

Ферменты -5

Содержание:

- 1. Медицинская энзимология.** Основные направления Применение ферментов в лабораторной диагностике, производственной практике и биотехнологии.
- 2. Энзимопатии, классификации.** Первичные и вторичные энзимопатии, степень клинического проявления.

Патогенез энзимопатий – механизм развития вторичных метаболических блоков. Энзимодиагностика, цель, задачи. Типы ферментов плазмы крови (клеточные, экскреторные, секреторные)

3. Энзимотерапия. Примеры.

Иммобилизованные ферменты, липосомы, тени эритроцитов, вирусные векторы. Биотехнология

- Медицинская энзимология - раздел клинической биохимии, который занимается изучением роли ферментов в заболеваниях, использование ферментов как лечебных препаратов и для диагностики.
- Имеет 5 направлений:

1. Энзимопатология. (Изучение роли ферментов в развитие патологических процессов). Объект - изучения энзимопатии.
2. Энзимодиагностика. (Изучение способов диагностики заболеваний путем определения активности ферментов).
3. Энзимотерапия. (Использование ферментов в качестве лекарственных препаратов).

4. Инженерная энзимология.

(Использование ферментов в качестве технических и фармацевтических средств, в качестве реагентов).

5. Лабораторная диагностика. (Выделение ферментов в малых количествах

- Энзимопатия - заболевания, в основе которого лежат генетические и др. изменения активности ферментов.
- Причины:
- По классификации академика **Покровского** энзимопатии делятся на:
- 1) наследственные (генетически детерминированы - точечные мутации, хромосомные aberrации ---> серповидноклеточная анемия, фенилкетонурия, галактоземия, альбинизм);

2) алиментарные - связаны с пищевыми факторами: дефицит белка, микроэлементов, гипо- и авитоминозы, несбалансированное питание. Употребление недоброкачественной пищи (красители, консерванты);

3) токсические - связаны с ингибированием ферментов пестицидами, гербицидами, лекарствами, выбросами машин, заводов (например тетрациклин блокирует рибосомальный цикл гепатоцитов в печени).

- По современной классификации:
- 1) первичные (врожденные, наследственные);
- 2) вторичные (приобретенные: алиментарные и токсические).
- Причины первичных энзимопатий:
- 1. Точечные мутации гена, кодирующего фермент.
- 2. Наличие ингибитора или отсутствие активатора при синтезе фермента.
- 3. Генетические дефекты синтеза кофермента.
- 4. Нарушение процессинга белка.
- 5. Патология или отсутствие матрицы ДНК и РНК.

- Причины вторичных энзимопатий:
- 1. Нарушения энергообеспечения (уменьшение АТФ, ГТФ - нарушение синтеза апофермента).
- 2. Недостаток аминокислот (белковое голодание).
- 3. Отсутствие или недостаток кофермента: витаминов, микроэлементов, нарушение ресорбции витаминов в ЖКТ.
- 4. Все причины гиповитаминозов.
- 5. Клеточная деструкция разного генеза.

- Все инфекционные болезни (вирусные, бактериальные и паразитарные) протекают с расстройством ферментных систем, это связано с выделением экзо- и эндотоксинов, блокирующих ряд ферментов.
- Другой причиной является гипо- и гиперфункция эндокринных желез.
- Также причиной может быть резкое изменение условий среды, в которой работает фермент. (Ацидоз или алкалоз).

- Примеры энзимопатий:
- В условиях любого ферментативного блока, активируются минорные пути метаболизма:
- схема
- ФПК (фенилпировиноградная кислота) - является конкурентным ингибитором в ткани мозга и блокирует аэробные энергодающие пути мозга, вызывающие дефицит энергии. Накапливается в мозге и вызывает дегенерацию, сопровождается расстройством психической деятельности.
- Алкаптонурия - болезнь «черных пеленок», моча на воздухе чернеет за счет окисления неразложившейся гомогентизиновой кислоты.
- ТИР ----> ДОФАмин ----> катехоламины схема
- отсутствие ----> меланина в коже, волосах и сетчатке.

- Синдром «кленового сиропа» (моча имеет сладковатый привкус): возникает вследствие дефекта фермента метаболизма а/к с разветвленными радикалами (вал, лей, изолей), концентрация этих а/к увеличивается, активируются минорные метаболические пути и образуется альфа-кетокислоты, аналоги этих а/к.

- Гиперуринемия (болезнь Леша-Нихана) - повышенное содержание мочевой кислоты в крови, вызванное недостаточностью гуанин-гипоксантин фосфорибозинтрансферазы.
- Доброкачественная желтуха новорожденных связана с понижением активности глюкуронилтрансферазы.
- Злокачественная желтуха - дефект глюкоронилтрансферазы.

- Гемофилия А (дефицит VIII фактора свертываемости крови).
- -//- В (дефицит IX фактора).
- -//- С (дефицит XI фактора).
- В основе всех ферментопатий лежит увеличение концентрации S для аномального фермента, активация минорных путей метаболизма, приводящих к образованию токсических веществ, вызывающих вторичные патологические блоки.

- В основе всех ферментопатий лежит увеличение концентрации S для аномального фермента, активация минорных путей метаболизма, приводящих к образованию токсических веществ, вызывающих вторичные патологические блоки.
- E
- $S - X \rightarrow P$
- А дефицит P выражается снижением интенсивности последующих реакций.

- Степень проявления энзимопатий.
- 1. Бессимптомные, не имеющие никаких проявлений (фруктозурия).
- 2. Слабо выраженные (проявления средней степени: легкие формы сахарного диабета; генетические дефекты бета-структуры Hb, гипоксия).
- 3. Ярко-выраженные (несовместимые с жизнью) - заболевание проявляется с первых дней жизни: болезнь «кленового сиропа».

Энзимодиагностика.

- Еще Вольгемут показал, что при заболевании поджелудочной железы в моче и крови обнаруживается высокая активность амилазы.
- Так при заболевании костей имеет место высокая активность щелочной фосфатазы, при заболевании простаты - кислой фосфатазы.
- Таким образом энзимодиагностика базируется на идее органоспецифичности и компартментализации ферментов в клетке.
- При заболевании увеличивается проницаемость мембран и вследствие нарушения градиента концентраций ферментов между внутриклеточной и межклеточной средами, ферменты выходят из клетки и попадают в кровь, мочу.

- Наилучшим источником диагностических ферментов является сыворотка крови. Активность ферментов в сыворотке прямо пропорциональна поражению органа: чем больше активность - тем серьезней повреждение. Нужно отметить, что все антикоагулянты являются ингибиторами плазменных ферментов.

- Энзимодиагностика имеет 2 направления:
- 1. Ранняя диагностика.
- Так при гепатитах активность трансаминаз (АсАТ АлАТ) повышается гораздо раньше, чем билирубин проникает в ткани и вызовет желтуху, и значительно раньше, чем возникает недомогание.
- Путем определения активности АсАТ и АлАТ можно диагностировать гепатит за 2-е недели до появления желтухи.

- 2. Дифференциальная диагностика.
- Так например заболевание печени делются на 3 группы.
- Кроме этого нужно отметить, что АсАТ АлАТ одинаково представлены в печени и миокарде, поэтому при повреждении того и другого активность их увеличивается. Но при заболевании сердца (инфаркте) преобладает активность АсАТ. При остром гепатите - АлАТ.

- В клинике для диф. диагностики инфаркта миокарда используется коэф. Де Ритиса АсАТ
- Коэф. Де Ритиса = $\frac{\text{АсАТ}}{\text{АлАТ}} = 1,5 - 2$
- АлАТ
- При гепатите коэф. $< 0,6$
(увеличивается активность АлАТ).
- Если коэф. > 2 (увеличивается активность АсАТ), то это инфаркт миокарда; уровень держится 2-3 суток, к концу 1 недели падает.

- Для оценки степени тяжести заболеваний также определяется активность ферментов. Так при мягких формах гепатита сначала увеличивается активность фермента цитоплазмы гепатоцита - дегидрогеназы. При тяжелых формах - увеличивается активность митохондриального фермента глутаматдегидрогеназы.
- Этим же путем можно дифференцировать гепатит и некроз печени. При гепатите наблюдается высокая активность билирубина и АлАТ, при некрозе - активность билирубина увеличивается, а АлАТ уменьшается

- Следует отметить, что при заболеваниях может наблюдаться 3 состояния ферментов:
- 1) гипоферментемия (снижена активность в плазме). Наблюдается при поражении того органа в котором синтезируется данный фермент, например при гепатите уменьшается активность холинэстеразы, синтезируемой в гепатоцитах. Так, на высоте заболевания панкреотитом, снижается активность амилазы, что ведет к некрозу.
- 2) Нормоферментемия, может сопровождаться дисферментемией, характерно для текущих процессов - цирроз печени.
- 3) Гиперферментемия встречается чаще всего.

Примеры использования измерения активности ферментов в диагностике

- При раке предстательной железы активность этого фермента увеличивается в сыворотке крови. Щелочная фосфатаза находится во многих органах, особенно в костной ткани и печени. Подобно ЛДГ существуют органоспецифические изоферменты щелочной фосфатазы.

измерения активности ферментов в диагностике

- Фосфатаза - фермент, который не имеет выраженной субстратной специфичности к органическим эфирам фосфорной кислоты. По рН-оптимумам различают кислую и щелочную фосфатазы. Высокой активностью кислой фосфатазы отличается предстательная железа. При раке предстательной железы активность этого фермента увеличивается в сыворотке крови.

- Щелочная фосфатаза находится во многих органах, особенно в костной ткани и печени. Подобно ЛДГ существуют органоспецифические изоферменты щелочной фосфатазы. Печеночная фосфатаза, хотя и является клеточным ферментом (лизосомы), в небольших количествах выделяется с желчью в кишечник.

- Поэтому при нарушении оттока желчи (желчекаменная болезнь, опухоль) часть фосфатазы всасывается в кровь. Этот эффект может иметь место при повреждении печеночных клеток. Повреждение печени нередко сопровождаются желтухами. Энзимодиагностическое исследование кислой фосфатазы используется для дифференциальной диагностики желтух.

- Такая диагностика важна для врача при выборе методов лечения. Дело в том, что разные типы желтух требуют принципиально разного лечения: хирургическое - в случае закупорки желчного протока и консервативное - при паренхиматозном повреждении печени. Активность щелочной фосфатазы повышается при патологических процессах в костной ткани (метастазы в кость или распад костей).

- Различить изоферменты фосфатазы из печени и костей можно на основании их различной чувствительности к мочеvine.
- После добавления определенного количества мочевины остаточная активность связана с печеночной фосфатазой, ибо она не ингибируется мочевиной.

Ферменты, используемые в энзимодиагностике

- **Энзимотерапия. Примеры.
Иммобилизованные
ферменты, липосомы,
тени эритроцитов,
вирусные векторы.
Биотехнология.**

- Ферменты, которые обнаруживаются в норме в плазме крови делятся на 3 группы:
- 1. Секреторные - они синтезируются в печени и выделяются в плазму крови: ферменты гемостаза, холинэстераза.
- 2. Индикаторные (клеточные). Одни из них локализованы в цитоплазме (ЛДГ), другие - в митохондриях (ГДГ), третьи - в лизосомах (кислая фосфотаза).

Большая часть индикаторных ферментов в плазме определяется лишь в следовых количествах, и только при поражении каких-либо тканей их активность резко возрастает

3. Экскреторные (ИАП, щелочная фосфотаза) - синтезируются в основном в печени и выделяются с желчью. При патологических процессах их выделение с желчью нарушается и активность в плазме возрастает

Принципы диагностики энзимопатий.

1. Определение концентраций в биологических жидкостях, тканях субстратов и продуктов тех ферментов, активность которых снижена.
2. Определение активности фермента, который вызывает энзимопатию.
3. Определение концентраций метаболитов минорных путей метаболизма: ФПК, ФУК.
4. Клиническая диагностика: симптомы, заметные глазом - глаза, внешний вид.

- **Энзимотерапия.**
- Способ лечения с помощью ферментов - энзимотерапия.
- Применяется заместительная терапия при недостаточности ферментов ЖКТ (желудочный сок, продукты поджелудочной железы, стимулирующие HCl, алахол - стимулятор липазной активности).
- Ферменты применяются для аппликаций, ингаляций при гнойных заболеваниях легких.
- Ферменты: РНКазы, ДНКазы, гиалуронидаза, коллагеназы, эластазы используются для обработки ран, воспалительных очагов, ожогов, для устранения отеков.

- Для лечения заболеваний ССС применяются кашикрины (для снижения кровяного давления), стрептодеказа (ведет к снижению зоны инфаркта миокарда).
- В последнее время применяются иммобилизованные ферменты, т. е. фиксированные на чем либо. Такие ферменты обладают повышенной стабильностью, сниженной антигенностью и более длительным действием в организме

- Для лечения заболеваний ССС применяются кашикрины (для снижения кровяного давления), стрептодеказа (ведет к снижению зоны инфаркта миокарда).
- В последнее время применяются иммобилизованные ферменты, т. е. фиксированные на чем либо. Такие ферменты обладают повышенной стабильностью, сниженной антигенностью и более длительным действием в организме

- С помощью микосом были введены, растворяющие мельчайшие шарики, необходимые для трансферации эндотелия в месте образования тромба.
- Предпринимались попытки применения ферментов для лечения злокачественных опухолей, например аспарагиназы при лечении лимфогранулематоза. Этот фермент разрушает АСН, является незаменимым фактором для лейкозных клеток