

Ферменты

Часть 3

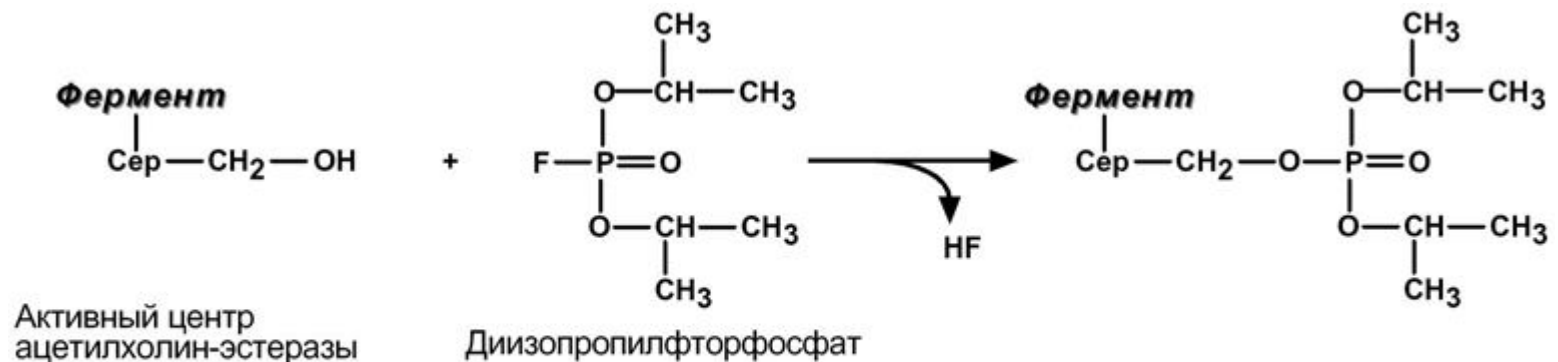
ИНГИБИРОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ

В медицине активно разрабатываются и используются соединения, изменяющие активность ферментов с целью регуляции скорости метаболических реакций и уменьшения синтеза определенных веществ в организме.

- Подавление активности ферментов обычно называют ингибированием, однако это не всегда корректно.
 - Ингибитор – это вещество, вызывающее специфичное снижение активности фермента.
 - Таким образом, неорганические кислоты и тяжелые металлы ингибиторами не являются, а являются инактиваторами, т.к. снижают активность любых ферментов, т.е. неспецифично.
1. По прочности связывания фермента с ингибитором ингибирование бывает обратимым и необратимым.
 2. По отношению ингибитора к активному центру фермента ингибирование делят на конкурентное и неконкурентное.

НЕОБРАТИМОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

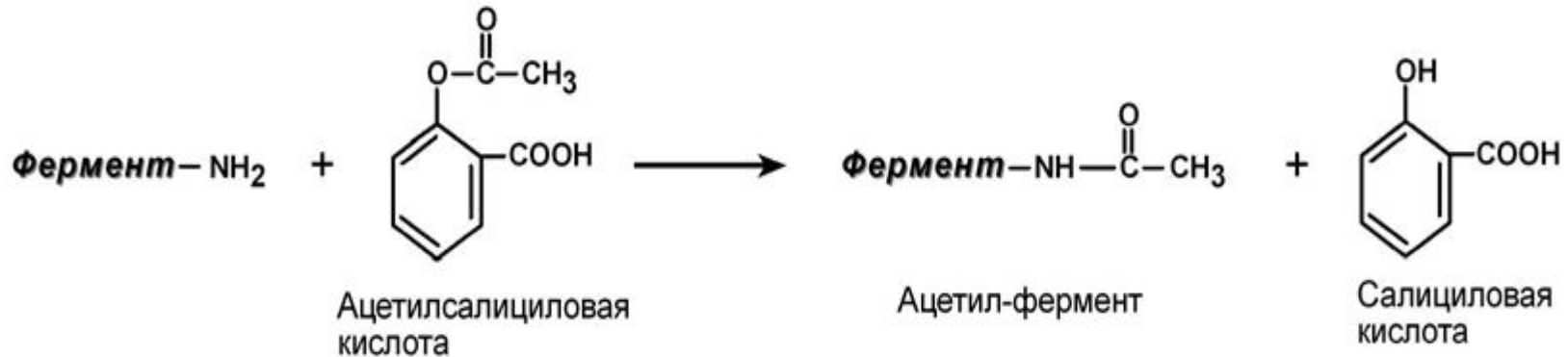
- При необратимом ингибировании происходит связывание или разрушение функциональных групп фермента, необходимых для проявления его активности.
- Например, вещество диизопропилфторфосфат прочно и необратимо связывается с гидроксигруппой серина в активном центре ацетилхолинэстеразы, гидролизующей ацетилхолин в нервных синапсах. Ингибирование этого фермента предотвращает распад ацетилхолина в синаптической щели, в результате чего отсутствует дальнейшая передача сигнала по нерву.



Механизм необратимого ингибирования ацетилхолинэстеразы

НЕОБРАТИМОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

Еще один пример связан с ингибированием ацетилсалициловой кислотой (аспирином) ключевого фермента синтеза простагландинов – циклооксигеназы. Эта кислота входит в состав противовоспалительных средств и используется при воспалительных заболеваниях и лихорадочных состояниях. Присоединение ацетильной группы к аминогруппе в активном центре фермента вызывает инактивацию последнего и прекращение синтеза простагландинов.



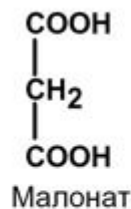
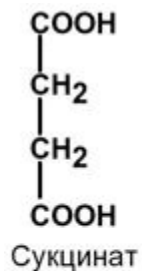
Механизм необратимого ингибирования циклооксигеназы

КОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- При таком виде ингибирования ингибитор по своей структуре похож на субстрат фермента. Поэтому он соперничает с субстратом за активный центр, что приводит к уменьшению связывания субстрата с ферментом и нарушению катализа. В этом состоит особенность конкурентного ингибирования – возможность усилить или ослабить ингибирование через изменение концентрации субстрата.

Например:

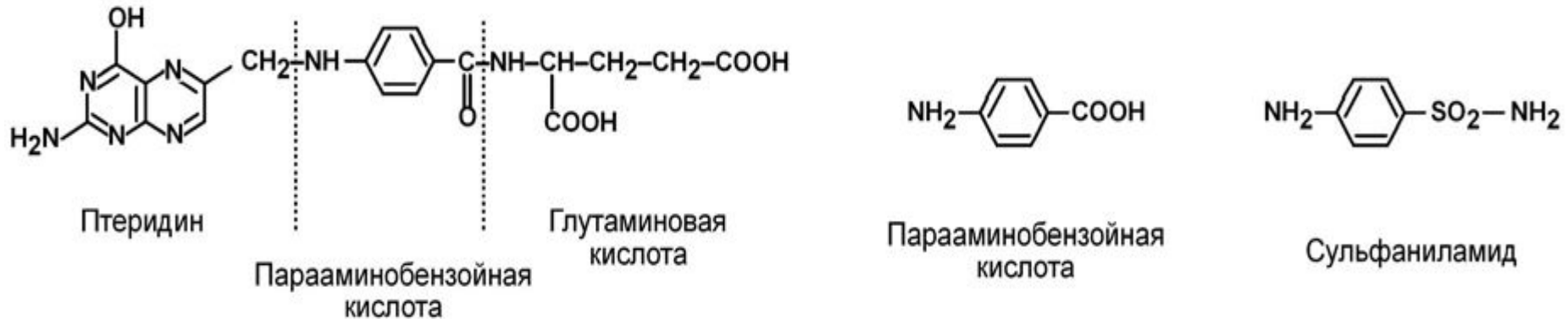
1. Конкурентное взаимодействие этанола и метанола за активный центр алкогольдегидрогеназы.
2. Ингибирование сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой, структура которой схожа со структурой субстрата этого фермента – янтарной кислоты (сукцината).



Механизм конкурентного ингибирования сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой

Например:

3. Также к конкурентным ингибиторам относят антиметаболиты или псевдосубстраты, например, антибактериальные средства **сульфаниламиды**, схожие по структуре с *p*-аминобензойной кислотой, компонентом фолиевой кислоты. При лечении сульфаниламидами в бактериальной клетке конкурентно нарушается использование *p*-аминобензойной кислоты для синтеза дигидрофолиевой кислоты, что и вызывает лечебный эффект.



Сходство строения сульфаниламида и *p*-аминобензойной кислоты, входящей в состав фолиевой кислоты

НЕКОНКУРЕНТНОЕ ИНГИБИРОВАНИЕ

- Данный вид ингибирования связан с присоединением ингибитора не в активном центре, а в другом месте молекулы. Это может быть аллостерическое ингибирование, когда активность фермента снижается естественными модуляторами, или связывание с ферментом каких-либо токсинов.
- Например, синильная кислота (цианиды) связывается с гемовым железом ферментов дыхательной цепи и блокирует клеточное дыхание.

ЭНЗИМОПАТОЛОГИИ

Энзимопатологии (энзимопатии) – состояния, связанные с патологическим изменением активности ферментов.

Наиболее часто встречается снижение активности и нарушение каких-либо метаболических процессов. В результате энзимопатклиническое значение может иметь накопление субстрата реакции (как при фенилкетонурии) или недостаток продукта (при альбинизме) или обе особенности одновременно (гликогенозы). По характеру нарушения выделяют первичные и вторичные энзимопатии.

- **Первичные (наследственные) энзимопатии** связаны с генетическим дефектом и наследственным снижением активности. Например, **фенилкетонурия** связана с дефектом **фенилаланин-4-монооксигеназы**, которая превращает **фенилаланин** в **тирозин**. В результате накапливаются аномальные метаболиты фенилаланина, оказывающие сильный токсический эффект.
- Заболевание **подагра** связано с дефектом **ферментов** метаболизма пуриновых оснований и накоплением мочевой кислоты.
- Кроме указанных, распространенными первичными энзимопатиями являются **галактоземия**, **недостаточность лактазы** и **сахаразы**, **гликогенозы**, наследственные **гипераммониемии**, различные **липидозы**.

- Вторичные (приобретенные) энзимопатии возникают как следствие заболеваний органов, вирусных инфекций и т.п., что приводит к нарушению синтеза фермента или условий его работы.
- Например, гипераммониемия при заболеваниях печени, при которых ухудшается синтез мочевины и в крови накапливается аммиак.
- Другим примером может служить недостаточность ферментов желудочно-кишечного тракта при заболеваниях желудка, поджелудочной железы или желчного пузыря. Недостаток витаминов и их коферментных форм также является причиной приобретенных ферментопатий.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ И ИХ ИНГИБИТОРОВ В МЕДИЦИНЕ

- Использование ферментов в медицине происходит по трем направлениям:
 - энзимодиагностика,
 - энзимотерапия,
 - использование ферментов в медицинских технологиях и промышленности.
- Также активно нашло применение использование ингибиторов ферментов.

ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

- Энзимодиагностика – это исследование активности ферментов плазмы крови, мочи, слюны с целью диагностики тех или иных заболеваний.
- Примером может служить фермент **лактатдегидрогеназа, определение его активности в плазме крови необходимо при заболеваниях сердца, печени, скелетной мускулатуры.**
- Увеличение активности **α -амилазы в плазме** крови и моче наблюдается при воспалительных процессах в поджелудочной и слюнных железах.
- Инфаркт миокарда сопровождается увеличением активности **лактатдегидрогеназы, креатинкиназы, аспаратаминотрансферазы.**

ЭНЗИМОТЕРАПИЯ

Энзимотерапия – это использование ферментов в качестве лекарственных средств.

Самыми распространенными ферментативными препаратами являются комплексы **ферментов желудочно-кишечного тракта (Фестал, Панзинорм форте, Мезим форте, Энзистал и т.п.)**, используемые для заместительной терапии при нарушениях переваривания веществ в желудочно-кишечном тракте.

Тканевой фермент **гиалуронидаза** используется организмом для обратимого изменения проницаемости межклеточного вещества. Лекарственную форму гиалуронидазы – **лидазу** – вводят для размягчения рубцов, появления подвижности в суставах, рассасывания гематом.

Цитохром С – фермент, участвующий в процессах тканевого дыхания. Его используют при асфиксии новорожденных, астматических состояниях, сердечной недостаточности, различных видах гепатита и т.п.

Рибонуклеаза и дезоксирибонуклеаза входят в состав глазных капель и используются при вирусных конъюнктивитах. При нанесении на рану они разжижают гной, при ингаляциях уменьшают вязкость слизи, деполимеризуя нуклеиновые кислоты в мокроте.

Трипсин используют при бронхолегочных заболеваниях для разжижения густой и вязкой мокроты.

Фицин используется в фармацевтической промышленности в качестве добавки к зубным пастам для удаления зубного налета.

Коллагеназу применяют для ускорения отторжения некротизированных тканей, для очистки трофических язв.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТОВ В МЕДИЦИНСКИХ ТЕХНОЛОГИЯХ

- А. Специфичность ферментов к определенным субстратам широко используется в настоящее время в лабораторной диагностике.
- многие лабораторные методы основаны на взаимодействии добавляемого извне фермента с определяемым соединением. В результате возникает специфичный продукт реакции, после определения содержания последнего судят о концентрации искомого вещества (глюкозооксидазный, холестеролоксидазный методы)
 - иммуноферментные методы, основанные на образовании тройного комплекса фермент-антиген-антитело. Определяемое вещество не является субстратом фермента, но является антигеном. Фермент может присоединять этот антиген вблизи от активного центра. Если в среде есть антиген, то при добавлении антител и формировании тройного комплекса активность фермента изменяется. Активность фермента измеряют любым способом.
- Б. В промышленности ферменты используются в различных отраслях:
- глюкозооксидаза в сочетании с каталазой применяется для удаления кислорода из сухого молока, кофе, пива, майонезов, пимонных, апельсиновых и виноградных соков, пекарственных

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ИНГИБИТОРОВ ФЕРМЕНТОВ

Весьма широко используются в настоящее время **ингибиторы протеаз (контрикал, гордокс)** при панкреатитах – состояниях, когда происходит активирование пищеварительных ферментов в протоках и клетках поджелудочной железы.

Ингибиторы холинэстеразы (физостигмин, прозерин) приводят к накоплению **нейромедиатора ацетилхолина** в синапсах и используются при миастении, двигательных и чувствительных нарушениях при невритах, радикулитах, психогенной импотенции.

Препараты, содержащие **ингибиторы моноаминоксидазы (наком, мадопар)**, используются при снижении выработки нейромедиаторов катехоламинов в ЦНС и для лечения паркинсонизма. Подавление активности моноаминоксидазы (разрушающей катехоламины) сохраняет нормальную передачу сигналов в нервной системе.

Ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (каптоприл, эналаприл и т. п.) используются как антигипертензивное средство и вызывают расширение периферических сосудов, уменьшение нагрузки на миокард, снижение артериального давления.

Аллопуринол – ингибитор ксантиноксидазы, фермента катаболизма пуринов. Используется для снижения образования мочевой кислоты и подавления развития гиперурикемии и подагры.

Ингибиторы гидроксиметилглутарил-S-КоА-редуктазы (ловастатин, флувастатин, аторвастатин) применяются для снижения синтеза холестерина при атеросклерозе, заболеваниях сердечно-сосудистой системы, дислипотеинемиях.

Ингибитор карбоангидразы (ацетазоламид) используется как мочегонное

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

В 1961 г в Москве V Международный биохимический союз принял современную классификацию ферментов.

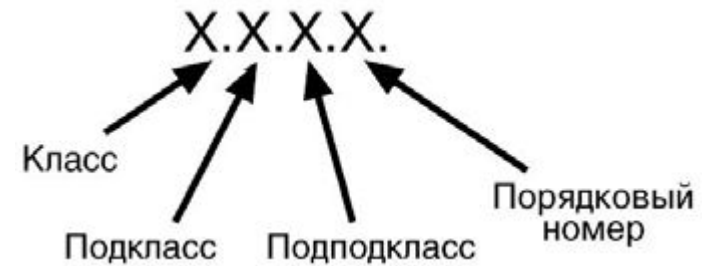
- В соответствии с этой классификацией все ферменты делятся:
- **на классы – по типу катализируемой реакции,**
- **каждый класс подразделяется на подклассы – по природе атакуемой химической группы**
- **подклассы делятся на подподклассы – по характеру атакуемой связи или по природе акцептора.**

Выделяют 6 классов ферментов:

I класс	Оксидоредуктазы
II класс	Трансферазы
III класс	Гидролазы
IV класс	Лиазы
V класс	Изомеразы
VI класс	Лигазы

Каждому ферменту присвоен четырехзначный классификационный номер, включающий класс, подкласс, подподкласс и порядковый номер в подподклассе.

Например, *алкогольдегидрогеназа* имеет номер КФ 1.1.1.1. – это оксидоредуктаза, действует на ОН-группу донора с НАД в качестве акцептора с первым порядковым номером в своем подподклассе; *лактатдегидрогеназа* – КФ 1.1.1.27, действует на ОН-группу донора с НАД в качестве акцептора с порядковым номером 27 в своем подподклассе



НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

1. **Тривиальное название** – название, сложившееся исторически.

Например, пепсин, трипсин. Для некоторых ферментов к названию субстрата добавляется окончание "-аза" – уреаза, амилаза, липаза.

2. **Систематическое название** – согласно современной классификации.

Как производное систематического названия у многих ферментов имеется одно или несколько рабочих названий.

І КЛАСС. ОКСИДОРЕДУКТАЗЫ

Ферменты катализируют окислительно-восстановительные реакции, лежащие в основе биологического окисления. Класс насчитывает 22 подкласса.

Коферментами этого класса являются **НАД, НАДФ, ФАД, ФМН, убихинон, глутатион, липоевая кислота.**

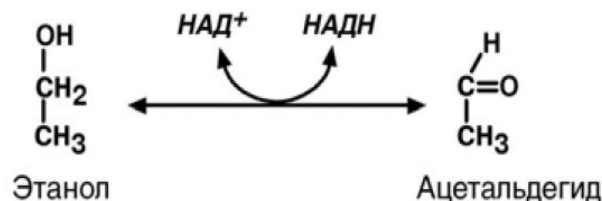
- Примером подклассов могут служить ферменты, действующие на СН-ОН-группу доноров, на СН-СН-группу доноров, на СН-NH₂-группу доноров, на гемсодержащие доноры

Наиболее распространены следующие рабочие названия оксидоредуктаз:

1. **Дегидрогеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие дегидрирование субстрата с использованием в качестве акцептора водорода любых молекул, кроме кислорода.
2. Если перенос водорода от молекулы донора трудно доказуем, то такие оксидоредуктазы называют **редуктазами**.
3. **Оксидазы** – оксидоредуктазы, катализирующие окисление субстратов с молекулярным кислородом в качестве акцептора электронов без включения кислорода в молекулу субстрата.
4. **Монооксигеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие внедрение одного атома кислорода в молекулу субстрата с молекулярным кислородом в качестве донора кислорода.
5. **Диоксигеназы** – оксидоредуктазы, катализирующие внедрение 2 атомов кислорода в молекулу субстрата с молекулярным кислородом в качестве донора кислорода.
6. **Пероксидазы** – оксидоредуктазы, катализирующие реакции с пероксидом водорода в качестве акцептора электронов.

Систематическое название образуется: Донор электронов : акцептор электронов – оксидоредуктаза.

Пример 1



Характеристика фермента

Систематическое название

Алкоголь:НАД-оксидоредуктаза

Рабочее название

Алкогольдегидрогеназа

Класс

1. Оксидоредуктазы

Подкласс

1.1. Действующие на СН-ОН-группу доноров

Подподкласс

1.1.1. с НАД⁺ или НАДФ⁺ в качестве акцептора

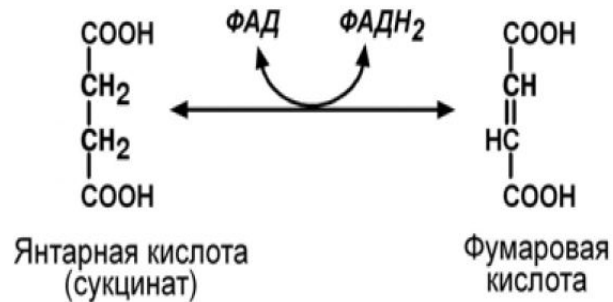
Классификационный номер

КФ 1.1.1.1.

Кофакторы

Никотинамидадениндинуклеотид. Железо или цинк.

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название

Сукцинат:ФАД-оксидоредуктаза

Рабочее название

Сукцинатдегидрогеназа

Класс

1. Оксидоредуктазы

Подкласс

1.3. Действующие на СН-СН-группу доноров

Подподкласс

1.3.99. с ФАД⁺ в качестве акцептора

Классификационный номер

КФ 1.3.99.1.

Кофактор

Флавинадениндинуклеотид

II КЛАСС. ТРАНСФЕРАЗЫ

Катализируют реакции переноса различных групп от одного субстрата (донор) к другому (акцептор), участвуют в реакциях взаимопревращения различных веществ, обезвреживания природных и чужеродных соединений. Коферментами являются пиридоксальфосфат, коэнзим А, тетрагидрофолиевая кислота, метилкобаламин.

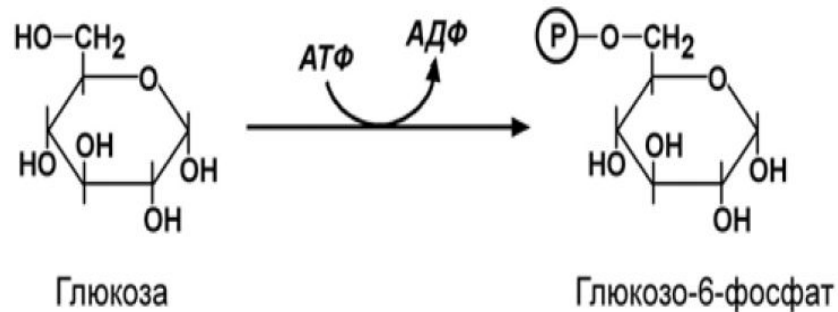
Класс подразделяется на 9 подклассов в зависимости от строения переносимых ими групп.

Примером подклассов являются ферменты, переносящие одноуглеродные фрагменты, альдегидные или кетоостатки, ацильные остатки, азотсодержащие группы, фосфорсодержащие группы.

Систематическое название образуется:

Донор группы : акцептор группы – переносимая группа
трансфераза.

Пример 1



Характеристика фермента

Систематическое название

АТФ:D-гексоза-6-фосфотрансфераза

Рабочее название

Гексокиназа

Класс

2. Трансферазы

Подкласс

2.7. Переносящие фосфорсодержащие группы

Подподкласс

2.7.1. Со спиртовой группой в качестве акцептора

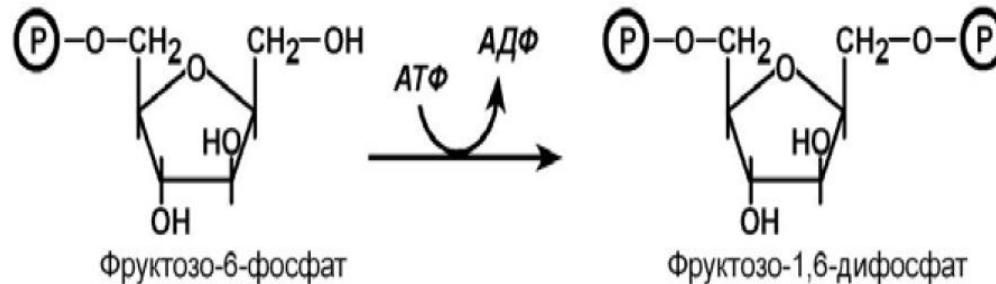
Классификационный номер

КФ 2.7.1.1.

Кофактор

Магний

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название

АТФ:фруктозо-6-фосфат-фосфотрансфераза

Рабочее название

Фосфофруктокиназа

Класс

2. Трансферазы

Подкласс

2.7. Переносящие фосфорсодержащие группы

Подподкласс

2.7.1. Со спиртовой группой в качестве акцептора

Классификационный номер

КФ 2.7.1.11.

III КЛАСС. ГИДРОЛАЗЫ

Гидролазы – ферменты, осуществляющие разрыв внутримолекулярных связей в субстрате (за исключением С-С связей) путем присоединения элементов H_2O , подразделяются на 13 подклассов.

Ввиду сложности многих субстратов у ряда ферментов сохранены тривиальные названия, например, пепсин, трипсин. Коферменты отсутствуют.

Примером подклассов служат группы ферментов, действующие на сложные эфиры, на простые эфиры, на пептиды, на углерод-углеродные связи.

Гидролазы представлены ферментами желудочно-кишечного тракта (пепсин, трипсин, липаза, амилаза и другие) и лизосомальными ферментами. Осуществляют распад макромолекул, образуя легко адсорбируемые мономеры.

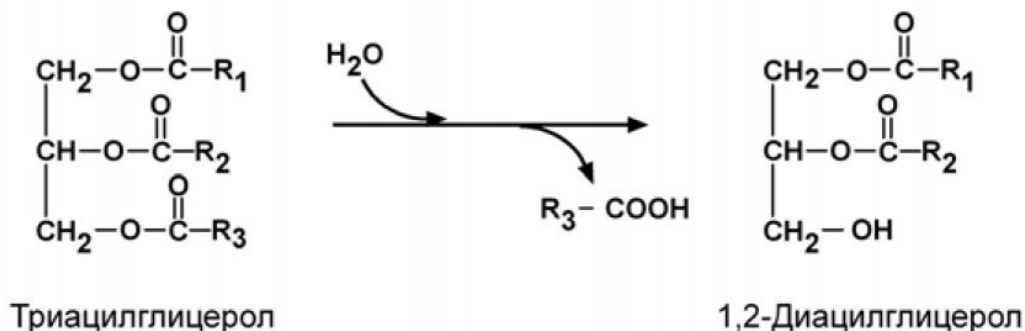
Исторически названия гидролаз складывались из названия субстрата с окончанием "-аза" – коллагеназа, амилаза, липаза, ДНК-аза. Наиболее часто встречаются следующие рабочие названия гидролаз:

- 1. Эстеразы – гидролиз сложноэфирных связей.**
- 2. Липазы – гидролиз нейтральных жиров.**
- 3. Фосфатазы – гидролиз моноэфиров фосфорной кислоты.**
- 4. Гликозидазы – гидролизуют O- и S-гликозидные связи.**
- 5. Протеазы, пептидазы – гидролиз белков и пептидов.**
- 6. Нуклеазы – гидролиз нуклеиновых кислот.**

Систематическое название образуется:

Гидролизуемый субстрат : отделяемая группа гидролаза.

Пример 1



Характеристика фермента

Систематическое название

Рабочее название

Класс

Подкласс

Подподкласс

Классификационный номер

Триацилглицерол:ацилгидролаза

ТАГ-липаза

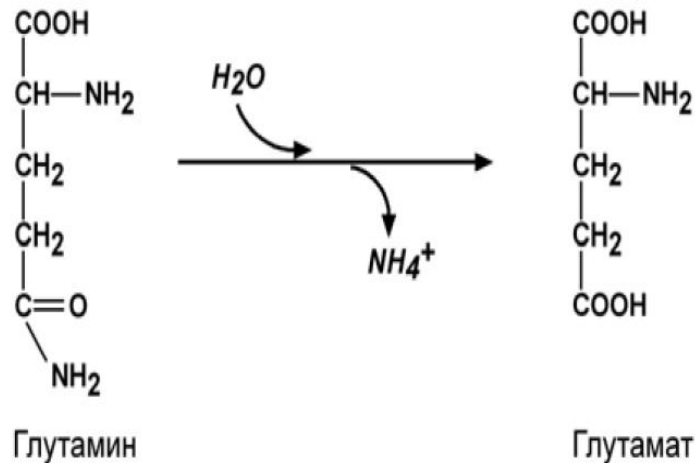
3. Гидролазы

3.1. Действующие на сложные эфиры

3.1.1. Гидролазы карбоновых кислот

КФ 3.1.1.3.

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название

L-глутамин:амидгидролаза

Рабочее название

Глутаминаза

Класс

3. Гидролазы

Подкласс

3.5. Действующие на связи углерод-азот (не пептидные)

Подподкласс

3.5.1. Действующие в линейных амидах

Классификационный номер

КФ 3.5.1.2.

IV КЛАСС. ЛИАЗЫ

Лиазы – ферменты, катализирующие разрыв C-O, C-C, C-N и других связей, а также обратимые реакции отщепления различных групп негидролитическим путем.

Выделяют 7 подклассов.

Эти реакции сопровождаются образованием двойной связи или присоединением групп к месту двойной связи.

Лиазы являются сложными ферментами.

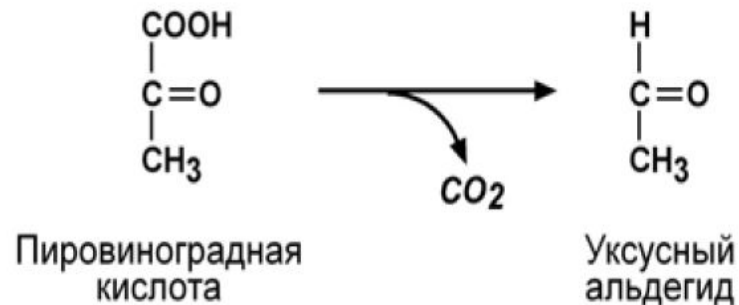
Коферментами служат **пиридоксальфосфат, тиаминдифосфат, участвует магний, кобальт.**

Примером подклассов являются ферменты, действующие на углерод-углеродные связи, углерод-кислородные связи, углерод-азотные связи.

Систематическое название образуется:

Расщепляемый субстрат : отделяемая группа – лиаза

Пример 1

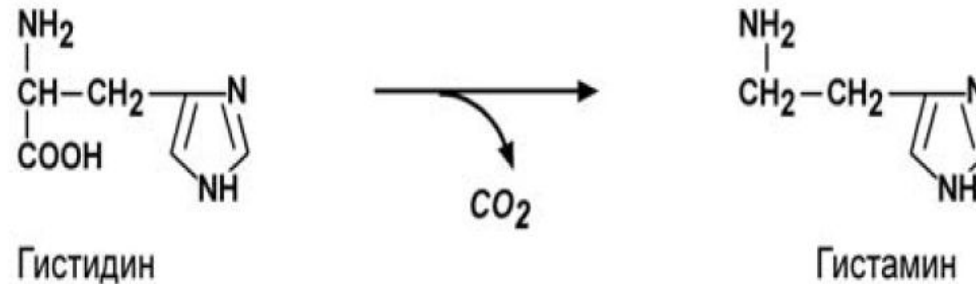


Систематическое название
Рабочее название
Класс
Подкласс
Подподкласс
Классификационный номер
Кофермент

Характеристика фермента

2-оксокислота:карбокси-лиаза
Пируватдекарбоксилаза
4. Лиазы
4.1. Углерод-углерод-лиазы
4.1.1.Карбокси-лиазы
КФ 4.1.1.1.
Тиаминдифосфат

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название

Гистидин:карбокси-лиаза

Рабочее название

Гистидин-декарбоксилаза

Класс

4. Лиазы

Подкласс

4.1. Углерод-кислород-лиазы

Подподкласс

4.1.1. Карбокси-лиазы

Классификационный номер

КФ 4.1.1.22.

Кофермент

Пиридоксальфосфат

V КЛАСС. ИЗОМЕРАЗЫ

Изомеразы – ферменты, катализирующие изомерные превращения в пределах одной молекулы. Изомеразы – сложные ферменты. К их коферментам относятся **пиридоксальфосфат, дезоксиаденозилкобаламин, глутатион, фосфаты моносахаридов (глюкозо-1,6-дифосфат)** и др.

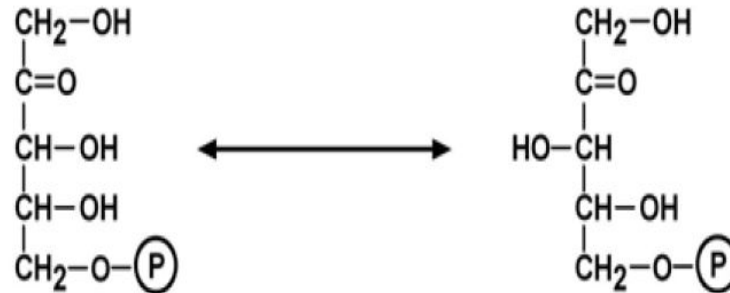
Выделяют 6 подклассов изомераз в зависимости от типа реакции.

Например, в первый подкласс выделяют **рацемазы (обратимое превращение L- и D-стереоизомеров)** и **эпимеразы (превращения D,L-изомеров, имеющих более одного центра асимметрии, например, α -D-глюкозу в β -D-глюкозу)**, в другие подклассы – **цис-транс-изомеразы, внутримолекулярные трансферазы (мутазы), далее внутримолекулярные оксидоредуктазы.**

Систематическое название образуется:

Субстрат – [] – реакция, где [] – обозначение, отражающее суть реакции, например, "номер изменяемого атома углерода", изменение "цис-транс", изменение "кето-енол", изменение "альдозо-кетозо".

Пример 1



Рибулозо-5-фосфат

Ксилулозо-5-фосфат

Характеристика фермента

Систематическое название

D-рибулозо-5-фосфат-3-эпимераза

Рабочее название

Рибулозофосфат-3-эпимераза

Класс

5. Изомеразы

Подкласс

5.1. Рацемазы и эпимеразы

Подподкласс

5.1.3. Действующие на углеводы и их производные

Классификационный номер

КФ 5.1.3.1.

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название	D-глицеральдегид-3-фосфат-альдозо-кетозо-изомераза
Рабочее название	Триозофосфат-изомераза
Класс	5. Изомеразы
Подкласс	5.3. Внутримолекулярные оксидоредуктазы
Подподкласс	5.3.1. Катализирующие взаимопревращения альдоз и кетоз
Классификационный номер	КФ 5.3.1.1.

VI КЛАСС. ЛИГАЗЫ

Лигазаы (синтетазы) – ферменты, катализирующие присоединение друг к другу двух молекул с использованием **энергии высокоэнергетических связей АТФ (или других макроэргов)**.

Лигазаы – сложные ферменты. Они содержат **нуклеотидные (УТФ), биотиновые (витамин Н), фолиевые коферменты**.

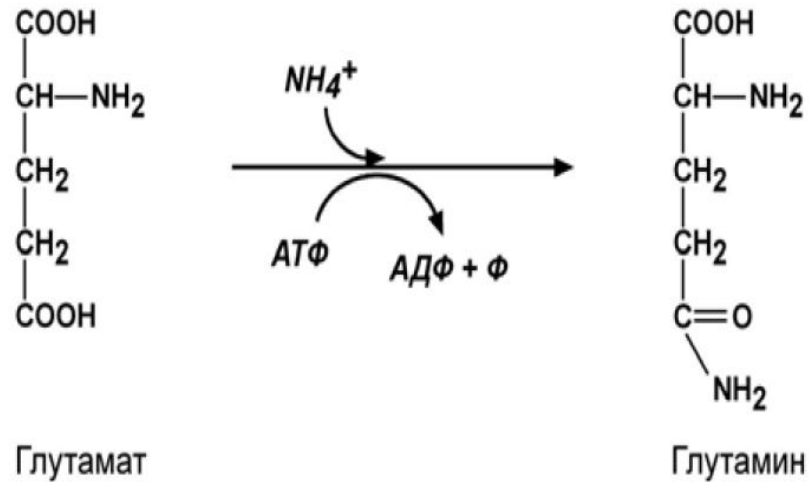
Выделяют 6 подклассов.

Примером подклассов служат группы ферментов по виду образуемой связи: углерод-кислород, углерод-сера, углерод-азот, углерод-углерод.

Систематическое название образуется:

Субстрат 1 : субстрат 2 – лигаза

Пример 1



Характеристика фермента

Систематическое название

L-глутамат:аммиак-лигаза

Рабочее название

Глутаминсинтетаза

Класс

6. Лигазы

Подкласс

6.3. Образующие связи углерод-азот

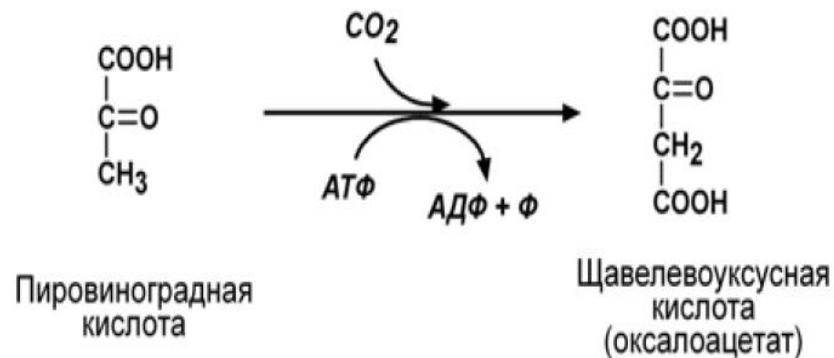
Подподкласс

6.3.1. Амид-синтетазы

Классификационный номер

КФ 6.3.1.2.

Пример 2



Характеристика фермента

Систематическое название

Пируват:карбокси-лигаза (АДФ-образующая)

Рабочее название

Пируваткарбоксилаза

Класс

6. Лигазы

Подкласс

6.4. Образующие связи углерод-углерод

Подподкласс

6.4.1. Образующие связи углерод-углерод

Классификационный номер

КФ 6.4.1.1.

Кофакторы

Биотин. Магний. Цинк.