

ФГБОУ ВО НГМУ
Медико-профилактический факультет
Кафедра медицинской химии



ВВЕДЕНИЕ

В БИОЛОГИЧЕСКУЮ ХИМИЮ

ЭНЗИМОЛОГИЯ

Лекция для студентов медико-профилактического факультета, обучающихся по специальности 32.05.01 «Медико-профилактическое дело»

Дисциплина С2.Б5 Биологическая химия

Лектор – ст.преподаватель Тюрина Е.Э.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ

- Изучение ферментов необходимо для понимания связи между ферментами и наследственными болезнями обмена веществ
- Изучение ферментов позволяет расширять область их использования в медицине
- Успехи биохимии, молекулярной биологии и медицины связаны с развитием энзимологии



ПЛАН ЛЕКЦИИ

- ? 1. Свойства ферментов как белковых катализаторов
- ? 2. Активный центр: специфичность действия ферментов
- ? 3. Механизм действия ферментов
- ? 4. Кофакторы и коферменты
- ? 5. Классификация и номенклатура ферментов
- ? 6. Основы кинетики ферментативного катализа
- ? 7. Регуляция активности ферментов
- ? 8. Ингибиторы активности ферментов
- ? 9. Применение ферментов в медицине
- ? 10. Энзимопатии



ЦЕЛИ ЛЕКЦИИ

Знать:

- ? 1. Особенности строения ферментов как белковых катализаторов.
- ? 2. Виды специфичности ферментов.
- ? 3. Основы классификации ферментов, классы ферментов, примеры катализируемых ферментами реакций.
- ? 4. Строение коферментов и кофакторов и их роль в ферментативном катализе, роль витаминов в этом процессе.
- ? 5. Способы регуляции активности ферментов.
- ? 6. Применение ферментов в медицине.



- ? **Ферменты - это белковые катализаторы, ускоряющие химические реакции в живых клетках.**
- ? Они обладают всеми свойствами, характерными для белков, и определенными особенностями строения, обуславливающими их каталитические свойства.
- ? Ферменты подчиняются общим законам катализа и обладают свойствами, характерными для небиологических катализаторов: *ускоряют энергетически возможные реакции, сохраняют энергию химической системы постоянной, не расходуются в процессе реакции.*



ОСОБЕННОСТИ ФЕРМЕНТОВ КАК КАТАЛИЗАТОРОВ

- ? Уникальность структуры
- ? Высокая эффективность катализа
- ? Высокая специфичность действия
- ? Конформационная лабильность
- ? Регулируемая активность
- ? Проявляют активность в оптимальных для организма условиях

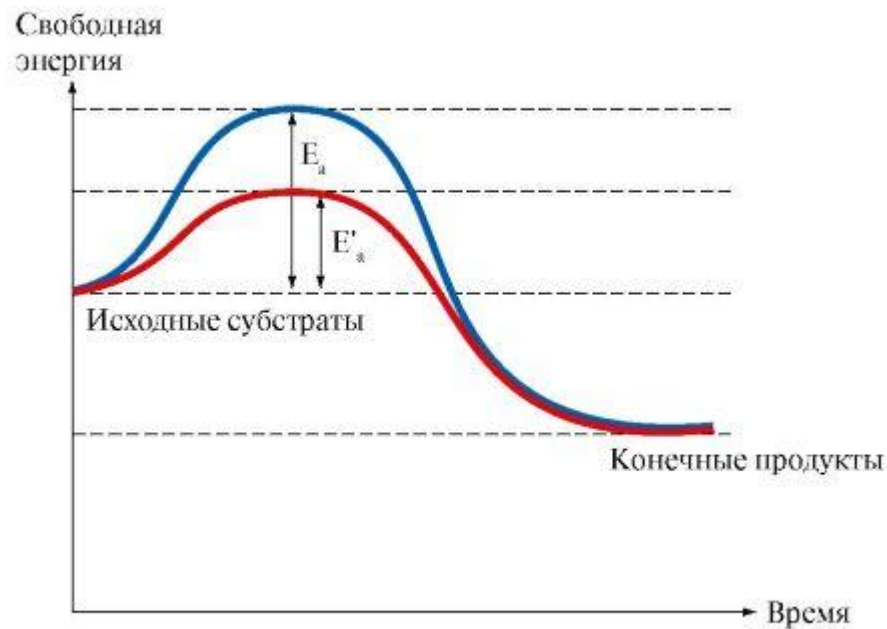


АКТИВНЫЙ ЦЕНТР

? Биологическая функция фермента, как и любого белка, обусловлена наличием в его структуре активного центра, с которым взаимодействует определенный лиганд. Лиганд, взаимодействующий с активным центром фермента, называется **субстратом**.



Большинство катализируемых ферментами реакций высокоэффективны, они протекают в 10^8 - 10^{14} раз быстрее, чем некатализируемые реакции. Каждая молекула фермента способна за секунду трансформировать от 100 до 1000 молекул субстрата в продукт.



E_a — энергия активации некатализируемой реакции

E'_a — энергия активации катализируемой ферментом реакции



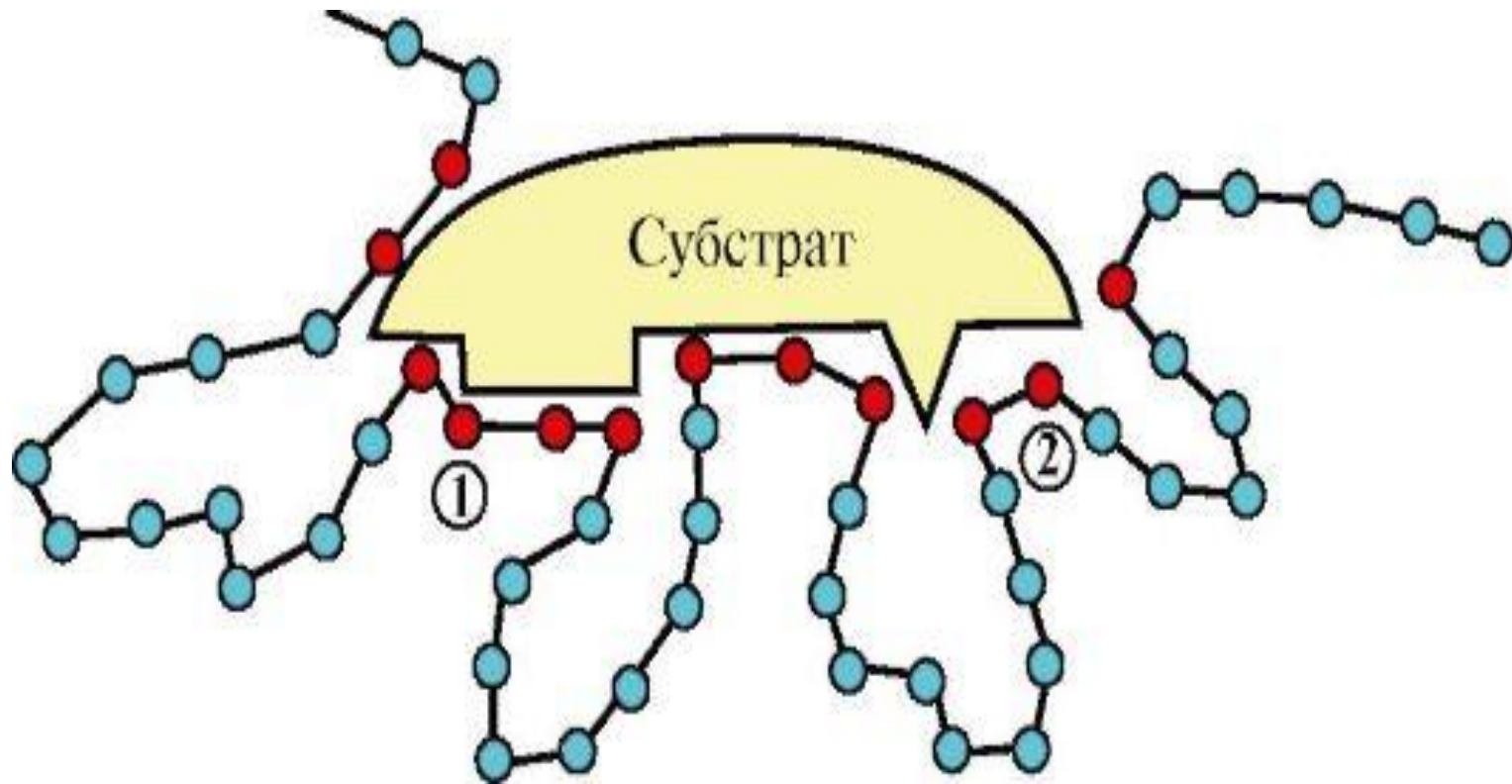
АКТИВНЫЙ ЦЕНТР ФЕРМЕНТОВ

- ? это определенный участок белковой молекулы, способный комплементарно связываться с субстратом и обеспечивающий его каталитическое превращение.
- ? Структура активного центра сформирована радикалами аминокислот, так же как и в случае активного центра любого белка.
- ? В активном центре фермента имеются аминокислотные остатки, функциональные группы которых обеспечивают комплементарное связывание субстрата (участок связывания), и аминокислотные остатки, функциональные группы которых осуществляют химическое превращение субстрата



1-УЧАСТОК СВЯЗЫВАНИЯ

2-КАТАЛИТИЧЕСКИЙ УЧАСТОК



СПЕЦИФИЧНОСТЬ

- ? Различают **субстратную** и **каталитическую** **специфичности фермента**, которые определяются строением активного центра.
- ? Под **субстратной специфичностью** понимается способность каждого фермента взаимодействовать лишь с одним или несколькими определенными субстратами.



РАЗЛИЧАЮТ:

- ? **абсолютную субстратную специфичность**, если активный центр фермента комплементарен только одному субстрату;
- ? **групповую субстратную специфичность**, если фермент катализирует однотипную реакцию с небольшим количеством (группой) структурно похожих субстратов;
- ? **стереоспецифичность**, если фермент проявляет абсолютную специфичность только к одному из существующих стереоизомеров субстрата.



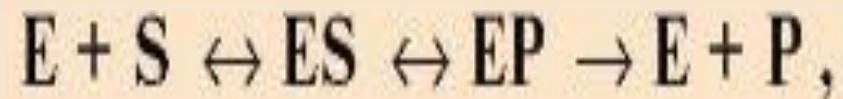
КАТАЛИТИЧЕСКАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ

? специфичность пути превращения субстрата, обеспечивает преобразование одного и того же субстрата под действием разных ферментов.



МЕХАНИЗМ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

? Схематично процесс катализа можно представить следующим образом:

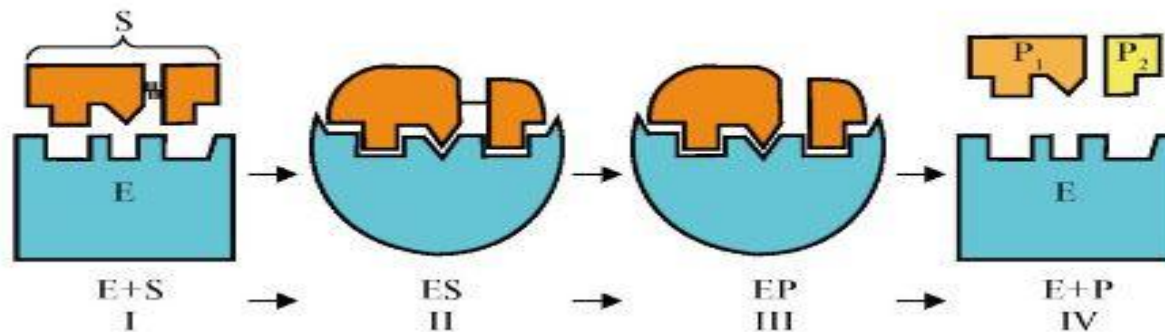


где E — фермент (энзим), S — субстрат, P — продукт.



ЭТАПЫ ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА

- ? I - этап сближения и ориентации субстрата в активном центре фермента;
- ? II - образование фермент-субстратного комплекса (ES);
- ? III - образование нестабильного комплекса фермент-продукт (EP);
- ? IV - высвобождение продуктов реакции из активного центра фермента



ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ ФЕРМЕНТЫ

- ? В состав простых ферментов входят только α -L-аминокислоты, в состав сложных — небелковый компонент — кофактор
- ? Простыми являются пищеварительные ферменты
- ? Большинство ферментов — сложные, олигомерные
- ? Различают две группы кофакторов: ионы металлов и коферменты.



ИОНЫ МЕТАЛЛА

УЧАСТВУЮТ В ФУНКЦИОНИРОВАНИИ ФЕРМЕНТА

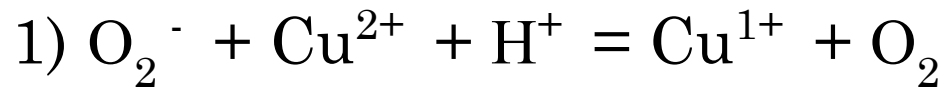
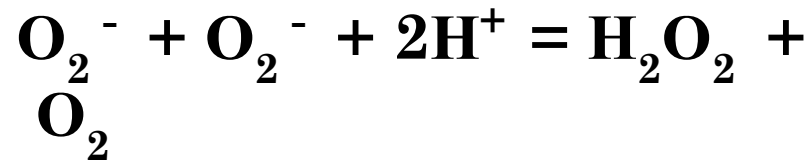
РАЗЛИЧНЫМИ СПОСОБАМИ:

- ? Изменяют конформацию молекулы субстрата
- ? Обеспечивают нативную конформацию активного центра фермента
- ? Стабилизируют конформацию белковой молекулы фермента
- ? Непосредственно участвуют в ферментативном катализе



Cu, Zn-СУПЕРОКСИДДИСМУТАЗА (СОД)

- ? Zn необходим для стабилизации молекулы
- ? Cu – активный участник в реакции дисмутации супероксид-аниона:



КОФЕРМЕНТЫ

- ? **Коферменты** являются органическими веществами, чаще всего производными витаминов (нуклеотидов, гема), которые непосредственно участвуют в ферментативном катализе, так как находятся в активном центре ферментов.
- ? Фермент, содержащий кофермент и обладающий ферментативной активностью, называют **холоферментом**. Белковую часть такого фермента называют **апоферментом**, который в отсутствие кофермента не обладает каталитической активностью.



КЛАССИФИКАЦИЯ КОФЕРМЕНТОВ ПО ПРОЧНОСТИ СВЯЗИ

- ? Слабые химические взаимодействия - кофермент связывается с белковой частью фермента только в момент реакции
- ? Ковалентная связь с апоферментом – в этом случае кофермент называется **простетической группой**



КОФЕРМЕНТЫ, ОБРАТИМО СВЯЗАННЫЕ С АПОФЕРМЕНТОМ

- ▣ NAD^+ , NADP^+ – кофермент оксидоредуктаз, источник синтеза – никотиновая кислота (vit PP)
- ▣ *HS-CoA (кофермент A)* - кофермент ацилтрансфераз, источник синтеза – пантотеновая кислота (vit B₅)
- ▣ *тетрагидрофолат (H₄-фолат)* - кофермент трансфераз - переносчиков C1-фрагментов, источник синтеза – фолиевая кислота (vit B₉)



ПРОСТЕТИЧЕСКИЕ ГРУППЫ

- ? **флавиновые нуклеотиды *FAD, FMN*** – коферменты оксидоредуктаз, источник синтеза - рибофлавин (vit B₂)
- ? **пиридоксальфосфат** - кофермент аминотрансфераз, источник синтеза - пиридоксин (vit B₆)
- ? **тиаминпирофосфат** - кофермент оксидоредуктаз в реакциях окислительного декарбоксилирования кетокислот и кетосахаров, источник синтеза – тиамин (vit B₁)
- ? **биоцитин** - кофермент лигаз, образующих связи C – C, источник синтеза - биотин (vit H)



ЗАДАНИЕ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

1. Заполните таблицу

Кофермент	Витамин
Тиаминдифосфат	B ₁

2. Дайте определение понятия «Мультиферментный комплекс» и приведите примеры таких комплексов в клетке.



КЛАССИФИКАЦИЯ И НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

В названии большинства ферментов содержится суффикс «аза», присоединенный *к названию субстрата реакции*

- ? уреаза,
- ? сахараза,
- ? липаза,
- ? нуклеаза

или *к названию химического превращения определенного субстрата*

- ? лактатдегидрогеназа,
- ? аденилатциклаза,
- ? фосфоглюкомутаза
- ? пируваткарбоксилаза



МЕЖДУНАРОДНЫЙ СОЮЗ БИОХИМИИ И МОЛЕКУЛЯРНОЙ БИОЛОГИИ (IUBMB) В 1961 Г.

- ? Все ферменты делятся на шесть основных классов в зависимости от типа катализируемой химической реакции
- ? Каждый из шести классов имеет свой порядковый номер, строго закрепленный за ним: 1-й класс - **оксидоредуктазы**; 2-й класс - **трансферазы**; 3-й класс - **гидролазы**; 4-й класс - **лиазы**; 5-й класс - **изомеразы**; 6-й класс - **лигазы**.



1. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ КАТАЛИЗИРУЮТ РАЗЛИЧНЫЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ РЕАКЦИИ.

КЛАСС ДЕЛИТСЯ НА ПОДКЛАССЫ:

- ? а) **дегидрогеназы** катализируют реакции дегидрирования (отщепления водорода с переносом электронов от дегидрируемого субстрата на другой акцептор).
- ? В качестве акцепторов электронов используются коферменты NAD^+ , NADP^+ , FAD , FMN .
- ? К этому подклассу относятся ферменты малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа, сукцинатдегидрогеназа и др.;



НАПРИМЕР, ФЕРМЕНТ МАЛАДЕГИДРОГЕНАЗА

L-МАЛАТ: NAD-ОКСИДОРЕДУКТАЗА

КОДОВОЕ ЧИСЛО - 1.1.1.38

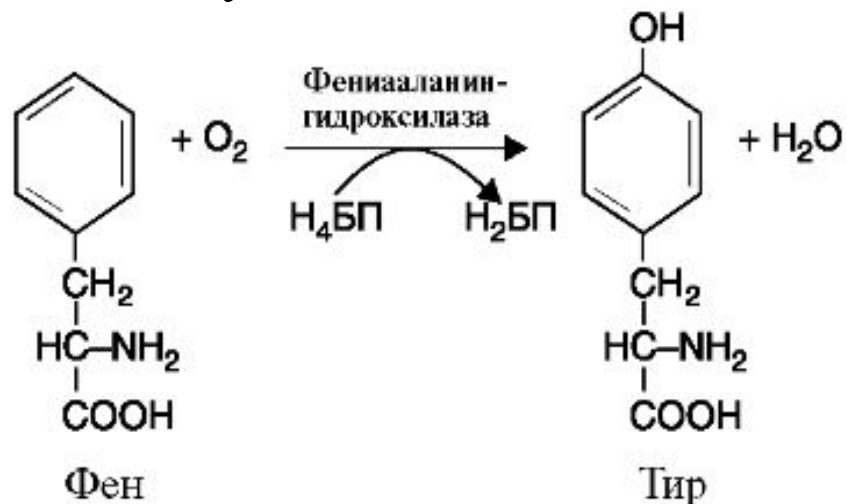
- ? первая цифра означает номер класса ферментов (в данном случае цифра 1 свидетельствует, что фермент относится к классу оксидоредуктаз);
- ? вторая цифра указывает на тип катализируемой реакции (в данном примере окислению подвергается гидроксильная группа);
- ? третья цифра означает наличие кофермента (в данном случае - кофермент NAD⁺);
- ? последняя цифра - это порядковый номер фермента в данной подгруппе.



? б) **оксидазы** - катализируют реакции окисления с участием молекулярного кислорода

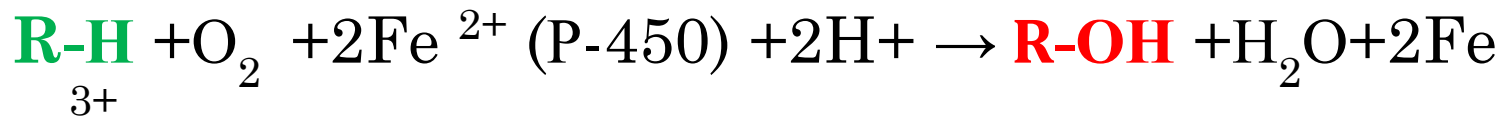


? в) **оксигеназы** (гидроксилазы) катализируют реакции окисления путем включения атома кислорода в гидроксильную группу молекулы субстрата. Реакция протекает с участием молекулярного кислорода, один атом которого присоединяется к субстрату, а второй участвует в образовании молекулы воды



МОНООКСИГЕНАЗЫ КАК ФЕРМЕНТЫ МИКРОСОМАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОКСИЛИРОВАНИЯ (МСГ)

? *цитохром P-450-содержащие монооксигеназы*
микросом печени – ферменты метаболизма
ксенобиотиков (например, лекарственных
препаратов)

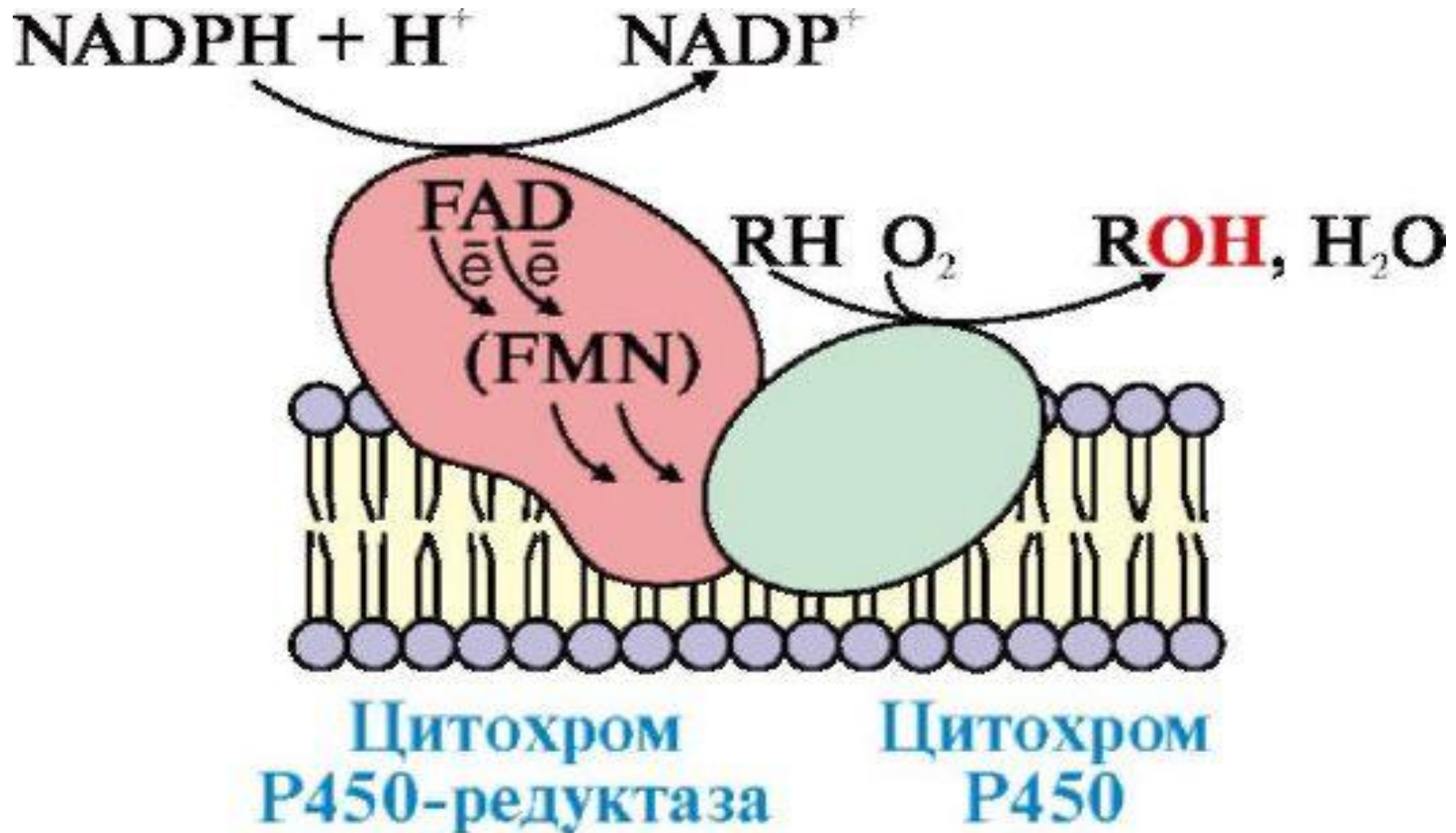


R-N – субстрат окисления (ксенобиотик,
гидрофобный)

R-OH – метаболит микросомального окисления
(гидрофильный за счет образования -ОН, что
способствует его выведению из организма)



СТРУКТУРНАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ МСГ



? г) гидропероксидазы

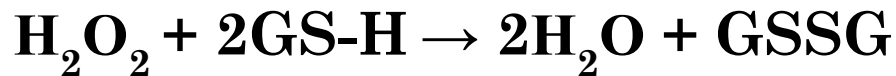
? субстрат: H_2O_2

? продукт: H_2O

? ферменты: ГПО, каталаза

Пример: глутатиопероксидаза (ГПО)

- кофермент-донор водорода: глутатион GS-H (трипептид: γ -глутамил-цистеинил-глицин)
- кофактор: селен



GS-H – восстановленный глутатион

GSSG – окисленный глутатион

Восстановление глутатиона после реакции обеспечивает **глутатион редуктаза** (донор водорода - NADPH)



ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ:

- ? Используя текст учебника, охарактеризуйте другие классы ферментов, приведите примеры реакций;
- ? Для трансфераз, гидролаз и лиаз приведите примеры подклассов.



СКОРОСТЬ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ

- ? **Скорость ферментативной реакции** определяется уменьшением количества молекул субстрата или увеличением количества молекул продукта за единицу времени.
- ? Скорость ферментативной реакции является мерой каталитической активности фермента и обозначается как **активность фермента**.



- ? На практике пользуются условными величинами, характеризующими активность фермента:
- ? 1 международная единица активности (МЕ) соответствует такому количеству фермента, которое катализирует превращение 1 мкмоль субстрата за 1 минуту при оптимальных условиях (температура 37° С, оптимальное значение рН раствора)

$$1 \text{ ME} = \frac{1 \text{ мкмоль превращенного субстрата}}{1 \text{ мин}}$$

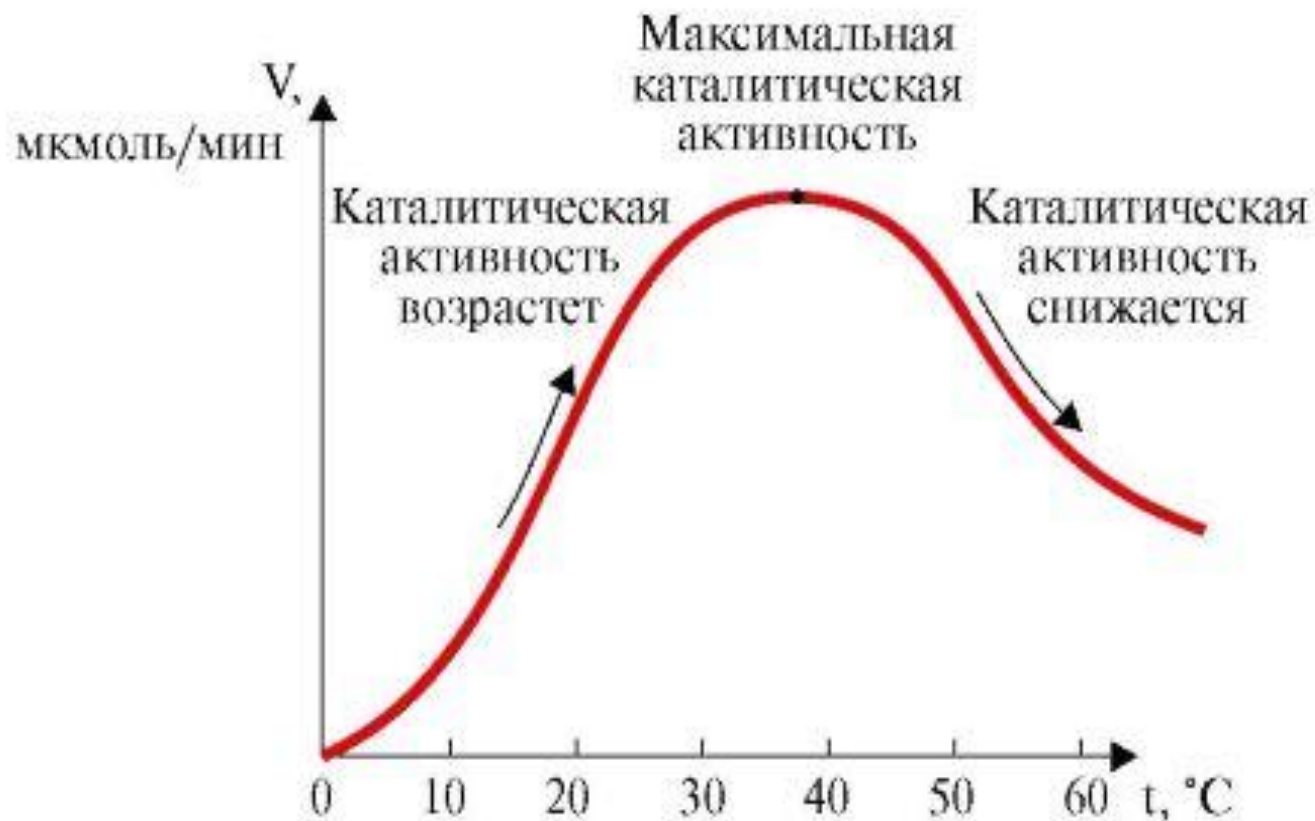


- ? Для оценки количества молекул фермента среди других белков данной ткани определяют удельную активность (Уд.Ак.) фермента, численно равную количеству превращенного субстрата (в мкмоль) за единицу времени одним миллиграммом (мг) белка (фермента, выделенного из ткани):

$$\text{Уд.Ак.} = \frac{\text{Количество превращенного субстрата (мкмоль)}}{\text{Время (мин)} \times \text{количество белка (мг)}}$$



ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ (V) ОТ ТЕМПЕРАТУРЫ



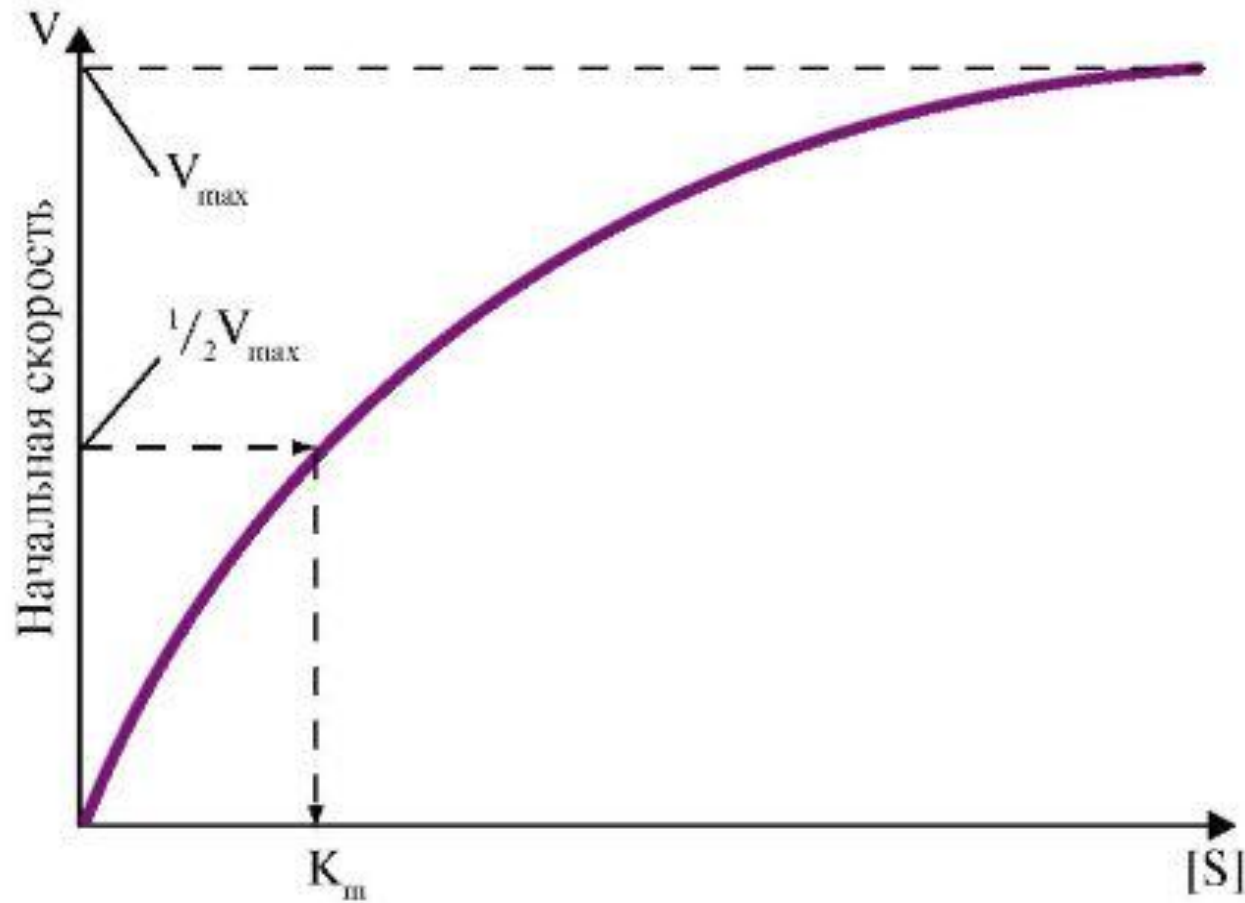
ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ РЕАКЦИИ (V) ОТ pH СРЕДЫ



Причиной изменения активности ферментов при разных pH служит протонирование и депротонирование аминокислотных радикалов, в том числе, радикалов активного центра, что меняет конформацию фермента и его сродство к субстрату.



ЗАВИСИМОСТЬ СКОРОСТИ РЕАКЦИИ (V) ОТ КОНЦЕНТРАЦИИ СУБСТРАТА S :



ОСНОВНОЙ КИНЕТИЧЕСКОЙ ХАРАКТЕРИСТИКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ФЕРМЕНТА ЯВЛЯЕТСЯ
КОНСТАНТА МИХАЭЛИСА - K_m

- ? Константа Михаэлиса численно равна концентрации субстрата, при которой достигается половина максимальной скорости.
- ? K_m характеризует сродство данного фермента к данному субстрату и является величиной постоянной.
- ? Чем меньше K_m , тем больше сродство фермента к данному субстрату, тем выше начальная скорость реакции, и наоборот, чем больше K_m , тем меньше сродство фермента к субстрату и меньше начальная скорость реакции.



ВАЖНЕЙШИМ ОТЛИЧИЕМ ФЕРМЕНТОВ ОТ НЕОРГАНИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ ЯВЛЯЕТСЯ ИХ РЕГУЛИРУЕМОСТЬ

Способ регуляции	Характеристика
Изменение количества молекул фермента	Количество молекул фермента в клетке определяется соотношением двух процессов: синтеза и распада. Наиболее изучен механизм регуляции синтеза фермента на уровне транскрипции (синтеза мРНК), который регулируется определенными метаболитами, гормонами и рядом биологически активных молекул



Способ регуляции	Характеристика
Доступность молекул субстрата и кофермента	Важный параметр, контролирующий протекание ферментативной реакции, - наличие субстрата и кофермента. Чем больше концентрация исходного субстрата, тем выше скорость реакции



Способ регуляции	Характеристика
Изменение каталитической активности молекулы фермента	<ul style="list-style-type: none">- аллостерическая регуляция;- регуляция с помощью белок-белковых взаимодействий;- регуляция путем фосфорилирования-дефосфорилирования молекулы фермента;- регуляция частичным (ограниченным) протеолизом



АЛЛОСТЕРИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ

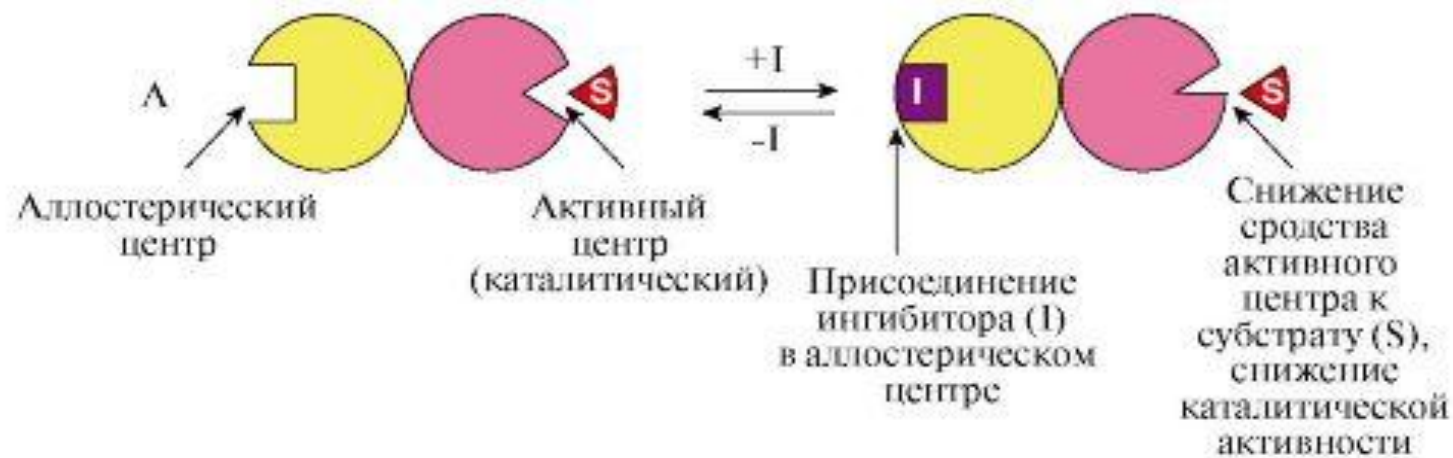
- ? **Аллостерическими ферментами называют ферменты, активность которых может регулироваться с помощью веществ-эфффекторов;**
- ? **Участвующие в аллостерической регуляции эффекторы - это клеточные метаболиты;**
- ? **Эффектор, который вызывает снижение (ингибирование) активности фермента, называется ингибитором. Эффектор, который вызывает повышение (активацию) активности ферментов, называют активатором.**



АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЕ ФЕРМЕНТЫ ИМЕЮТ ОПРЕДЕЛЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ:

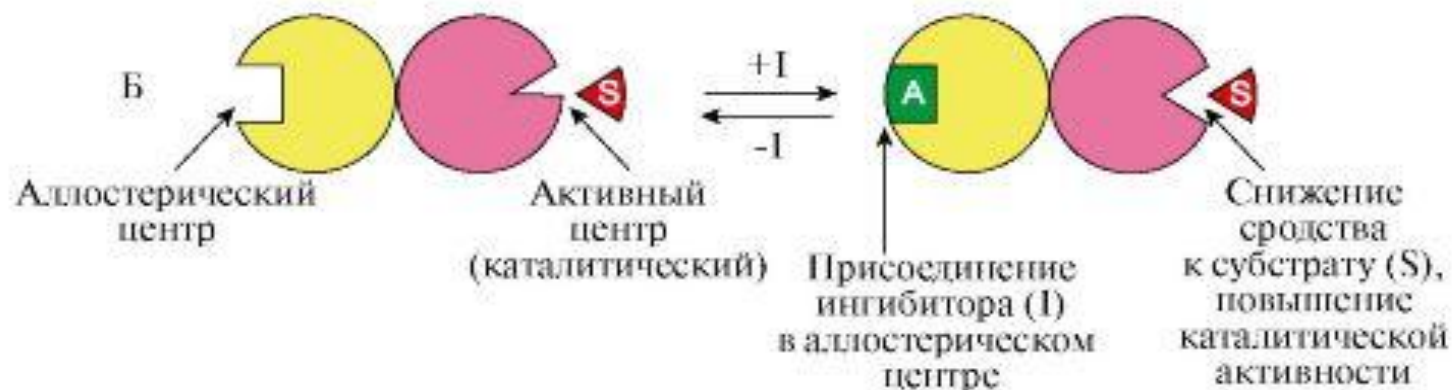
- ? - обычно являются **олигомерными белками**, состоящими из нескольких протомеров;
- ? - имеют **аллостерический центр**, пространственно удаленный от каталитического активного центра;
- ? - эффекторы присоединяются к ферменту нековалентно в аллостерических (регуляторных) центрах.





Активный фермент

Неактивный фермент



Неактивный фермент

Активный фермент



ОСОБЕННОСТИ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ АЛЛОСТЕРИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ

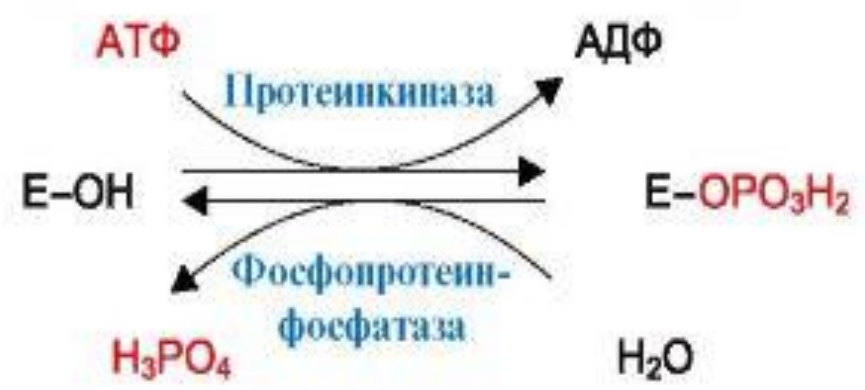
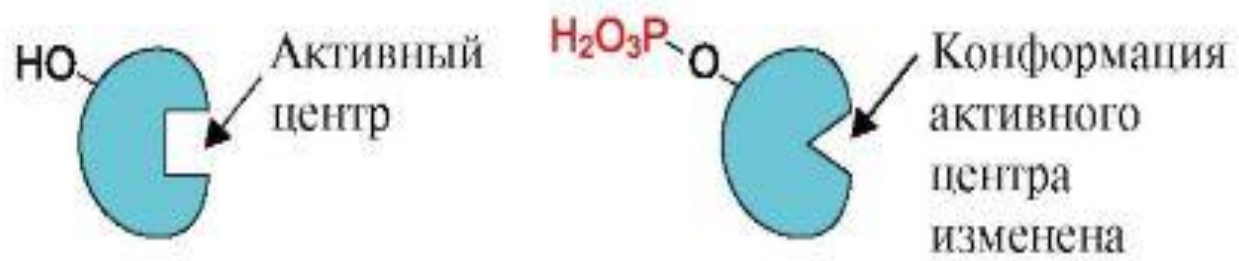
- ? Аллостерические ферменты обладают свойством **кооперативности**: взаимодействие аллостерического эффектора с аллостерическим центром вызывает кооперативное изменение конформации всех субъединиц, приводящее к изменению конформации активного центра и изменению сродства фермента к субстрату
- ? Регуляция аллостерических ферментов **обратима**: отсоединение эффектора от регуляторной субъединицы восстанавливает исходную каталитическую активность фермента.
- ? Аллостерические ферменты **катализируют ключевые реакции** данного метаболического пути.



РЕГУЛЯЦИЯ ПУТЁМ ФОСФОРИЛИРОВАНИЯ-ДЕФОСФОРИЛИРОВАНИЯ

- ? Фосфорилированию подвергаются ОН-группы фермента, которое осуществляется ферментами **протеинкиназами** (фосфорилирование) и **фосфопротеинфосфатазами** (дефосфорилирование)
- ? Присоединение остатка фосфорной кислоты приводит к изменению конформации активного центра и его каталитической активности. При этом результат может быть двояким: одни ферменты при фосфорилировании активируются, другие, напротив, становятся менее активными





Дефосфорилированный фермент

Фосфорилированный фермент

Неактивный (активный)

Активный (неактивный)



РЕГУЛЯЦИЯ ПРИ ПОМОЩИ БЕЛОК-БЕЛКОВЫХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЙ

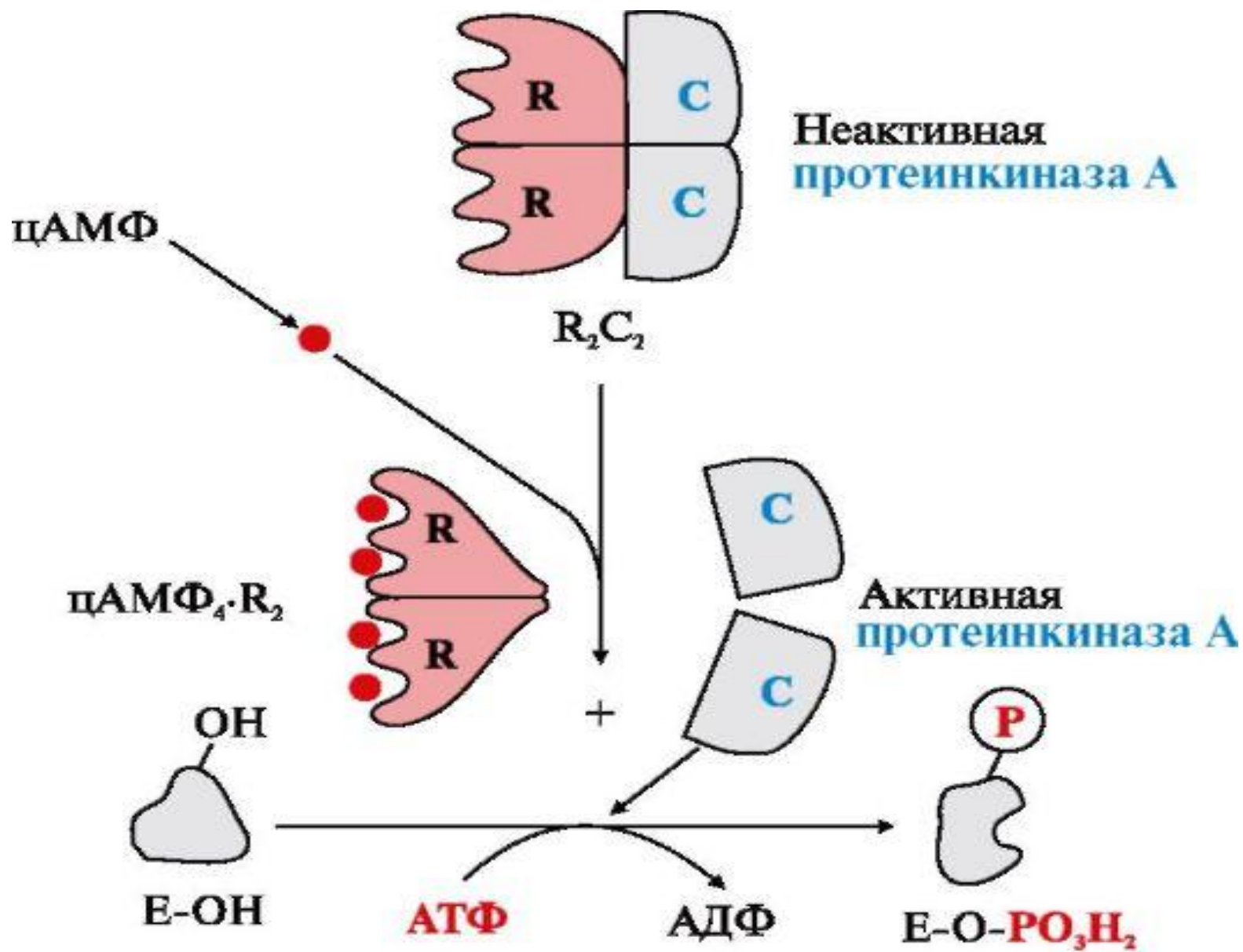
- ? активация ферментов в результате присоединения белков-активаторов;
- ? изменение каталитической активности в результате ассоциации и диссоциации протомеров



ПРОТЕИНКИНАЗА А

- ? (цАМФ-зависимая) состоит из четырех субъединиц двух типов: двух регуляторных (R) и двух каталитических (C). Такой тетрамер не обладает каталитической активностью.
- ? Регуляторные субъединицы имеют участки связывания для циклического 3',5'-АМФ (цАМФ) (по два на каждую субъединицу).
- ? Присоединение четырех молекул цАМФ к двум регуляторным субъединицам приводит к изменению конформации регуляторных протомеров и к диссоциации тетрамерного комплекса; при этом высвобождаются две активные каталитические субъединицы





РЕГУЛЯЦИЯ КАТАЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ ЧАСТИЧНЫМ (ОГРАНИЧЕННЫМ) ПРОТЕОЛИЗОМ.

- ? Ферменты ЖКТ синтезируются в виде неактивных предшественников и активируются только в результате гидролиза одной или нескольких определенных пептидных связей, который приводит к отщеплению части молекулы.
- ? В оставшейся части белковой молекулы происходит конформационная перестройка и формируется активный центр фермента

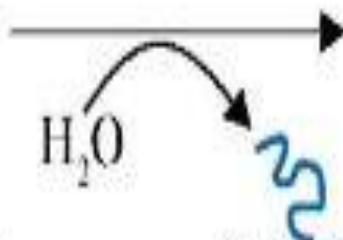


АКТИВАЦИЯ ПЕПСИНОГЕНА ПУТЁМ ОГРАНИЧЕННОГО ПРОТЕОЛИЗА



Пепсиноген (неактивный)

M.V. 42000



Пепсин (активный)

M.V. 35000



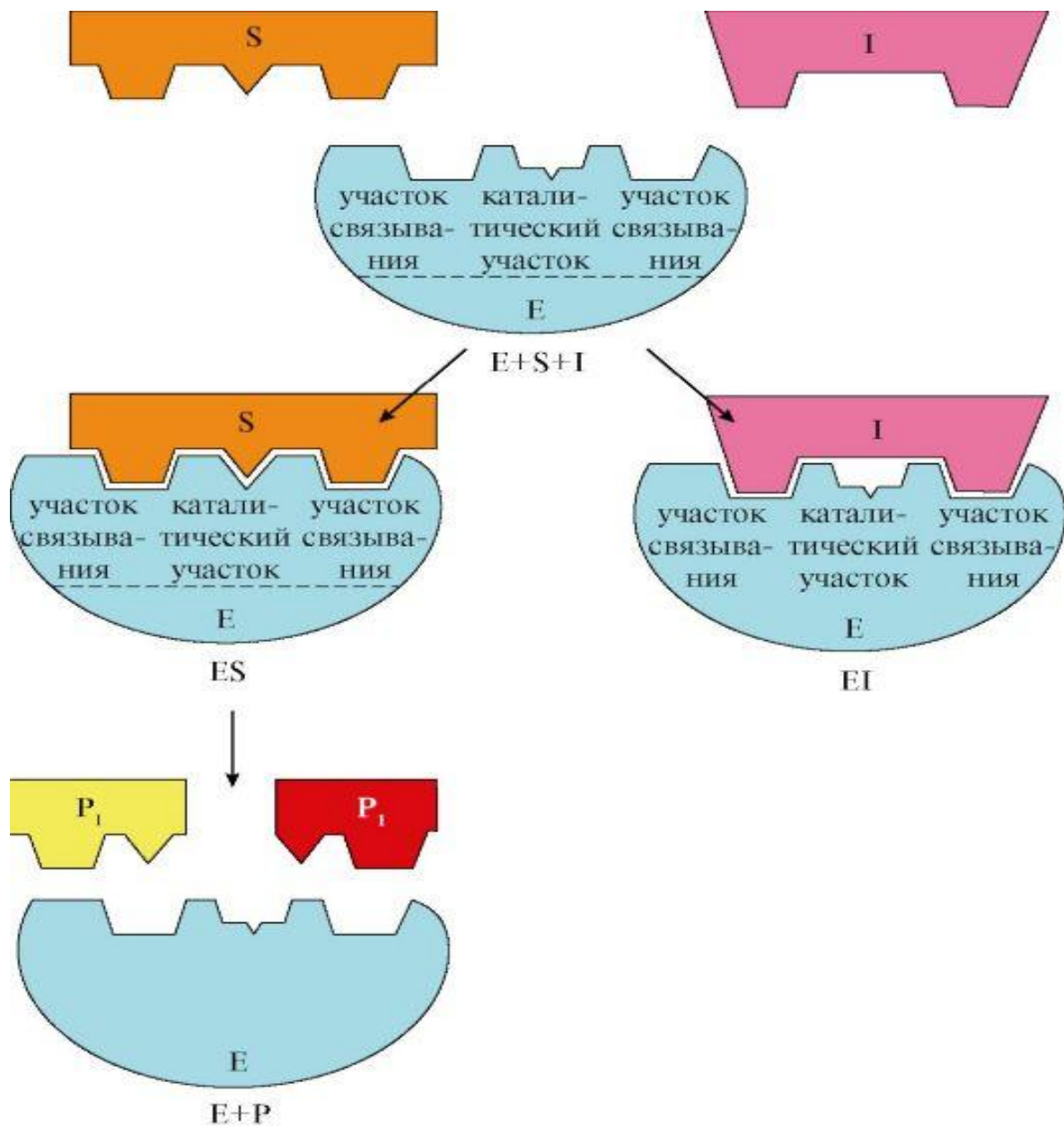
ИНГИБИТОРЫ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ — СНИЖАЮТ СКОРОСТЬ ХИМИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ

- ? **Обратимые ингибиторы** связываются с ферментом слабыми нековалентными связями и при определенных условиях легко отделяются от фермента.
- ? Обратимый ингибитор не изменяет структуры фермента. Поэтому при высоких концентрациях субстрата скорость реакции достигает максимума, т.е. конкурентный ингибитор не изменяет V_{\max} , но повышает K_m .
- ? **Необратимое ингибирование** наблюдается в случае образования ковалентных стабильных связей между молекулой ингибитора и фермента.



- ? По механизму действия обратимые ингибиторы подразделяются на **конкурентные** и **неконкурентные**.
- ? Конкурентный ингибитор является **структурным аналогом субстрата**; в результате возникает конкуренция молекул субстрата и ингибитора за связывание с активным центром фермента.





- ? **Неконкурентным обратимым** называют такое ингибирование ферментативной реакции, при котором ингибитор взаимодействует с ферментом в участке, отличном от активного центра.
- ? Неконкурентные ингибиторы не являются структурными аналогами субстрата; присоединение неконкурентного ингибитора к ферменту изменяет конформацию активного центра и уменьшает скорость ферментативной реакции,
- ? Примером неконкурентного ингибитора может быть действие ионов тяжелых металлов, которые взаимодействуют с функциональными группами молекулы фермента, препятствуя катализу.



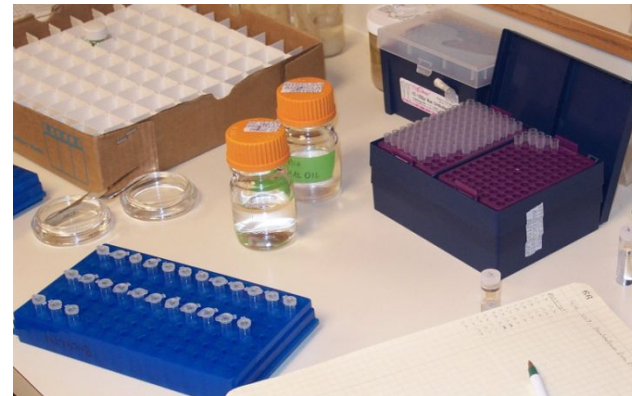
ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНЕ

- ? Широкое применение в медицинской практике ферменты находят в качестве диагностических (энзимодиагностика) и терапевтических (энзимотерапия) средств. Ферменты также используются в качестве **специфических реактивов** для определения ряда метаболитов.
- ? Например, фермент глюкозооксидазу применяют для количественного определения глюкозы в моче и крови.



ФЕРМЕНТЫ КАК РЕАГЕНТЫ

- ? **Рестриктазы** бактерий (специфические эндонуклеазы) используются в пренатальном скрининге наследственных заболеваний
- ? ***Taq*-полимераза** термофилов (*Thermus aquaticus*) необходима для проведения ПЦР-анализа в диагностике наследственных и инфекционных заболеваний, определении родства, судебной медицине



Энзимодиагностика - постановка диагноза на основе определения активности ферментов в биологических жидкостях человека.

- **Секреторные (функциональные) ферменты**

- синтезируются в печени
- «работают» в крови (субстрат фермента находится в крови)
- активность в крови такая же или выше, чем в ткани
- характеризуют **белок-синтезирующую функцию печени**

ПРИМЕРЫ:

- ✓ **псевдохолинэстераза (ПХЭ)**
- ✓ **липопротеинлипаза (ЛП-липаза)**
- ✓ **лецитин: холестерол ацилтрансфераза (ЛХАТ)**
- ✓ **проферменты свертывающей системы крови**



■ **Экскреторные ферменты**

- Секретируются экзокринными железами
- Активность в крови незначительная и обусловлена диффузией фермента
- **Активность в крови повышается при воспалении железы, затруднении оттока секрета**

ПРИМЕРЫ:

- ✓ **щелочная фосфатаза** (печень)
- ✓ **амилаза, липаза** (поджелудочная железа)
- ✓ **кислая фосфатаза** (простата)



▪ Внутриклеточные ферменты:

✓ **цитоплазматические:** **лактатдегидрогеназа** (ЛДГ), **аланин (аспартат) аминотрансфераза** (АЛТ, АСТ), **креатинкиназа** (КК)

✓ **митохондриальные:** **АСТ**

✓ **лизосомные:** **кислая фосфатаза**

□ Активность в ткани высокая

□ **Активность в крови незначительная** и является следствием нормально идущих процессов разрушения клеток (например, эритроцитов), повышенной проницаемости мембран в детском возрасте, выполнения тяжелой физической работы (повышение активности креатинкиназы)

□ **Значительное повышение активности в крови – признак патологии (воспаление, цитолиз, некроз)**

○ Появление в крови цитозольных ферментов свидетельствует о воспалительном процессе, митохондриальных или ядерных – цитолизе, некрозе



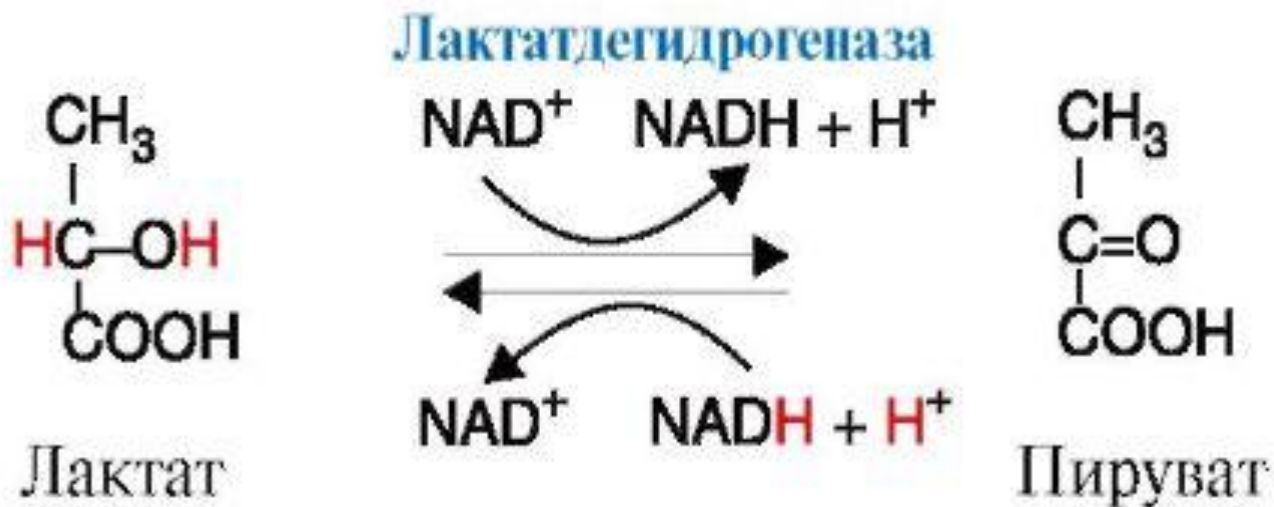
ИЗОФЕРМЕНТЫ В ЭНЗИМОДИАГНОСТИКЕ

- ? Ферменты, катализирующие одну и ту же химическую реакцию, но с разной первичной структурой белка, называют **изоферментами**.
- ? Изоферменты часто являются **органоспецифичными**, так как в каждой ткани содержится преимущественно один тип изоферментов.
- ? Следовательно, при повреждении органа в крови появляется соответствующая форма изофермента. Обнаружение определенных изоферментных форм ферментов позволяет использовать их для диагностики заболеваний.



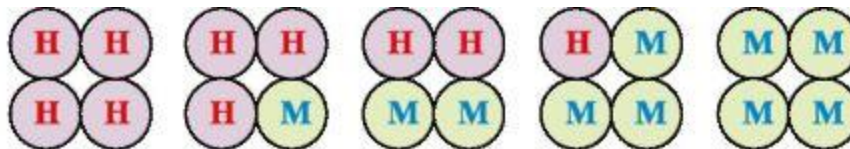
ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА (ЛДГ)

- ? катализирует обратимую реакцию окисления лактата (молочной кислоты) до пирувата (пировиноградной кислоты)

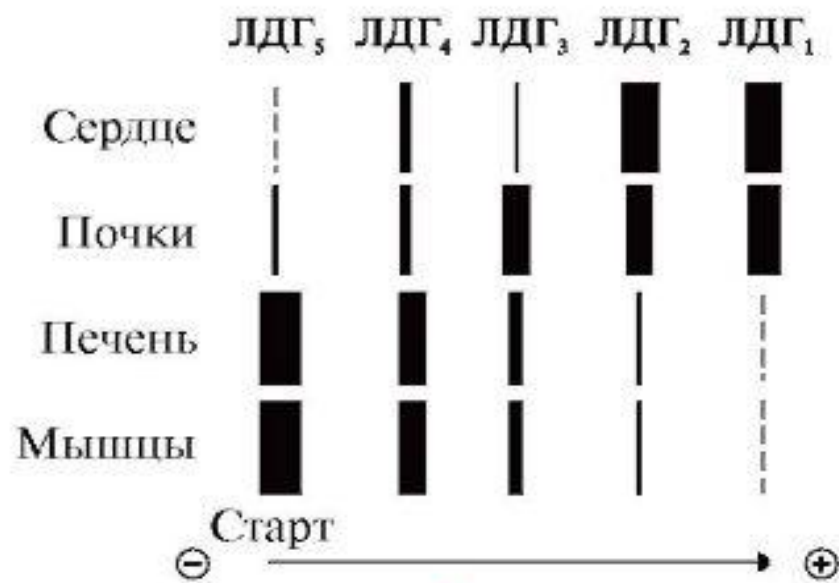


ЛАКТАТДЕГИДРОГЕНАЗА (СТРУКТУРА)

- ? олигомерный белок с мол. массой 134 000, состоящий из четырех субъединиц двух типов - М (от англ. muscle - мышца) и Н (от англ. heart - сердце).
- ? комбинация этих субъединиц лежит в основе формирования пяти изоформ ЛДГ
- ? ЛДГ₁ и ЛДГ₂ наиболее активны в сердечной мышце и почках, ЛДГ₄ и ЛДГ₅ - в скелетных мышцах и печени.



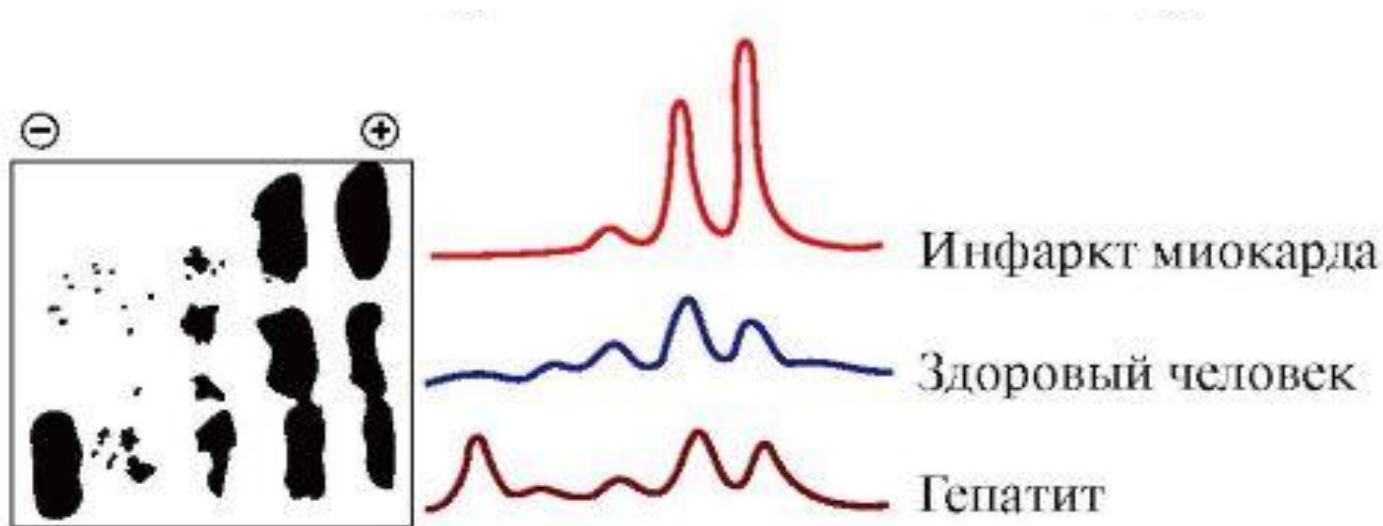
? Изоформы ЛДГ различаются друг от друга электрофоретической подвижностью, что позволяет устанавливать тканевую принадлежность изоформ ЛДГ



СОДЕРЖАНИЕ ИЗОФОРМ ЛДГ В ПЛАЗМЕ КРОВИ В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ

(электрофореграммы - слева и фотометрическое сканирование – справа)

- ? плазмы крови здорового человека
- ? больного инфарктом миокарда
- ? больного гепатитом.



ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ В КАЧЕСТВЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

- ? заместительная терапия - использование ферментов в случае их недостаточности;
- ? элементы комплексной терапии - применение ферментов в сочетании с другой терапией.



- ? Например, пепсин используют при гастритах со сниженной секреторной функцией.
- ? Дефицит панкреатических ферментов - прием внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, энзистал, мезимфорте и др.).





? Протеолитические ферменты (трипсин, химотрипсин) применяют при местном воздействии для обработки гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток, для удаления сгустков крови или вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей.

? Ферментные препараты рибонуклеаза и дезоксирибонуклеаза используются в качестве противовирусных препаратов при лечении аденовирусных конъюнктивитов, герпетических кератитах.



- ? С целью разрушения тромба при тромбозах и тромбоэмболиях используют препараты фибринолизина, стрептолиазы, стрептодеказы, урокиназы.
- ? Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания спаек и рубцов после ожогов и операций.



? Фермент **аспарагиназа** (разрушает аминокислоту АспН в крови) используется при онкологических заболеваниях крови, ограничивая поступление аминокислоты АспН в опухолевые клетки. Лейкозные клетки не способны к самостоятельному синтезу этой аминокислоты, поэтому снижение ее содержания в крови нарушает опухолевый рост.



ЭНЗИМОПАТИИ - НАРУШЕНИЕ ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ В КЛЕТКЕ

- ? первичные (наследственные) и вторичные (приобретенные).
- ? При первичных энзимопатиях дефектные ферменты наследуются в основном, по рецессивно-аутосомному типу. При этом нарушается метаболический путь, содержащий дефектный фермент, следовательно:
 - нарушается образование конечных продуктов, что вызывает недостаток определенных веществ (например, при альбинизме не вырабатывается пигмент в клетках кожи);
 - накапливаются субстраты-предшественники, оказывающие токсическое действие на организм (например, при алкаптонурии накапливается промежуточный метаболит - гомогентезиновая кислота, которая откладывается в суставах, вызывая воспалительные процессы).



ЗАДАНИЯ ДЛЯ САМОСТОЯТЕЛЬНОЙ РАБОТЫ

Используя литературу и сеть интернет, опишите современные методы биохимии:

- ? иммуноферментный анализ,
- ? электрофорез,
- ? ПЦР-реакции.

Раскройте значение этих методов для профилактики заболеваний человека.



ЛИТЕРАТУРА

? **Список основной литературы**

? Биологическая химия с упражнениями и задачами : учебник / ред. С. Е. Северин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2013. - 624 с.

? **Список дополнительной литературы**

? Биохимия : учебник для вузов / ред. Е. С. Северин. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2007. - 784 с.

? Биологическая химия : учебник для студ.мед.вузов / А. Я. Николаев. - М. : Мед.информ.агентство, 2007. - 568 с.

? Клиническая биохимия : электронное учебное издание / сост. И. В. Пикалов, Э. Я. Журавская, В. В. Кузьмина [и др.]. - Новосибирск : Центр очно-заочного образования ГОУ ВПО НГМУ Росздрава, 2008

? Вторично-активный транспорт [Электронный ресурс] / Ю. И. Савченков, Ю. И. Савченков. - б/м : б/и, 2012

? Биохимия / Г. Е. Осипова, . Г. Осипова. - Новосибирск : НГПУ, 2014. - 182 с.

