

实用诊断酶学

王坤 瞿韬 编著
左砚苓



科学技术文献出版社重庆分社

实用诊断酶学

王 坤 瞿 韬 左砚苓 编著
苏学良 审订

科学技术文献出版社重庆分社

实用诊断药学

王 坤 瞿 韬 左砚苓 编著

苏学良 审订

责任编辑 陶思维

科学技术文献出版社重庆分社 出版
发行

重庆市市中区胜利路132号

全 国 各 地 新 华 书 店 经 销
中国科学技术情报研究所重庆分所印刷厂 印刷

开本: 787×1092毫米1/32 印张:22.75 字数: 50万

1989年8月第1版

1989年8月第1次印刷

科技新书目: 199—359

印数: 1-3000

ISBN7-5023-0429-0/R·102

定价: 7.40元

内容提要

疾病诊断学与临床生物化学相结合而产生、发展起来的一门新学科——诊断酶学已日趋广泛地应用于临床,笔者从国内实用的角度出发,简要介绍了临床酶学的新进展和新成就、酶学的基础理论和基本技术,阐述了人体20种体液的酶谱组成、测定意义和变化机理,以及50余种酶的性质、功能、分布、检测、对照参考值和临床意义,着重介绍了实用、准确、可靠的临床酶学测定方法。本书内容新颖、材料丰富,是国内为数不多的一部有一定学术价值的诊断酶学专著。全书共三章,第一章基础酶学,第二章组织与体液酶学,第三章诊断酶学。可供临床医师、检验师、医学院校师生及医学科研人员教学及工作参考。

前 言

酶是一种高效、专一、具有生物催化活性的特殊蛋白质，它是活细胞的成分，由活细胞产生，能在细胞内或细胞外起同样的催化作用。酶是构成生命活动的最重要的因素，机体内各种物质代谢、能量传递、信息转录、神经传导、免疫调节、细胞衰老以及生长发育等等，都有酶参与作用。

正常人体液的酶活性比较稳定，但在病理情况下则常常发生变化。例如，某些组织损伤或细胞通透性增加时，细胞内某些酶可大量释入血液；体内某些物质代谢障碍或酶受抑制、酶排泄障碍时，可导致血清某些酶活性改变；肝功能障碍时，将引起某些酶的合成减少。事实证明，某些疾病的发生，是由于某种酶的不足或缺陷或酶作用受抑制所致。人体内神经体液对代谢的调节以及某些药物的治疗作用，都是通过酶促反应的影响来实现的。由此可见，酶与疾病的病因、诊断及治疗关系密切。体液酶活性测定有助于阐述亚细胞水平的酶作用机制，了解机体的机能状态和某些疾病的发生及发展。

目前，人体内已确认的酶有1100多种，已经鉴定的血清酶就达数百种之多。疾病诊断学与临床生物化学相结合而发展起来的一门新学科——诊断酶学已日趋广泛地应用于临床。

笔者根据我国实际情况，结合自己多年来从事临床酶学研究和生化教学的经验，参阅了国内外1200多篇酶学文献，重点收集了1970~1987年期间医用酶学研究的新进展和新成就，编写成这本国内第一部诊断酶学专著。

本书从国内医院实用的角度出发，简要介绍了酶学的基础理论和基本技术，阐述了人体20种体液的酶谱组成和变化机理以及近50种有诊断价值的酶的性质、功能、分布、检测、对照参考值及临床意义，并从国内外报导的、美国临床化学家协会（AACC）和国际临床化学联合会（IFCC）推荐的酶测定方法中，选择国内大多数医院所能开展的、准确可靠的酶测定法作了详尽介绍。此外，本书还收集了各种酶的对照参考值，使酶学诊断有据可循。

本书可用作医学院校临床生化学及医学检验学专业的酶学教科书、医学研究生及临床检验师的工具书、医学系师生及临床医师的参考书。

天津医科大学苏学良教授审阅本书。部分内容承蒙上海第二医科大学李立群教授、华西医科大学刘秉文教授、苏州医学院莫为乎教授校阅，部分日文资料承梅谊同志协助译校，谨此一并致谢！

限于笔者水平，加之时间仓促，书中谬误及不足之处，恳请同仁指正。

编著者

1987年10月于苏州

1988年10月修改于深圳华联

目 录

第一章 基础酶学.....	(1)
第一节 酶学的发展简史.....	(1)
第二节 酶的基本概念.....	(5)
一、酶的化学本质与特征.....	(5)
二、酶的结构与功能.....	(8)
三、酶催化作用的机理.....	(20)
第三节 酶的测定原理.....	(23)
一、酶的催化活性测定原理.....	(24)
二、酶的免疫化学测定原理.....	(33)
三、酶活性中心滴定法的原理.....	(34)
四、酶活性测定的标准化与质量控制.....	(34)
第四节 酶促反应动力学.....	(36)
一、酶浓度的影响.....	(36)
二、底物浓度的影响.....	(36)
三、pH 的影响.....	(44)
四、温度的影响.....	(44)
五、激活剂的影响.....	(45)
六、抑制剂的影响.....	(46)
七、反应时间及产物的影响.....	(51)
八、缓冲液种类和离子强度的影响.....	(52)
第五节 同工酶.....	(53)

一、概述	(53)
二、同工酶的检测原理	(62)
三、同工酶检测的意义	(69)
四、同工酶的鉴定	(70)
五、同工酶的命名	(70)
第六节 酶的命名与分类	(72)
一、习惯命名的原则	(72)
二、国际系统命名的原则	(72)
三、酶的分类与编号	(73)
第二章 组织与体液酶学	(76)
第一节 组织酶学	(76)
一、酶的组织分布与细胞器定位	(76)
二、组织细胞内酶的更新	(86)
第二节 血清(浆)酶学	(91)
一、正常血清(浆)酶的动态	(91)
二、影响正常血清(浆)酶活性的因素	(94)
三、正常血清(浆)酶的生理差异	(99)
四、病理血清(浆)酶活性异常的机理	(105)
五、病理血清(浆)酶活性的动力学性质	(111)
六、样品采集或储存的技术误差及正常参考值的确定	(116)
七、诊断用血清酶的评价及选择	(123)
第三节 尿液酶学	(137)
一、正常尿液中酶的来源	(137)
二、正常尿酶活性的影响因素	(139)
三、病理条件下尿酶的来源	(140)

四、尿酶活性的计算	(143)
五、尿液样品的收集与储存	(144)
六、尿酶的诊断价值	(147)
第四节 脑脊液酶学	(149)
一、概述	(149)
二、脑脊液酶的来源及酶活性升高的机理	(152)
三、脑脊液酶活性的影响因素	(153)
四、常用的脑脊液酶	(154)
五、疾病诊断学中脑脊液酶学指标的选择	(159)
第五节 胸腔或腹腔积液酶学	(159)
一、胸(腹)腔积液中有诊断价值的酶	(160)
二、胸腔积液酶活性升高的机理	(164)
三、胸腹腔积液诊断酶学指标的选择	(165)
第六节 羊水酶学	(165)
一、有诊断价值的常用羊水酶	(165)
二、羊水中酶的来源与去路	(168)
三、羊水诊断酶学指标的选择	(169)
第七节 其它体液酶学	(170)
一、泪液	(170)
二、房水	(171)
三、唾液	(171)
四、胃液	(173)
五、十二指肠液与胰液	(175)
六、胆汁	(179)
七、呼吸道分泌物及支气管肺泡灌洗液	(179)
八、心包液	(180)
九、阴道液	(180)

十、精液及前列腺分泌液·····	(181)
十一、关节滑液·····	(182)
十二、皮肤疱疹液与水泡液·····	(184)
十三、囊肿液·····	(185)

第三章 诊断酶学·····(186)

第一节 氧化还原酶类·····(186)

一、(乙)醇脱氢酶 (EC 1.1.1.1, AD或ADH) ·····	(186)
二、山梨醇脱氢酶 (EC 1.1.1.14, SD或SDH) ···	(191)
三、乳酸脱氢酶 (EC 1.1.1.27, LD或LDH) ·····	(196)
四、苹果酸脱氢酶 (EC 1.1.1.37, MD或MDH) ·····	(219)
五、异柠檬酸脱氢酶 (EC 1.1.1.42, ICD或ICDH) ·····	(223)
六、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (EC 1.1.1.49, G6PD 或 G6PDH) ·····	(232)
七、3-磷酸甘油醛脱氢酶 (EC 1.2.1.12, GAPD 或 GAPDH) ·····	(240)
八、黄嘌呤氧化酶 (EC 1.2.3.2, XO或XOD) ···	(244)
九、谷氨酸脱氢酶 (EC 1.4.1.3, GLD或GDH) ·····	(250)
十、单胺氧化酶 (EC 1.4.3.4, MAO) ·····	(259)
十一、谷胱甘肽还原酶 (EC 1.6.4.2, GR) ·····	(267)
十二、过氧化氢酶 (EC 1.11.1.6, Ctl) ·····	(273)
十三、多巴胺-β-羟化酶 (EC 1.14.17.1, DBH)···	(276)
十四、亚铁氧化酶 (铜蓝蛋白EC 1.16.3.1, CP) ·	

.....	(283)
第二节 转移酶类.....	(293)
一、鸟氨酸氨基甲酰转移酶 (EC 2.1.3.3, OCT)	
.....	(293)
二、卵磷脂胆固醇脂酰转移酶 (EC 2.3.1.43, LC-AT)	(301)
三、 γ -谷氨酰转移酶 (EC 2.3.2.2, γ -GT)	(311)
四、唾液酰基(涎基)转移酶 (EC 2.4.99.1, ST)	
.....	(335)
五、天门冬氨酸转氨酶 (EC 2.6.1.1, AST) 和丙氨酸转氨酶 (EC 2.6.1.2, ALT)	(341)
六、丙酮酸激酶 (EC 2.7.1.40, PK)	(365)
七、肌酸激酶 (EC 2.7.3.2, CK)	(371)
八、磷酸葡萄糖变位酶 (EC 2.7.5.1, PGM)	(397)
九、脱氧核糖核酸聚合酶 (EC 2.7.7.7, DNAP)	
.....	(403)
第三节 水解酶类.....	(407)
一、(胰)脂酶 (EC 3.1.1.3)	(407)
二、磷脂酶 A_2 (EC 3.1.1.4, PLA_2)	(416)
三、乙酰胆碱酯酶 (EC 3.1.1.7, AChE) 和拟胆碱酯酶 (EC 3.1.1.8, PChE)	(422)
四、碱性磷酸酶 (EC 3.1.3.1, ALP或AKP)	(439)
五、酸性磷酸酶 (EC 3.1.3.2, ACP或AP)	(463)
六、5'-核苷酸酶 (EC 3.1.3.5, 5'-NT)	(477)
七、5'-核苷酸磷酸二酯酶 (EC 3.1.4.1, 5'-N-PD或5'-NPDase)	(486)
八、芳香基硫酸酯酶 (EC 3.1.6.1, ARS或AS)	

.....	(495)
九、核糖核酸酶 (EC 3.1.27.5, RNase)	(506)
十、淀粉酶 (EC 3.2.1.1, Amy或AMS)	(514)
十一、溶菌酶 (EC 3.2.1.17, LZM或Lys)	(533)
十二、 β -D-葡萄糖苷酸酶 (EC 3.2.1.31, β -GD或 β -G)	(541)
十三、甘氨酸脯氨酸二肽氨基肽酶 (EC 3.4.1.45, GPDA)	(549)
十四、血管紧张素 I 转化酶 (EC 3.4.15.1, ACE)	(555)
十五、胃蛋白酶 (原) (EC 3.4.4.1, PG)	(564)
十六、亮氨酸氨肽酶 (EC 3.4.11.1, LAP) 与芳 香基酰胺酶 (EC 3.4.11.2, AA)	(570)
十七、胰蛋白酶 (EC 3.4.21.4)	(581)
十八、弹性蛋白酶 (EC 3.4.21.11, ET)	(588)
十九、精氨酸酶 (EC 3.5.3.1, Arg)	(591)
二十、鸟嘌呤脱氨酶 (EC 3.5.4.3, GD)	(600)
二十一、腺苷脱氨酶 (EC 3.5.4.4, ADA)	(610)
第四节 裂合酶类与异构酶类	(618)
一、醛缩酶 (EC 4.1.2.13, Ald)	(618)
二、烯醇化酶 (EC 4.2.1.11)	(635)
三、精氨酸代琥珀酸裂解酶 (EC 4.3.2.1, AS- AL)	(641)
四、磷酸葡萄糖异构酶 (EC 5.3.1.9, GPI)	(646)
〔附录〕 本书各章的参考文献	(652)

第一章 基础酶学

第一节 酶学的发展简史

中国人民在长期的生产和生活实践中，不仅丰富了祖国医药学的伟大宝库，而且在生物化学和酶学发展史上，也写下了不朽的篇章。

早在夏禹时代（公元前21世纪），我国人民就知道用酶进行发酵酿酒；周朝（公元前12世纪）时，已知将豆做成酱，或制成豆豉和酱油。距今三千多年前，我国已能制造饴糖，同期还能将酒发酵制成醋。远在公元前6世纪，我国已用曲治疗胃肠病。此外，我国民间流行服用焙干的鸡胃粘膜以消腹实的方法，也与鸡胃粘膜含有丰富的消化酶有关^[1~4]。这些历史的事实，雄辩地证明了我国人民高度的民族智慧和积累的丰富的酶学知识。

近代酶学的系统研究始于18世纪末叶。1873年，Spallanzani用铁丝盒盛肉饲鹰，因过时才取出，发现肉已被液化。这可以说是酶催化试验的开端。19世纪初，Planche从植物根中提出了一种可溶于水但不耐热的组分，能使愈疮木酞液变成蓝色。这大概是第一种被发现的酶了。1836年，Schwann于胃中提出了胃蛋白酶，并对其作用进行了说明^[1,5]。

在发现酶的早期，学者们注意到酶的作用与酵母的发酵作用颇为相似，因而用酵素（ferment）这一名词来称呼酶

(enzyme)。1871年, Pasteur证明葡萄糖能生成乙醇与 CO_2 , 是由于酵母细胞活动的结果。他的工作虽对发酵工业的发展有巨大的贡献, 但他错误地认为生醇发酵过程是完整的酵母细胞中“活体酶”作用的结果, 而将无需完整细胞参与的作用(如麦芽汁水解淀粉等)称为“非活体酶”, 致使发酵过程被染上了神秘的“活力论”色彩。当时Liebig反对这种观点, 认为发酵过程纯属化学作用, 但未能获得无细胞的酶制品, 因而未受到广泛的支持。直至1897年, Buchner兄弟将砂与酵母混研, 榨出的不含完整细胞的液汁, 仍能催化糖生成乙醇与 CO_2 。这一发现才有力地批判了“活力论”, 引进了生物催化剂的概念, 为酶学的发展开辟了崭新的途径^[1, 2, 6, 7]。

19世纪后半叶, 还从酵母中分离出蔗糖酶, 用吸附法使胰蛋白酶与胰淀粉酶分开, 发现了某些酶的催化作用需要辅酶(co-enzyme)参加等等, 为后来酶学的发展奠定了良好的基础^[1]。

20世纪初, 生化工作者提出所谓“锁与钥匙”来解释酶的特异性, 并肯定酶的作用受离子浓度的影响。1913年, Michaelis和Menten发表了著名的酶促蔗糖转化的动力学原理。随后, 甲烯蓝作为受氢体的应用, 采用气压计法测定氧化还原酶类, 使酶的定量测定达到了新的水平。随后, 尿素酶及一系列蛋白酶结晶的获得, 从根本上澄清了对酶本质的模糊概念, 证实了酶的本质是蛋白质^[1, 7]。

1937年以来, 由于对细胞内酶的分离与纯制, 使酶学发展更进了一步, 不仅更多地探明了酶的种类, 而且对酶的结构与功能的关系进行了深入研究。许多酶活性中心的氨基酸残基和各种活性基团均已被逐渐阐明, 如胰蛋白酶、糜蛋白酶的活性中心含有丝氨酸及组氨酸残基^[4], 肌酸激酶的活性

基团含有半胱氨酸的巯基^[5,8]等。活性基团的确定是当代酶学中最引人注目的问题之一，是研究结构与功能，探索生命现象的关键环节。

本世纪中叶，学者们对体内酶的产生、分布、细胞内定位，以及各种酶之间的关系作了进一步阐明，致使体内许多重要的物质代谢体系（如糖的酵解与氧化、脂酸的 β 螺旋氧化、尿素的鸟氨酸循环生成等）得以肯定，并从酶学水平上揭开生命现象的规律和本质，从而为掌握和控制生命过程创造了条件。

本世纪60年代，Jacob提出了别构酶的功能和作用的假设，为解释酶的结构与功能提供了新的依据。1969年，Gutle等人工合成了具有催化活性的牛胰核糖核酸酶，也是酶学发展史上的可喜成就。70年代中期以来，不断发现某些核糖核酸也具有酶的催化活性，被认为是近代生化领域中最令人鼓舞的发现之一^[10,11]。

此外，60年代后期由于酶的固定化技术的发展，使酶的应用达到了新的水平，固定化酶不仅具有巨大的实用价值，而且对阐明酶的作用机理提供了有效的工具和途径^[12]。

自1926年获得尿素酶结晶以来，迄今已发现有2000多种酶，其中1000多种已达到均一的纯度，数百种酶还得到了结晶。^[4,9,11,13,14]有关酶学的研究论文几乎已占有生化论文数的 $\frac{1}{3}$ 以上。

临床诊断酶学的实际应用始于本世纪之初，至今已有80余年的历史。早在1900年已发现，血清脂肪酶活性的升高，对于急性胰腺炎有特异的诊断价值。随后相继发现患有某些骨疾病或阻塞性黄疸时，病人血清碱性磷酸酶活性升高；前列腺癌发生骨转移的患者，其血清酸性磷酸酶活性增强。后

又有人证实，肿瘤细胞在有氧条件下也能进行生成大量乳酸的酵解过程，故病人血清中糖酵解酶类可因肿瘤组织的释出而升高。1954年，Karmen、La Due、Wróblewski等人先后证实转氨酶对急性心肌梗塞和肝炎有诊断价值，肝病或冠状动脉梗塞的患者，其血清乳酸脱氢酶活性亦有明显改变。这些发现表明，细胞损伤可引起受损细胞内的酶释入血流，导致血流中相应酶的含量增高，因而测定血中酶的活性有助于某些器官疾病的诊断。于是，有学者对血清中的重要代谢酶类与某些特定组织器官发生病变的联系逐个地进行了研究，使诊断酶学得到了重要的发展，并肯定了肝脏、心脏、血液、肌肉、胰腺、胃肠道、肾脏发生病变和出现恶性肿瘤时，病人血中酶活性的变化情况。[9-12-17]

早在本世纪30年代，我国就开始了诊断酶学及其它酶学的研究。继淀粉酶、脂酶、碱性磷酸酶和酸性磷酸酶在诊断医学中应用之后，黄大有等人在60年代初期，先后证实了丙氨酸转氨酶对肝细胞损伤有重要的诊断价值，天门冬氨酸转氨酶对急性心肌梗塞的早期诊断有重要意义。[1-18]随后，血清醛缩酶、胆碱酯酶、鸟氨酸氨基甲酰转移酶、亮氨酸氨肽酶等的诊断价值也在国内相继报告。70年代又报告了血清卵磷脂胆固醇酰基转移酶、山梨醇脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶、精氨酸代琥珀酸裂解酶、 γ -谷氨酰转移酶、脱氧核糖核酸聚合酶、5'-核苷酸磷酸二酯酶同工酶、肌酸激酶同工酶及醛缩酶同工酶等酶的诊断价值，开始缩短和国外的差距。此外，我国在酶学其它方面的研究也取得了可喜的突破。如提出了一种计算必需基团的方法，用X-射线衍射方法测定酶的三级结构等。目前，国内的一些实验室已经设置了高分辨率的核磁共振仪，对酶的多维结构的测定一定会取得重大的成

果。对于酶的三维结构与功能的关系,我国已做了比较系统的工作,在理论上和实验上也有一定的发展^[11]。

此外,近30年来,国内外还对其它体液,如胸脊液、尿液、精液、胸腹腔积液、胃液、唾液、关节液、阴道液、泪液、呼吸道冲洗液、囊肿液、水泡或疱疹液、胆汁及羊水等所含的酶活性及其诊断价值,亦进行了广泛的研究;活组织的酶组织化学研究亦用于疾病的诊断,并取得了肯定的价值。总之,目前用于诊断的酶类已超过100种以上,常用的且有肯定诊断价值的血清酶亦达数十种之多。^[7,9,13~17,20,21]

第二节 酶的基本概念

由于酶的作用与发酵时酵母的作用相似,故早期曾称酶为“酵素”(ferment)。1878年,Köhne正式以酶(enzyme)相称^[7],"en"为内在之意,"-zyme"来自希腊语"ζυμη",意为“酵母”或转意为“酶”,现已为各国所采用。但酵素一词仍为某些国家(如联邦德国、日本)所沿用。我国所用的“酶”字甚佳,按《五音集韵》称,酶“酒母”也,又《会韵》载,酶“通作媒”,可见“酶”字不仅在意义上与西文enzyme或ferment(均与酿酒发酵有关)相通,而且比“酵素”一词简洁。在西文中,酶名之尾常为“-ase”,个别酶则为“-in”。我国均以尾缀“酶”字示之,亦甚合理。

一、酶的化学本质与特性

酶是由组织细胞合成的具有特殊催化功能的蛋白质,是对化学反应具有强大催化性,对作用物有严格选择性的生物催化剂。