée. Lorsque la durée d'incubation s'est écoulée, la réaction est bloquée brutalement ; soit par action de la chaleur soit par un changement de pH, etc. La mesure de la concentration du S ou de P dans le milieu réactionnel est effectuée par une méthode analytique convenable.

Dans l'analyse médicale, le substrat doit donc être en concentration limitante, alors que tous les autres constituants (enzymes, coenzymes, cofacteurs) doivent être en large excès. En effet, au bout de quelques minutes, tout le substrat sera consommé et la réaction s'arrêtera automatiquement.

1.2 Dosage par méthodes cinétiques en continue

Cette approche consiste à suivre en continu la vitesse de la réaction. En fait, la variation d'une mesure est appréciée dans des temps très rapprochés. Dans ce type de dosage, le substrat doit être en excès ainsi que tous les autres constituants (coenzymes, cofacteurs) à l'exception de l'enzyme à doser, qui doit être limitante.

On distingue deux types : dosage direct ou indirect

1.2.1 Dosage direct

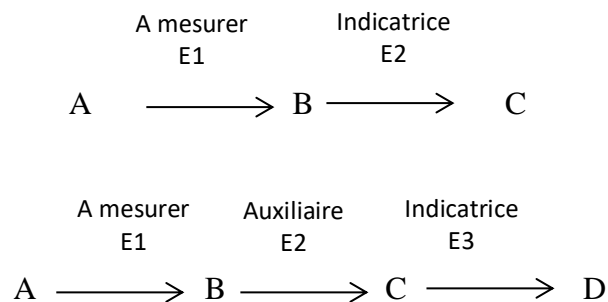
Dans ce cas, la mesure de la quantité du substrat ou de produits ou même des cofacteurs de la réaction étudiée est effectuée plusieurs fois sans arrêter la réaction. Seules quelques méthodes analytiques sont adaptées à cette mesure directe dans le milieu réactionnel. Ce sont essentiellement la spectrophotométrie d'absorption dans le visible et l'ultraviolet.

1.2.2 Dosage indirect

Quand le substrat, le produit ou la coenzyme éventuel ne présente pas de propriétés spectrales utilisables (difficiles à détecter), la réaction enzymatique ne peut pas être étudiée en continu. Cependant, si l'un des produits de la réaction étudiée est le substrat d'une autre

enzyme qui possède une coenzyme (le NAD ou le NADP) ou un produit ayant des caractéristiques spectrales utilisables, il devient possible de coupler les deux réactions enzymatiques dans la même cuve de mesure : la deuxième réaction devient indicatrice de la première.

De ce fait, on peut avoir deux réactions (ex : transaminases) ou trois réactions consécutives (ex. : créatine-kinase)



2 Spectrophotométrie

2.1 Principe

La spectrophotométrie est une technique d'analyse qualitative et quantitative. Elle permet de déterminer la capacité d'une substance chimique en solution à absorber la lumière à une longueur spécifique. En effet, cette technique sert à identifier la présence et la concentration d'entités moléculaires à l'intérieur de l'échantillon en utilisant la loi de Beer-Lambert.

En pratique, le spectrophotomètre est l'appareil qui mesure l'intensité de la lumière après son passage au travers d'une cuve contenant l'échantillon à étudier. L'intensité de la lumière émise (I_0) est connue. À partir de la mesure de l'intensité de la lumière transmise (I), l'appareil donne l'absorbance (A) selon la formule : $A = \log (I_0 / I)$. L'absorbance d'une substance chimique dépend de la nature et de la concentration de cette substance ainsi que de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie.

2.2 Loi de Beer-Lambert

La loi de Beer-Lambert sert à mettre en relation l'absorption de lumière avec les propriétés de l'échantillon à travers lequel la lumière passe. Elle est donnée par la relation empirique suivante :

$$A = \varepsilon l C$$

A : est l'absorbance

ε : est le coefficient d'extinction molaire du soluté appelé également le coefficient d'absorption molaire

l : est le trajet optique (cm) ; il reflète la longueur de la cuve.

3 Enzyme de diagnostic médical

3.1 Transaminases

3.1.1 Définition

* **trans** : du latin *trans*, au-delà, à travers ; * **amine** : les amines ; * **ase** : signifie enzyme.

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique **à l'intérieur des cellules, particulièrement au niveau du foie et des muscles**. Elles interviennent dans une multitude de réactions biologiques notamment la synthèse et la dégradation des acides aminés. Elles catalysent le transfert des groupes aminés (NH_2) des acides aminés vers les acides cétoniques, cette réaction permet la synthèse d'un nouvel acide aminé. Ce sont des enzymes de la classe des transférases, elles utilisent la vitamine B₆ comme coenzyme ce qui leur donne le nom d'enzyme à pyridoxal-phosphate.

On distingue deux types de transaminases :

- **Alanine Amino-Transférase (ALAT) (EC 2.6.1.2)**, anciennement appelée **Transaminase Glutamique-Pyruvique (TGP ou GPT)**, ou encore Sérum Glutamo-Pyruvate Transférase (**SGPT**). Elles sont présentes principalement dans les cellules du foie, des reins et en faible quantité dans les muscles striés et les globules rouges.

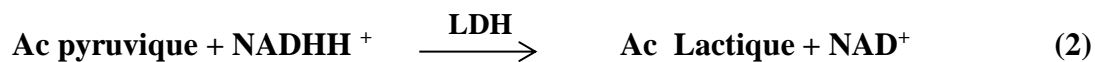
- **Aspartate Amino-Transférase (AST ou ASAT) (EC 2.6.1.1)**, anciennement appelée **Transaminase Glutamique-Oxaloacétique (TGO ou GOT)** ou encore Sérum Glutamo-Oxaloacétate Transférase (**SGOT**). Elles trouvent essentiellement dans les cellules des muscles striés (squelettique et cardiaque), les globules rouges et les cellules du foie.

Ces deux transaminases ont un taux légèrement plus élevé chez l'homme que chez la femme, ainsi que lors d'un effort musculaire important et prolongé. Lorsqu'il y a destruction

cellulaire et tissulaire, les éléments contenus dans les cellules, et en particulier les transaminases, passent dans le sang et leur dosage devient facile.

3.1.2 Dosage

La détermination de l'activité ALAT plasmatique d'un patient est réalisée selon les réactions :



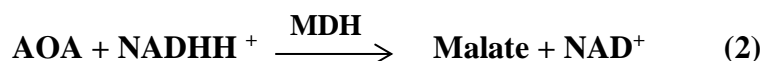
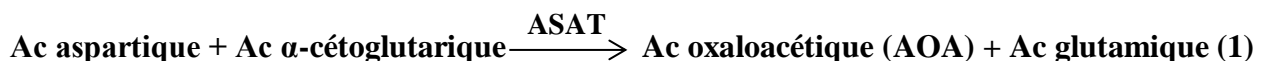
ALAT = Alanine amino transférase

LDH = Lactate déshydrogénase

Pyruvate est le produit (P) de la Réaction principale (1) est le substrat (S) de la réaction indicatrice (2).

Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) en présence de NADH. Le taux de diminution de la concentration en NADH, mesurée à 340 nm, est directement proportionnel à l'activité de l'ALAT dans l'échantillon.

La détermination de l'activité ASAT plasmatique d'un patient est réalisée selon les réactions :



ASAT = Aspartate amino transférase

MDH = Malate déshydrogénase

AOA est le produit (P) de la Réaction principale (1) est le substrat (S) de la réaction indicatrice (2).

À chaque molécule d'AOA apparaissant, correspond l'oxydation d'une mole de NADH⁺, Dans ces conditions la variation de DO à 340 nm correspond à l'activité de l'ASAT dans l'échantillon.

N.B. Pour les deux transaminases, les substrats doivent être en présents ainsi que tous les autres constituants (coenzymes, cofacteurs) à l'exception de l'enzyme à doser.

3.1.3 Valeurs normales

Les transaminases sont des bons marqueurs de certaines maladies du cœur et du foie, d'où l'importance de surveiller leur taux. Le taux de transaminases varie en fonction du sexe, de l'âge, de la température du corps et de l'indice de masse corporelle (IMC).

***ALAT (dosage à 37°)**

Homme : 8 à 45 UI/L

Femme : 6 à 35 UI/L

Nouveau-né : 5 à 35 UI/L

Enfant (4 à 14 ans) : 10 à 35 UI /L

***ASAT (dosage à 37°)**

Homme : 10 à 40 UI/L

Femme : 10 à 35 UI/L

Nouveau-né :20 à 80 UI/L

Enfant (4 à 14 ans) :10 à 35 UI/L

*** NB : Les valeurs de référence indiquées dans ces cours sont indicatives, elles peuvent varier légèrement d'un laboratoire à l'autre.**

3.1.4 Variations pathologiques

Le dosage des transaminases peut être prescrire en cas de symptômes généraux tels qu'une fatigue, une baisse de forme, des nausées, un ictère (jaunisse), etc. Il peut aussi être prescrire chez des personnes à risque de problème hépatique. Le taux de transaminases est proportionnel à la gravité de l'atteinte du foie, sauf dans les maladies chroniques du foie.

Le dosage de ces enzymes est utilisé pour détecter un problème au niveau du foie : leur augmentation dans le sang est due à une libération anormale suite à une **lésion cellulaire** (appelée cytolyse) ; une augmentation des transaminases est d'ailleurs observée lors de la destruction des cellules hépatiques, et notamment dans toutes les atteintes hépatiques

comme l'**hépatite** virales (l'hépatite B ou C), infectieuses, toxiques ou médicamenteuses (consommation de drogues intraveineuses), la cirrhose, l'alcoolisme, la stéatose, l'obstruction des voies biliaires, les cancers du foie, etc.

D'autres pathologies entraînent aussi des taux élevés de transaminases : l'obésité et la surcharge pondérale, le diabète, les myopathies, l'infarctus du myocarde. Les efforts musculaires et les traumatismes, ainsi que certains médicaments peuvent modifier le dosage sanguin des transaminases.

Cependant, la diminution du taux des transaminases peut être le signe d'une grossesse. De plus, une carence sévère en vitamine B6 peut également faire baisser le taux de transaminases ALAT de 20 %.

Leur taux augmente également au cours de l'infarctus du myocarde ou de la pancréatite aiguë. Taux normaux : ALAT/SGPT : 5 à 23 U/l ; ASAT/SGOT : inférieur à 14 U/l

En générale, le dosage des deux transaminases sera effectué simultanément, et le rapport ASAT/ALAT sera calculé. Ce rapport donne des indications sur le type de lésion ou de l'organe malade. Par ailleurs, quand le rapport ASAT/ALAT > 2 fait davantage penser à une maladie hépatique. Le médecin pourra prescrire d'autres analyses ou examens pour confirmer le diagnostic (comme une biopsie du foie, par exemple). Le traitement instauré dépendra bien sûr de la maladie en cause.

3.2 Créatine-kinase (CK) ou Créatine Phosphokinase (CPK) (EC 2.7.3.2)

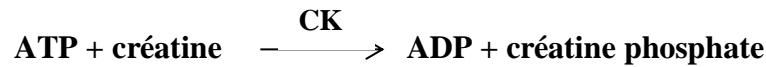
3.2.1 Définition

* **créato** : du grec *kreas, kreatos* (créat(o)-), chair ; * **phospho** : du grec *phôs*, relatif au phosphore ou à ses sels ; * **kin-** : du grec *kinêsis* (kinésie), mouvement ; * **ase** : signifie enzyme.

La **créatinine** est une substance protidique synthétisée par l'organisme à partir d'acides aminés et que l'on trouve en grande quantité dans certains tissus, dont les muscles, où elle est transformée en créatine-kinase.

La **créatine-kinase (CK)** sérique, anciennement dénommée **créatine-phospho-kinase (CPK)**, est une enzyme importante dans le métabolisme énergétique. Elle permet la

conversion de la créatine réaction en phosphocréatine en impliquant la conversion de l'ATP (Adénosine-triphosphate) en l'ADP (Adénosine-diphosphate).



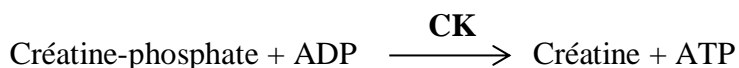
La CK se localise essentiellement dans le muscle striés squelettique, le myocarde, le cœur et le cerveau. Il s'agit d'un dimère, composé de deux sous-unités : M (pour muscle) et B (pour brain). Leurs diverses associations aboutissent à la constitution de trois isoenzymes (isoformes) : CK-MM, CK-MB et CK-BB séparables par électrophorèse et chromatographie.

- **CK-BB** (la plus rapide en électrophorèse) est celle que l'on trouve dans le cerveau,
- **CK-MB** est retrouvée principalement dans le myocarde et le muscle cardiaque,
- **CK-MM**, est la forme principale pour tout type de muscle, la plus importante dans le sérum et la plus lents en électrophorèse.

Son dosage dans le sang permet de soupçonner une atteinte musculaire, cardiaque ou cérébrale.

3.2.2 Dosage

La détermination de l'activité de la CK sérique s'effectue d'une manière indirecte et comme suie :



La vitesse de formation de NADPHH⁺ est directement proportionnelle à l'activité catalytique de la CK, elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance par spectrophotométrie à 340 nm.

3.2.3 Valeurs normales

Les valeurs admises normales pour la CPK sont comprises entre 0 et 200 UI/L (à 37°C) pour les hommes, entre 0 et 170 UI/L (à 37°C) pour les femmes, mais elles peuvent varier

sensiblement d'un laboratoire à l'autre en fonction des techniques de dosage utilisées et de la température.

3.2.4 Variations pathologiques

De nombreuses causes peuvent être à l'origine d'une élévation de CK. En dehors des variations physiologiques (activité physique intense ou traumatismes musculaires), les principales origines d'une élévation des CK (hyperCKémie) sont les atteintes du muscle cardiaque (augmentation de la fraction MB), les atteintes musculaires (augmentation de la fraction MM) et les atteintes des méninges et les traumatismes crâniens (augmentation de la fraction BB).

L'hyperCKémie peut se rencontrer dans de nombreuses pathologies neuromusculaires (myopathies métaboliques, myosites, dystrophies musculaires...) dont elle est parfois la seule manifestation. Des affections endocriniennes (hypothyroïdie, Myxœdème), la rhabdomyolyse, les accidents vasculaires cérébraux (AVCs), la maladie du Duchenne, la prise d'anticoagulants, certains cancers (sein, ovaire, prostate) et les brûlures graves peuvent également engendrer une hyperCKémie.

3.3 Phosphatases

* **phosphato** : relatif au phosphore ou à ses sels, notamment les phosphates ; * **ase** : signifie enzyme.

Une phosphatase est une enzyme qui agit sur les esters phosphoriques (une liaison entre une fonction acide et une fonction alcool) par hydrolyse (la lyse de la liaison en utilisant une ou plusieurs molécules d'eau) en libérant de l'acide phosphorique (H_3PO_4). Certaines de ces phosphatases sont spécifiques d'un ester phosphorique donné. Mais l'essentiel des phosphatases est non spécifique. Ces dernières qui sont dosées dans les laboratoires d'analyses biologiques.

Dans notre corps, les phosphatases sont essentiellement fabriquées au niveau des reins, de l'intestin et surtout des ostéoblastes (cellules précurseurs des cellules osseuses) où elles sont indispensables à la minéralisation du tissu osseux et on les retrouve dans les éléments du sang (globules et plaquettes), et le plasma. Leur élimination se fait par le foie et la bile.

3.3.1 Phosphatase alcaline (PAL) (EC 3.1.3.1)

3.3.1.1 Définition

Comme leur nom l'indique, les phosphatases alcalines agissent à des pH supérieurs à 7, donc dans un milieu alcalin. Elles sont essentiellement présentes dans le foie et dans le tissu osseux.

Dans le plasma d'un sujet normal, on détecte essentiellement 3 activités phosphatasiques alcalines qui se répartissent de la façon suivante : 9% d'origine intestinale, 25% d'origine hépatique et 66% d'origine osseuse.

3.3.1.2 Dosage

La PAL de l'échantillon catalyse l'hydrolyse d'un groupement phosphate d'une variété de composants naturels ou synthétiques. Pour son dosage, le para-nitrophénylphosphate (PNPP) est utilisé comme substrat incolore pour former le para -nitrophénol (PNP) de couleur jaune. L'intensité de la coloration est directement mesurée par spectrophotométrie à 405 nm. L'intensité de la couleur produite est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline présente dans l'échantillon.



Substrat = p-nitrophénylphosphate;

Produit = p-nitrophénol

3.3.1.3 Valeurs normales

À la naissance, le nouveau-né a peu de phosphatases alcalines, mais elles vont rapidement augmenter jusqu'au deuxième mois pour atteindre une valeur relativement stable jusqu'à l'âge de 2 ans. Par la suite, ce taux va régulièrement baisser jusqu'à la puberté et atteindre les valeurs de l'adulte.

En effet, les valeurs normales à 37° C sont : 30 à 111 UI/L pour les adultes et de 80 à 300 UI/L pour les enfants en croissance.

3.3.1.4 Variations pathologiques

L'élévation anormale des phosphatases alcalines hépatiques se produira lors de l'obstruction des voies biliaires, la **jaunisse, ou ictère, lithiase (calculs), tumeur de la vésicule biliaire, du foie, du pancréas et / ou hépatites**. Les phosphatases alcalines osseuses augmentent dans les tumeurs primitives ou métastatiques des os, mais aussi dans d'autres maladies du squelette comme la maladie osseuse de Paget, l'ostéomalacie (ramollissement du tissu osseux), le rachitisme, hyperthyroïdie, etc.

Chez la femme en fin de grossesse et pendant l'allaitement, le taux de phosphatases alcalines augmente aussi de façon normale, du fait de l'exagération de la production de certaines hormones et enzymes par le placenta et les glandes mammaires.

3.3.2 Phosphatase acide (EC 3.1.3.2)

3.3.2.1 Définition

Les phosphatases acides sont des phosphatases qui déphosphorylent les esters organiques ; elles agissent à des pH inférieurs à 7, donc dans un milieu acide. Elles se trouvent dans de nombreux organes comme la prostate, le foie, la rate, le pancréas, les poumons, les reins, les os, les cellules sanguines, le liquide séminal.

3.3.2.2 Dosage

Comme pour les phosphatases alcalines (voir ci-dessous), la méthode de dosage utilise le PNPP (paranitrophénylphosphate) comme substrat et le pH réactionnel est inférieur à 7.

3.3.2.3 Valeurs normales

Les valeurs normales pour les phosphatases acides sont :

Homme : 2 à 5.3 UI/L

Femme : 1.5 à 4.8 UI/L

Enfant: 3.6 à 9.5 UI /L

3.3.2.4 Variations pathologiques

La phosphatase acide est utilisée dans la surveillance des cancers de la prostate et la détection des métastases osseuses et des prostatites. Son élévation est signalée lors d'une

thrombocytose, l'IDM, l'embolie pulmonaire, l'anémie hémolytique, la maladie de Gaucher, la maladie de Paget, etc.

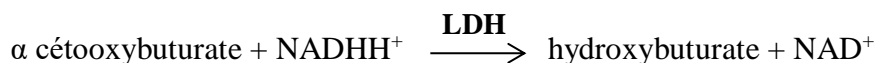
3.4 Déshydrogénases de l'acide lactique (LDH) (EC 1.1.1.27)

3.4.1 Définition

* **lacto** : du latin *lactis*, signifie le lait ; * **dés-** : du préfixe latin dé-, dés], marquant une idée de séparation, de privation ; * **hydro** : du grec *hudôr*, signifie -hydrique, eau ou hydrogène ; * **géno** : du grec *genesis* -genèse, naissance ou formation; * **ase** : signifie enzyme.

Comme toutes les déshydrogénases, la LDH qui catalyse des réactions d'oxydation par déshydrogénation, ou de réduction par hydrogénation. C'est une enzyme universelle, elle existe chez plusieurs microorganismes, les algues, les végétaux, les animaux et même l'être humain.

Elle catalyse la réduction réversible entre α cétooxybuturate et α hydroxybuturate :



Elle permet également l'interconversion entre l'acide pyruvique (le dernier produit de la glycolyse) et l'acide lactique en présence de NADH^+ et NAD^+ . Cette conversion se fait en absence ou en apport insuffisant d'oxygène. Dans cette réaction, LDH est inhibée par des fortes concentrations en lactate, c'est une rétroinhibition ou Feed back.

Les organes les plus riches en LDH sont, par ordre décroissant : les muscles squelettiques, le foie, les reins, le myocarde, les ganglions lymphatiques, le rate, le cortex cérébral et cérébelleux, l'estomac, le pancréas, les hématies. Compte tenu de l'universalité de la répartition de cette enzyme dans les tissus de l'organisme, son augmentation ne sert le plus souvent qu'à indiquer que le patient souffre d'une maladie à évolution active.

Grâce à des méthodes électrophorétiques et chromatographiques, 5 isoenzymes de la LDH sont isolés, notés de 1 à 5. Ces isoenzymes sont tous constitués d'homo ou hétérotétramères de la sous unité **H** (de l'anglais Heart, cœur) et la sous unité **M** (muscle et foie). Leur classification de 1 à 5 a été faite en fonction de leur vitesse de migration électrophorétique, LDH1 étant la plus rapide, LDH5 la plus lente.

LDH₁ (H₄) : localisée au niveau du cœur et les hématies,

LDH₂ (H₃M) : localisée dans le système réticuloendothélial,

LDH₃ (H₂M₂) : localisée dans les poumons,

LDH₄ (H₁M₃) : localisée dans les reins,

LDH₅ (M₄) : localisée dans les muscles striés et le foie.

Généralement, la forme sérique la plus dominante est LDH₂. Chez un individu sain, par conséquent, le rapport LDH₁/LDH₂ < 1.

3.4.2 Dosage



Le pyruvate est réduit au lactate par la lactate-déshydrogénase (LDH) en présence de NADH. Le taux de diminution de la concentration en NADH, mesurée à 340 nm, est directement proportionnel à l'activité LDH dans l'échantillon.

3.4.3 Valeurs normales

Voici, en UI (unités internationales) les valeurs normales : 100 à 240 UI/L à 25°C, 140 à 330 UI/L à 30°C et 200 à 480 UI/L à 37°C. À noter que ces valeurs sont naturellement plus importantes chez le nouveau-né et chez le jeune enfant.

3.4.4 Variations pathologiques

L'augmentation de la concentration sanguine d'un isoenzyme révèle une destruction des cellules du tissu correspondant :

-Dans le diagnostic l'infarctus du myocarde, on se sert surtout de la LDH₁, car elle devient supérieure à LDH₂. C'est donc un bon marqueur clinique de l'infarctus.

-En pathologie hépatique, le taux de LDH est proportionnel à la gravité de l'atteinte tissulaire, ce qui lui donne une réelle valeur. En effet, c'est la LDH₅ qui augmente très fortement et peut alors représenter jusqu'à 50 % de la LDH totale. Elle peut rester élevée plusieurs mois après l'hépatite et le retour à un taux normal est signe de guérison.

-Dans les syndromes néphrotiques ou les insuffisances rénales aiguës, la LDH est presque toujours très élevée et, dans les homotransplantations, l'élévation de la LDH est d'autant plus importante que la greffe est mal tolérée.

-Enfin, de nombreuses autres affections peuvent augmenter de façon significative la LDH : opérations et accidents qui détruisent du tissu musculaire, anémie pernicieuse, crises hémolytiques, tous les cancers ...

3.5 Gammaglutamyl transpeptidase ou GGT (γ GT) (EC 2.3.2.2)

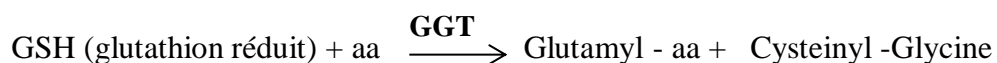
3.5.1 Définition

* **gamma** : du grec γ : 3^e lettre de l'alphabet correspondant à la lettre g ; * **glutamyl** : relatif à l'acide glutamique ; * **ase** : signifie enzyme.

C'est une enzyme qui participe dans le métabolisme des acides aminés, elle catalyse le transfert de groupements gamma glutamyl fonctionnel. C'est une glycoprotéine membranaire (membrane plasmique, la mitochondrie, RER). C'est une enzyme que l'on trouve dans de plusieurs organes et en particulier dans le foie, le rein, le pancréas et la rate. Elle est totalement absente des muscles et du cœur et ses variations dans le sang ne sont dues qu'à l'enzyme du foie et du pancréas.

Cette enzyme, connue aussi sous le nom de gammaglutamyl transpeptidase (ou gamma-glutamyl-transpeptidase) ou gamma-GT joue un rôle dans le transfert transcellulaire des acides aminés et en particulier du glutathion.

Cette enzyme joue un rôle dans le transfert transcellulaire des acides aminés, sur le carbone gamma de l'acide glutamique, en particulier du glutathion. C'est un peptide qui existe sous forme réduite et oxydée, il fait partie du système antioxydant naturel :



3.5.2 Dosage



Le Paranitranilide est un produit jaune qui absorbe à 450 nm, l'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de la GGT dans l'échantillon.

3.5.3 Valeurs normales

La valeur normale du taux sanguin de gamma-GT est
chez l'homme, inférieure à 45 UI/L,
chez la femme, inférieure à 35UI/L.

3.5.4 Variations pathologiques

Le dosage sanguin des gamma-GT est intéressant pour évaluer certaines pathologies hépatiques et biliaires, car son taux plasmatique s'élève de façon significative dans de nombreuses maladies du foie, plus particulièrement l'alcoolisme chronique, les hépatites virales, la cirrhose, la cholestase (obstruction des voies biliaires). Il peut être élevé aussi en raison de la prise de certains médicaments (barbituriques, antidiabétiques, pilule, médicaments contre la tension artérielle, contre l'acide urique, somnifères), l'obésité, une pancréatite aiguë (inflammation du pancréas).

3.6 5' nucléotidase (EC 3.1.3.5)

3.6.1 Définition

La 5'nucléotidase ou nucléotide phosphatase, est une phospho-monoestérase, hydrolysant spécifiquement la liaison ester phosphorique au niveau du ribose 5-phosphate des nucléotides. La réaction aboutit à la formation des nucléosides correspondants, capables de pénétrer beaucoup plus facilement à l'intérieur des cellules. Ces enzymes participent à la dégradation des nucléotides. Elles sont présentes chez tous les êtres vivants.

L'activité 5'nucléotidase est présente dans de nombreux tissus. C'est une protéine membranaire, essentiellement du foie (elle est présente en grande quantité au niveau des parois des canalicules biliaires), mais également du rein et du cerveau. Elle est susceptible d'affecter l'activité neuronale et l'effet des catécholamines.

3.6.2 Dosage

La 5'nucléotidase est une phosphatase comme la phosphatase alcaline et acide ; son dosage est similaire à celui de ces deux enzymes, mais à pH5.5.

3.6.3 Valeurs normales

Les valeurs usuelles de la 5'nucléotidase sérique à 37 °C sont inférieures à 9UI/l.

Enfants : 0.5 - 3.5 UI /L

Adultes : 1.5 - 5.5 UI /L

3.6.4 Variations pathologiques

La détermination de l'activité de la 5'nucléotidase est d'un grand intérêt dans le diagnostic de cholestase, dont elle est un marqueur sensible et plus spécifique que les autres enzymes membranaires hépatocytaires. Sa détermination est souvent associée à celle des phosphatases alcalines pour distinguer une augmentation des phosphatases alcalines d'origine osseuse (5'Nucléotidase normale) ou hépto-biliaire (5'Nucléotidase augmentée).

Son dosage est utile pour caractériser une rétention biliaire, elle permet de lever toute ambiguïté sur l'origine obstructive ou non d'un ictère, l'augmentation de son activité enzymatique précédant le plus souvent celle de la bilirubine. Elle est également demandée pour le diagnostic de la cirrhose biliaire primitive et le cancer du pancréas et des tumeurs hépatiques.

3.7 Aldolase (EC 4.1.2.13)

3.7.1 Définition

* **aldo** : du mot *aldéhyde* ; * **ase** : signifie enzyme.

L'**aldolase** ou fructose 1-6-diphosphate aldolase, est une enzyme impliquée dans le mécanisme biochimique de la glycolyse hépatique et musculaire. C'est une enzyme cytoplasmique. Elle transforme le fructose 1-6-diphosphate en 2 trioses: phosphate de dihydroxyacétone et glycéraldéhyde-3-phosphate.

Par ordre de richesse décroissant, l'aldolase est plus abondante dans les muscles, le foie, le cœur, le cerveau...

C'est une enzyme tétramérique qui possède 3 isoforme :

-L'aldolase **A** (musculaire), elle se trouve dans le cœur et les muscles

-L'aldolase **B** (hépatique), elle se trouve dans le foie, mais également dans les reins et l'intestin grêle

-L'aldolase **C** (cérébrale), elle se trouve dans le cerveau les globules rouges et blancs et les tissus fœtaux

3.7.2 Dosage

Aldolase

Fructose 1-6-diphosphate \longrightarrow glycéraldéhyde-3-phosphate (3PGA) +phosphate de dihydroxyacétone (DHAP)

L'addition du NADPHH^+ permet la réduction de la fonction acétone du DHAP. Le suivi de la diminution de la concentration du NADPHH^+ à 340 nm permet d'évaluer l'activité des aldolases dans l'échantillon.

3.7.3 Valeurs normales

Les valeurs normales sont inférieures à 3.1 UI/L

3.7.4 Variations pathologiques

La détermination de l'activité de l'aldolase est un élément important dans le diagnostic biologique des pathologies musculaires et les intolérances héréditaires au fructose liée au déficit génétique en aldolase

Une aldolasémie (taux de l'aldolase dans le sang) élevée est caractéristique de certaines pathologies, comme l'hépatite infectieuse ou toxique, l'ictère, le cancer du foie, la myopathie du Duchenne ou l'infarctus du myocarde débutant, cancer digestif et pancréatique.

3.8 Amylase (EC 3.2.1.1)

3.8.1 Définition

* **amyl**o : relatif à l'amidon ; * **ase** : signifie enzyme.

L'amylase est une enzyme qui hydrolyse spécifiquement les amidons et le glycogène, au niveau des liaisons 1-4 glycosidique. Il en résulte la formation de maltose et de dextrines. C'est une enzyme digestive, c'est un constituant du suc pancréatique et salivaire. Dans notre organisme, l'amylase est synthétisée par les glandes salivaires et le pancréas.

- L'**amylase salivaire ou ptyaline** est active dans une large zone de pH et agit essentiellement sur l'amidon cuit, au niveau de la cavité buccopharyngée et de l'estomac, avant d'être détruite par les sécrétions acides de la muqueuse gastrique.

- La digestion des amidons sera terminée dans l'intestin grêle, grâce à l'**amylase pancréatique** contenue dans le suc pancréatique.

En effet, il existe deux isoformes séparables par électrophorèse sur l'acétate de cellulose. La forme S (amylase salivaire) et la forme P (amylase pancréatique) ; dont la première migre plus loin que la seconde. Le rapport S/P est normalement compris entre 1,5 et 2. Ces deux isoformes peuvent passer à travers la barrière rénale et rejoindre les urines.

3.8.2 Dosage



CNPG₃ : 2-chloro-4nitrophenyl –α-D-maltotriose

CNP : 2-chloro-4nitrophenol

CNPG₂: 2- chloro-4nitrophenyl –α-D-maltoside

G₃: maltotriose

G : Glucose

La vitesse de formation de 2-chloro-4nitrophenol(CNP) est mesurée par photométrie à 405 nm. Elle est proportionnelle à la catalyse de l' α-Amylase existante dans l'échantillon à doser.

3.8.3 Valeurs normales

Les valeurs usuelles pour l' α-amylase sont comprises entre 10 et 90 UI/L

3.8.4 Variations pathologiques

L'**amylasémie** est le taux d'amylase du sang, régulé en grande partie par le foie. Elle est légèrement augmentée lors de l'hypertrophie des glandes salivaires et l'est davantage encore dans les pancréatites. Le dosage de cette enzyme donc est important pour le diagnostic des pathologies salivaires et pancréatiques.

Chez un sujet sain le rapport S/P est environ 1.5, si le patient a un problème au niveau de la glande salivaire ce rapport sera supérieur de 2, contrairement pour un patient souffrant d'un problème pancréatique ce rapport sera inférieur de 1.5

Une hyperamylasémie est enregistrée en cas de pancréatites, d'ulcère, des appendicites aigue grossesse extra utérine et des pseudokystes pancréatiques. l' α amylase est utilisée également comme marqueur pour dépister les oreillons et les insuffisances rénales graves