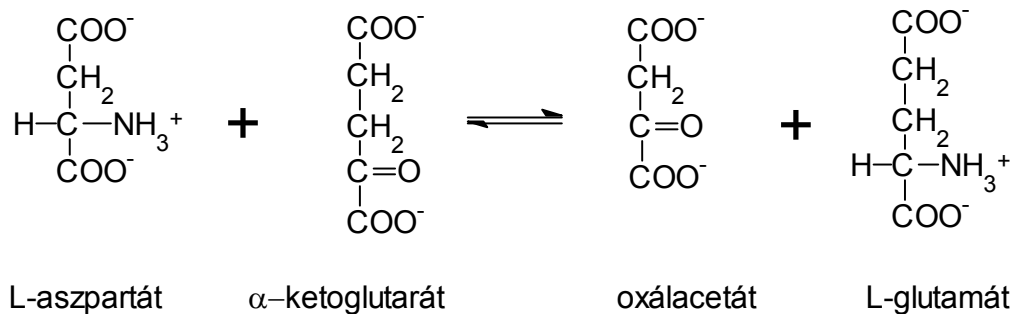


TRANSZAMINÁZOK

Az aminosavak α -aminocsoportjainak α -ketosavakra történő transzferét az aminotranszferázok (transzaminázok) katalizálják. A transzamináz enzimek proszitetikus csoportja a piridoxál-foszfát. Az orvosi diagnosztikában nagy jelentőségű transzaminázok: az aszpartát aminotranszferáz [ASAT], illetve az alanin aminotranszferáz [ALAT]. Használatos az ASAT aktivitás jelölésére a korábbi elnevezés: *glutamát-oxálacetát-transzamináz*, *GOT*, *szérumban mért GOT aktivitás = sGOT*, illetve az ALAT vonatkozásában a *glutamát-piruvát-transzamináz*, *GPT*, *szérumban mért GPT aktivitás = sGPT*.

Az aszpartát aminotranszferáz, ASAT [GOT] (EC 2.6.1.1)

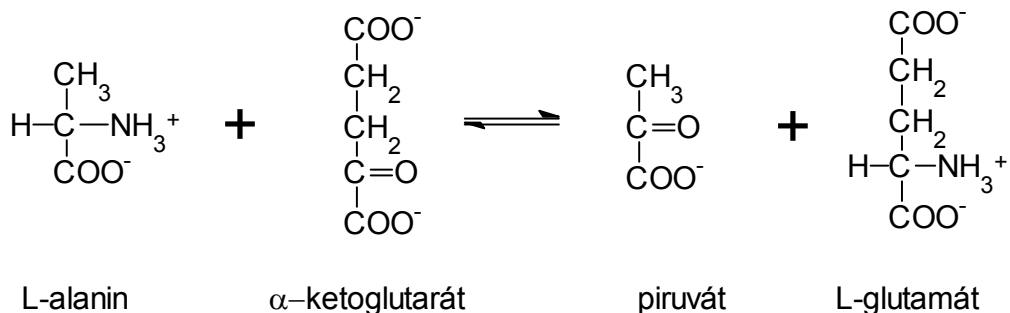
A minden szervben, különösen a májban és a szívizomban magas koncentrációban fellelhető aszpartát aminotranszferáz enzim a következő reakciót katalizálja (1.ábra):



1. ábra: Az ASAT (GOT) enzimaktivitás

Az alanin aminotranszferáz ALAT [GPT] (EC 2.6.1.2)

Főleg a májban, de a vesékben, szívben, vázizomban és más szervekben is kimutatható - a felsorolás sorrendje szerint - csökkenő koncentrációban az alanin amino-transzferáz enzim. Az ALAT a következő reakciót katalizálja (2. ábra):

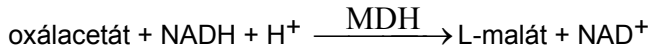


2. ábra: Az ALAT (GPT) enzimaktivitás

Az ALAT intracellulárisan a mitokondriumokban és - az össz-ALAT aktivitás 50-85 %-a - a citoszolban lokalizálódik.

AZ ASZPARTÁT AMINOTRANSZFERÁZ, ASAT (GOT) AKTIVITÁS MEGHATÁROZÁSA

A meghatározás elve



MDH = malátdehidrogenáz

A meghatározás során a NADH koncentráció csökkenés fotometriásan (340 nm-en) követhető.

'AS' Reagens:

80,00	mmol/l	TRIS puffer pH 7,8
200,00	mmol/l	L-aszpartát
0,60	kU/l	Malátdehidrogenáz (MDH)
0,18	mmol/l	NADH
12,00	mmol/l	α -ketoglutarát

Vizsgálati minta: 'normál' és 'beteg' szérum

A vizsgálat kivitelezése

A 'beteg' szérum ASAT-aktivitás meghatározását csak a 'normál' szérum aktivitás vizsgálata - inkubáció, fotometráls - után végezzük el!

Készítsük össze kémcsövekbe az alábbi rendszereket:

Oldatok	1	2
'AS' Reagens ml	1,0	1,0
'normál' szérum ml	0,1 *	0,0
'beteg' szérum ml	0,0	0,1 *
*A reakció indítása. A csövek tartalmát keverjük össze!. Inkubáció 1percen át 37°C-on.		

A pontosan 1 percre inkubált csövek tartalmát töltsük küvetába, majd 340 nm-en olvassuk le az extinkciót desztillált vízzel szemben. Az extinkció percenkénti változását - $\Delta A/\text{perc}$ - határozzuk meg öt percre át történő méréssel.

Számítás

Az enzimaktivitást nemzetközi egységben (IU) fejezzük ki. Az ASAT-aktivitás egysége az az enzimmennyiség, mely 1 μmol aszpartát transzaminálását katalizálja 1 perc alatt, standard kísérleti körülmények között.

$$\text{IU/l} = \Delta A / \text{perc} * \frac{1000 * V}{\epsilon * d * v}$$

ahol:

V a reakcióelegy össztérfogata [ml]

$\epsilon_{\text{NADH } 340 \text{ nm}}$: 6,22 [$\text{cm}^2 \times \text{mól}^{-1}$]

d kivetta rétegvastagsága [cm]

v vizsgált szérum térfogata [ml]

Linearitás

Ha a vizsgált beteg szérummintái a meghatározás során $\Delta A/\text{perc} > 0,150$ értéket mutatnak, a mintát 5- vagy 10-szeresre hígítsuk 0,9 %-os NaCl oldattal, majd ismételjük meg a mérést, és az eredményt 5-tel, vagy 10-zel szorozzuk meg.

AZ ALANIN AMINOTRANSZFERÁZ, ALAT (GPT) AKTIVITÁS MEGHATÁROZÁSA

A meghatározás elve

L-alanin + α -ketoglutarát $\xrightarrow{\text{ALAT}}$ piruvát + L-glutamát

piruvát + NADH + H^+ $\xrightarrow{\text{LDH}}$ L-laktát + NAD^+

LDH = laktátdehidrogenáz

'AL' Reagens

100,00	mmol/l	TRIS puffer pH 7,5
500,00	mmol/l	L-alanin
1,20	kU/l	Laktát dehidrogenáz (LDH)
0,18	mmol/l	NADH
15,00	mmol/l	α -ketoglutarát

Vizsgálati minta: szérum (hemolizált minta alkalmatlan!)

A 'beteg' szérum ALAT aktivitás meghatározását csak a 'normál' szérum aktivitásának vizsgálata - inkubáció, fotometráció - után végezzük el!

A vizsgálat kivitelezése

Készítsük össze kémcsövekbe az alábbi rendszereket

Oldatok	1	2
'AL' Reagens ml	1,0	1,0
'normál' szérum ml	0,1 *	0,0
'beteg' szérum ml	0,0	0,1 *
A reakció indítása A csövek tartalmát keverjük össze! Inkubáció 1 percen át 37°C-on		

A pontosan 1 percre inkubált csövek tartalmát töltsük küvetta alá, majd 340 nm-en olvassuk le az extinkciót desztillált vízzel szemben. Az extinkció percenkénti változását - $\Delta A/\text{perc}$ - határozzuk meg öt percen át történő méréssel.

Számítás

Az enzimaktivitást nemzetközi egységben, (IU) fejezzük ki. Az ALAT-aktivitás egysége az az enzimmennyiség, mely 1 μmol alanin transzaminálását katalizálja 1 perc alatt, standard kísérleti körülmények között.

$$IU/l = \Delta A / \text{perc} * \frac{1000 * V}{\epsilon * d * v}$$

ahol

V a reakcióelegy össztérfogata [ml]

ϵ_{NADH} 340 nm: 6,22 [$\text{cm}^2 \times \text{mól}^{-1}$]

d a küvetta rétegvastagsága [cm]

v a vizsgált szérum térfogata [ml]

Linearitás

Ha a beteg szérummintái $\Delta A/\text{perc} > 0,150$ értéket mutatnak, a mintát 5- vagy 10-szeresre hígítsuk 0,9 %-os NaCl oldattal, ismételjük meg a mérést és az eredményt 5-tel, vagy 10-zel szorozzuk meg.

A transzamináz meghatározás klinikai vonatkozásai

A transzaminázok sejtstruktúra-kötött enzimek. Sejtkárosodás - pl. vírusfertőzés, nekrosis - következtében szérumban aktivitásuk megnő. A két transzamináz aktivitás egyidejű meghatározásának differenciáldiagnosztikai jelentősége van. **Szívinfarktus** után az **ASAT (SGOT)** aktivitása jelentősen megnő, az **ALAT (SGPT)** aktivitása kevésbé emelkedik. **Hepatocelluláris károsodásokat** követően mindkét aktivitás nő, de az **ALAT (SGPT)** szérumban aktivitása nagyobb, mint az **ASAT (SGOT)** szérumban aktivitás. **Akut hepatitis esetében az ASAT/ALAT szérumban aktivitások hányadosa < 1,3, akut infarktus esetében az ASAT/ALAT szérumban aktivitások hányadosa > 1,3.** Az 1. számú táblázat tartalmazza a normál ASAT (sGOT) aktivitásokat.

	U/l 25 °C	U/l 37 °C
Felnőtt: férfiak	≤ 19	≤ 35
nők	≤ 15	≤ 40

1. sz. táblázat: Az ASAT (GOT) enzimaktivitás normálértékei 25 °C-on, illetve 37 °C-on végzett meghatározások alapján

Az **ASAT aktivitás nő**: szívinfarktusban, akut reumatikus karditiszben, szívműtéteket követően nő, majd aktivitása a 10. napot követően csökken; szívkatéterezést követően, külső szívmasszázszt követően, akut hasnyálmirigygyulladás kialakulását követő első 48^h alatt gyenge emelkedés, májsejtek akut sérülése

A normál **ALAT (sGPT)** aktivitásokat a 2. számú táblázat tartalmazza.

	U/l 25 °C	U/l 37 °C
Felnőtt: férfiak	≤ 23	≤ 35
nők	≤ 19	≤ 40

2. számú táblázat: Az ALAT (GPT) enzimaktivitás normálértékei 25 °C-on, illetve 37 °C-on végzett meghatározások alapján

Az **ALAT aktivitás emelkedik**: akut hepatitiszben, máj-cirrózisban, mononukleózisban