

## Enzymes plasmatiques et tissulaires

### Introduction :

Les organismes vivants sont le siège d'un grand nombre de réactions biochimiques diverses. Chez tous les organismes vivants, les réactions chimiques du métabolisme sont catalysées par des molécules de nature protéique que l'on appelle enzymes (E).

### Definitions :

- **Enzyme :** Une enzyme est une molécule (protéine ou ARN dans le cas de ribozyme) permettant d'accélérer jusqu'à des mille de fois les réactions chimiques de métabolisme se déroulant sur le milieu cellulaire ou extracellulaire.  
Les enzymes agissent à faible concentration et elles se retrouvent intactes en fin de réaction, ce sont des biocatalyseurs.
- **Substrat :** Molécule qui entre dans une réaction pour y être transformée grâce à l'action catalytique d'une enzyme.
- **Produit :** Molécule qui apparaît au cours d'une réaction catalysée par une enzyme suite à la transformation de substrat.
- **Ligand :**  
Corps chimique ayant une liaison spécifique avec une protéine, sur un site de fixation bien précis.
- **Cofacteur :**  
Corps chimique non protéique intervenant obligatoirement dans la réaction enzymatique :
  - Pour le transport de substrat.
  - Pour la réception du produit.
  - Comme participant à la structure de l'enzyme.
- **Les cofacteurs peuvent être :**
  - Des ions : le Zinc pour l'anhydrase carbonique.
  - Des molécules : eau
  - Des molécules complexes : synthétisées par la cellule (Dérivés de vitamines, hétérocycles).
- **Le coenzyme :**  
Molécule biologique intervenant comme cofacteur indispensable dans la catalyse enzymatique d'une réaction, il est soit synthétisé par l'organisme (molécule organique) ou apporté par l'alimentation (vitamine).  
il peut être :

#### **Libre :**

- se dissocie de l'enzyme à la fin de chaque réaction.
- il est lié à l'enzyme par des liaisons faibles (type électrostatique).
- la concentration du coenzyme est du même ordre de grandeur que celle du substrat : stoechiométrie.

#### **Lié :**

- ne se dissocie pas de l'enzyme.
- il est lié à l'enzyme par des liaisons fortes (type covalent).
- sa concentration est la même que celle de l'enzyme (faible).
- il est dit groupement prosthétique.

### Generalites sur les enzymes :

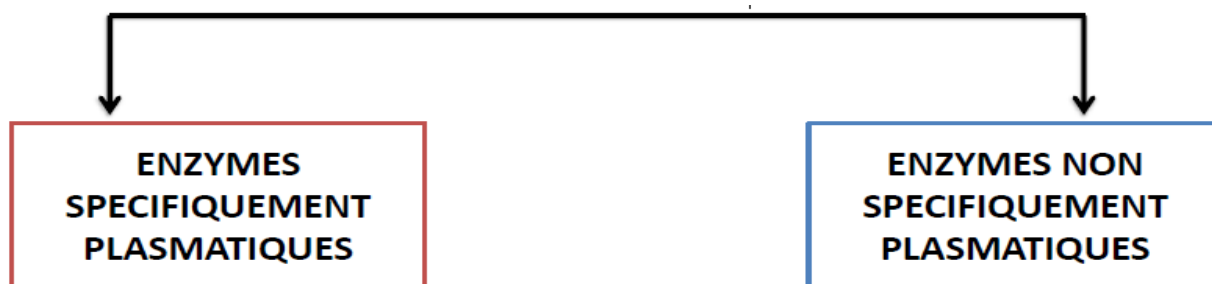
Les éléments non protéiques des enzymes sont des cofacteurs, il en existe deux groupes :

- Chimiquement, ils augmentent la vitesse de réactions chimiques, sans modifier les résultats, en agissant à de très faibles concentrations.
- Ils se trouvent intacts (inchangés) à la fin de la réaction.
- Biologiquement, ils sont produits par la cellule, leur synthèse est déterminée génétiquement.
- Un enzyme donné est spécifique : il transforme un substrat donné (spécificité de substrat) grâce à une réaction donnée (spécificité d'action).

- Les enzymes sont régulables ; ils modifient leur activité catalytique en réponse aux besoins cellulaires.
- Rôle : Ils interviennent dans diverses réactions de dégradation, ou de synthèse

### Origine et localisation :

- Toutes les enzymes sont d'origine cellulaire (Synthèse protéique).
- Les enzymes présentes dans le plasma se répartissent en :



### Enzymes spécifiquement plasmatiques :

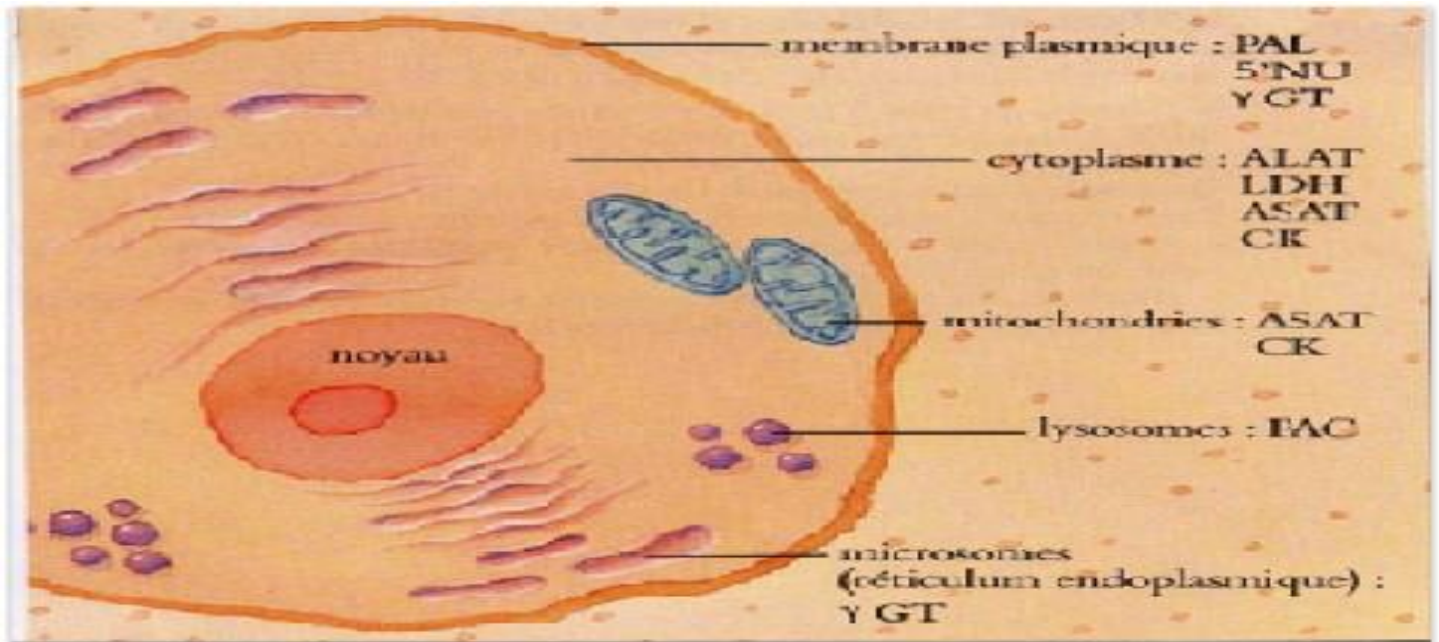
- Composants habituels du plasma qui est leur lieu d'action.
- Elles sont présentes à un taux constant maintenu par la production active d'un ou de plusieurs organes.
- **Exemple :**
  - Cérulé plasmine qui est une enzyme d'oxydation portant un atome de cuivre..
  - Enzymes de la coagulation et de la fibrinolyse.

### Enzymes non spécifiquement plasmatiques :

Enzymes véhiculées dans le sang, n'ayant pas de fonction plasmatique évidente, et présentes normalement à un taux faible. On distingue :

- Enzymes de sécrétion : synthétisées par des glandes exocrines (Phosphatase acide de la prostate ; Amylase et lipase du pancréas) .
- Enzymes du métabolisme : appartiennent à tous les métabolismes et leur nombre est considérable.

Enzyme	Source
• Alanine aminotransférase (ALAT)	• Foie
• Amylase	• Glandes salivaires, pancréas
• Aspartate aminotransférase (ASAT)	• Cœur, muscle squelettique
• Créatine kinase (CK)	• Muscle, cœur, cerveau
• Phosphatase acide (PAC)	• Prostate
• Phosphatase alcaline (PAL)	• Muqueuse intestinale, rein, os



### Liberation des enzymes :

- Le pool cellulaire en enzymes est constant déterminé par renouvellement proteiques et turnover.
- Cependant, dans les situations pathologiques, les fonctions cellulaires sont dérégulées ce qui entraînent la libération des enzymes.
- C'est le stade réversible de la souffrance cellulaire.
- Cependant, quand la cellule est totalement privée de ces fonctions le contenu cellulaire (ions et enzymes) est déversé dans le milieu extracellulaire.

### Diffusion des enzymes :

- Les enzymes libérés de la cellule peuvent emprunter plusieurs voies pour regagner la circulation :
  - Capillaire (directe)
  - Lymphatique (indirecte)
- Leur diffusion est conditionnée par :
  - La proximité entre les cellules lésées et des capillaires sanguins.
  - L'épaisseur de la membrane basale des capillaires.
  - La taille de l'enzyme (PM).

### Elimination des enzymes :

- Les enzymes déversées dans le sang peuvent se diriger vers des organes variés, comme le foie, les reins et l'intestin pour être catabolisées ou éliminées.
- La concentration sérique d'une enzyme à un moment donné dépend de l'équilibre entre deux facteurs : la libération cellulaire et le catabolisme de la protéine.
- On peut donc définir une demi-vie dans le sérum qui est variable d'une enzyme à l'autre. (CKMB (demi-vie 12 à 15 h) se normalise plus vite que celui de LDH1 (demi-vie 50 à 120 h).
- L'activité enzymatique sanguine est en fait la résultante des 3 étapes (libération, diffusion et élimination) ; et c'est cette résultante qui sera dosée dans le sang des malades.

### Méthodes de dosage :

- La Vitesse enzymatique est définie par la vitesse de la réaction de transformation du substrat (S) en produit (P). La mesure de l'activité est fonction de plusieurs facteurs : la nature et la concentration de l'enzyme ; la nature du substrat ; le pH et de la température du milieu.
- On évalue l'activité catalytique de l'enzyme.

- L'activité catalytique de l'enzyme (reflet de sa concentration sérique) dans des conditions déterminées très précisément, en particulier de pH et de température.

### Unités utilisées :

- Unité internationale (UI) : C'est la quantité d'enzyme qui peut transformer 1  $\mu$ mole de substrat, par minute dans les conditions définies de pH, de T° et de concentration en substrat.
- Le  $\mu$ katal : C'est la quantité d'enzyme capable de transformer 1  $\mu$ mole de substrat, par seconde dans les conditions définies de pH, de T° et de concentration en substrat.

### Sémiologie biochimique :

Marqueur de l'étendue et la gravité des lésions

- La quantité d'enzymes libérée est proportionnelle à la masse de cellules détruites, et leur répartition reflète l'équipement enzymatique de ces cellules.
- Les enzymes solubles dans le cytoplasme sont libérées plus facilement (légère lésion) que celles des mitochondries (lésion importante).

Marqueur de l'évolution des lésions

- Les diverses enzymes libérées par un tissu lésé ont des demi-vies différentes dans le plasma ainsi leurs taux respectifs varient lors d'une évolution d'une affection.
- Au cours de l'IDM (infarctus du myocarde), le taux de la « CPK » dont la demi-vie est entre : 12h-15h, se normalise plus vite que le taux de la « LDH » dont la demi-vie est entre 50h-110h.

Marqueur de l'origine des lésions.

- La détermination de l'activité enzymatique permettra de détecter une éventuelle lésion d'un tissu ou organe.
- La spécificité tissulaire de l'enzyme, la sensibilité de ses variations et la fiabilité du dosage.

### Cas des enzymes sériques :

Enzyme	Localisation	pathologie
ASAT, ALAT	sérique	Hépatites virales
PAL	Sérique	Affections osseuses et hépatiques
Lipase, Amylase	Sérique	pancréatites
CKMB	Sérique	Infarctus du myocarde
G6PD	Erythrocyte	Déficit héréditaire en G6PD

### Etude des enzymes tissulaires :

- Les enzymes spécifiquement tissulaires assurent des fonction métaboliques au niveau cellulaire et reflètent l'état fonctionnel d'un organe.
- L'étude de ces enzymes implique préalablement des étapes d'extraction et de purification techniquement délicates.
- Le dosage doit répondre à des conditions strictes : pH, T°, force ionique, [cofacteurs], présence d'activateurs et/ou d'inhibiteurs tissulaires.



- En cas de déficit enzymatique, la voie métabolique sera perturbée soit en amont ou en aval (enzymopathies).

### Sources et modes de prélèvement :

Tissus	Mode de Prélèvement	Contraintes /Précautions
<b>FOIE (+++)</b>	Ponction biopsie (PBH)	Interprétation doit tenir compte : poids de tissus, types Caires , composition ENZ $\neq$
<b>REIN</b>	Ponction biopsie (PBR)	Qté de Tissu faible, Contenu ENZ variable selon les $\neq$ parties du néphron
<b>MUSCLE STRIE</b>	Biopsie = tissu musculaire, fibreux, adipeux...etc	Composition variable selon le type de muscle étudié, (éviter l'homogénéisation = risque de dénaturation ENZ)
<b>INTESTIN</b>	Biopsie intestin grêle	Qté de Tissu faible, Examen histologique nécessaire, influencé par pertes d'eau
<b>OS CARTILAGE</b>	Biopsie trame osseuse	Difficulté techniques pour le prélèvement et l'extraction de l'ENZ
<b>PEAU</b>	Prélèvement à la pince (à ongle)	Étude de certaines activités (histidine $\alpha$ désaminase), culture de fibroblastes

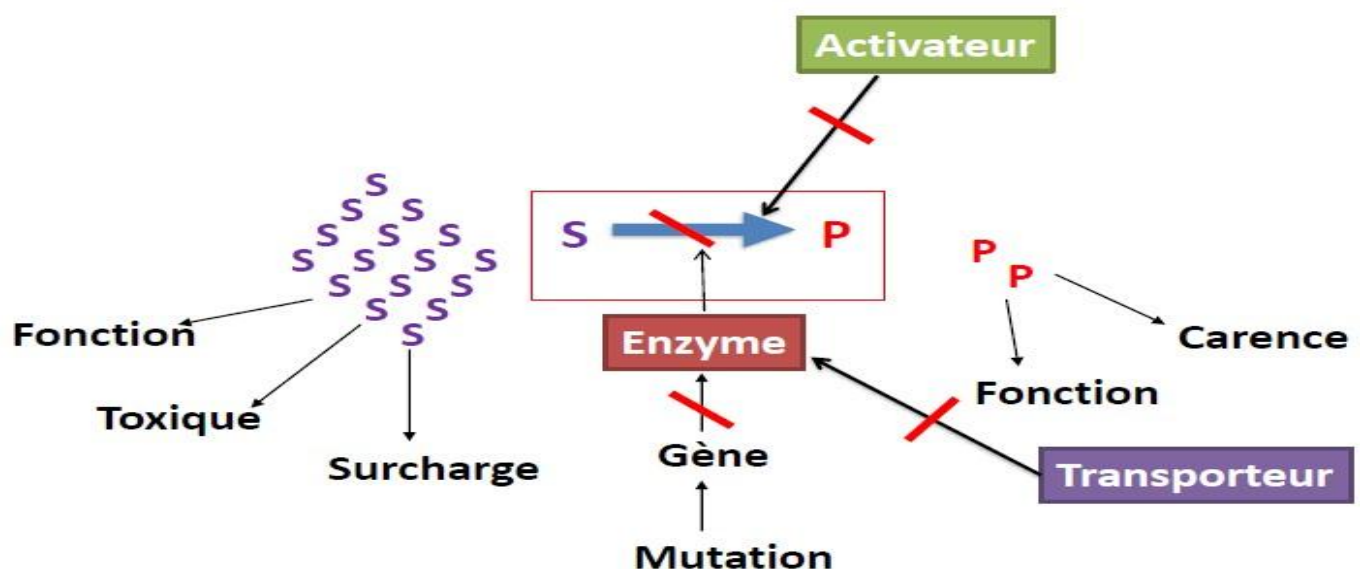
### Exploration des Enzymopathies :

Il peut arriver qu'une enzyme, normalement synthétisée, ne fonctionne cependant pas. Une cause, connue depuis longtemps, est le déficit en une vitamine, indispensable en tant que précurseur de coenzyme.

### Notion de déficit enzymatique :

- En effet, toute modification portant sur le gène d'une enzyme entraîne soit une modification de la structure de l'enzyme rendant l'enzyme moins actif, soit une absence complète de synthèse.
- Et ceci peut être à l'origine d'une incapacité pour la cellule à avoir un métabolisme normal d'où une pathologie associée.
- Le diagnostic des erreurs innées du métabolisme est basé sur la recherche de mutations et la détection des polymorphismes du gène codant de l'enzyme.

### Mécanisme d'une Enzymopathie :



Cas d'enzymopathies :

Functional Category*	Inheritance Pattern	Example Disease(s)	Defective Protein
Enzymes	Autosomal recessive	Phenylketonuria (PKU)	Phenylalanine hydroxylase
		Galactosemia	Galactose-1-phosphate uridylyltransferase
		Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency	Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase
Transport protein	Autosomal recessive	Tay-Sachs disease	Hexosaminidase A
Structural proteins	Autosomal dominant	Thalassemias	$\alpha$ - or $\beta$ -Hemoglobin
		Cystic fibrosis	Chloride channel
		Osteogenesis imperfecta	Type I and type II collagen
Developmental gene expression	Autosomal dominant	Marfan syndrome	Fibrillin
		Hereditary spherocytosis	Spectrin (found in the RBC membrane)
Metabolic receptors	Autosomal dominant	Achondroplasia	Fibroblast growth factor receptor 3 (FGFR3)
		Familial hypercholesterolemia	LDL receptor

\*The information presented conveys the general pattern, but a few exceptions can be found in each category. CoA, coenzyme A; LDL, low-density lipoprotein; RBC, red blood cell.

Conclusion :

En pratique clinique, l'exploration biochimique des enzymes apporte, à côté d'autres biomarqueurs, des informations qui aident au diagnostic de certaines pathologies. Cependant, les enzymes ne peuvent être le marqueur de choix dans l'établissement d'un diagnostic différentiel que si elles ont une spécificité tissulaire ou si elles-mêmes sont à l'origine de la pathologie à explorer.