

Энзимодиагностика: распределение ферментов в организме; понятие о секреторных и экскреторных ферментах; маркерные ферменты печени и миокарда.

Изоферменты и их роль в диагностике



Распределение ферментов в организме

- **А. Внутриклеточные ферменты**
- **Б. Экскреторные ферменты** (работают в полостях, сообщающихся с внешней средой)
- **В. Секреторные ферменты** (работают в крови и других тканевых жидкостях)

Диагностическое значение

- В норме в крови активность **внутриклеточных и экскреторных ферментов низкая**: лишь небольшое количество молекул этих ферментов попадает в кровь
- При усиленной гибели клеток содержащиеся в них ферменты попадают в кровоток. **Активность внутриклеточных (или экскреторных) ферментов в крови возрастает.**

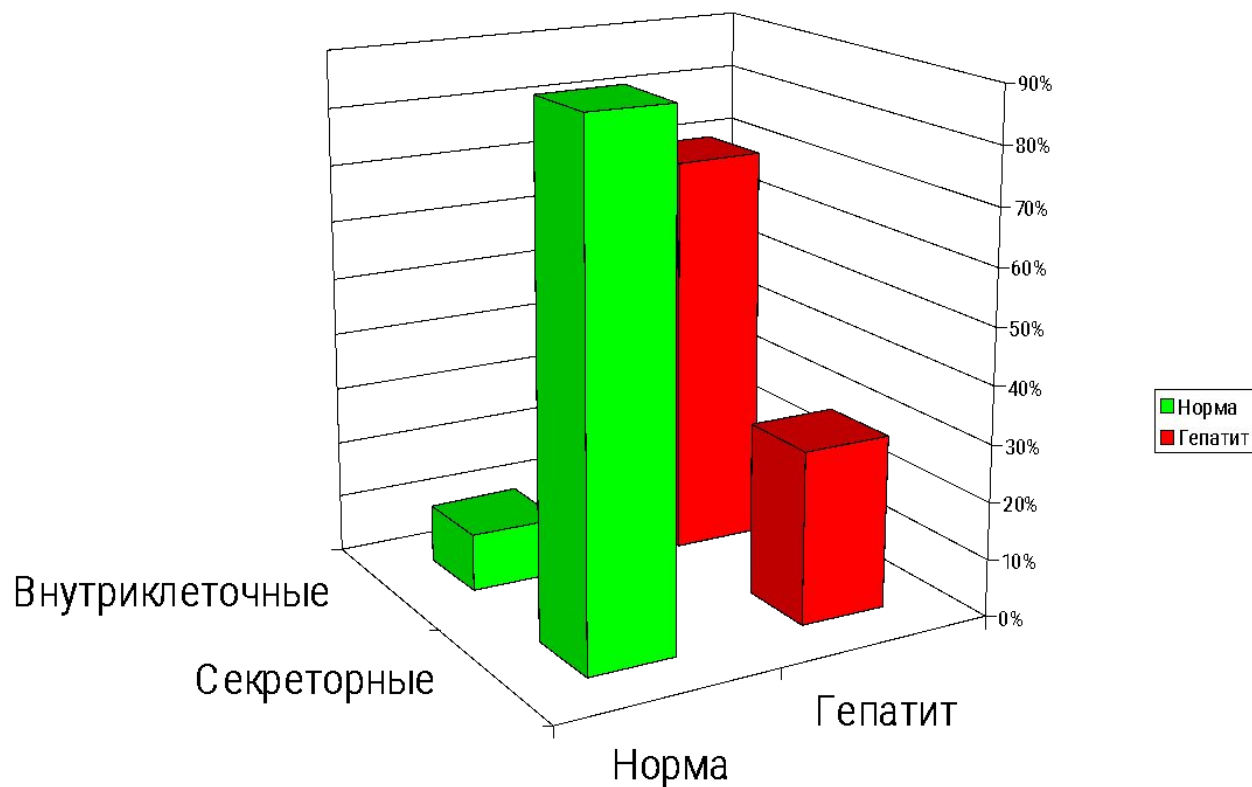
- По увеличению или снижению уровня внутриклеточных (или экскреторных) ферментов в крови можно определить пораженный орган, активность патологического процесса в этом органе, эффективность лечения.

Диагностическое значение секреторных ферментов

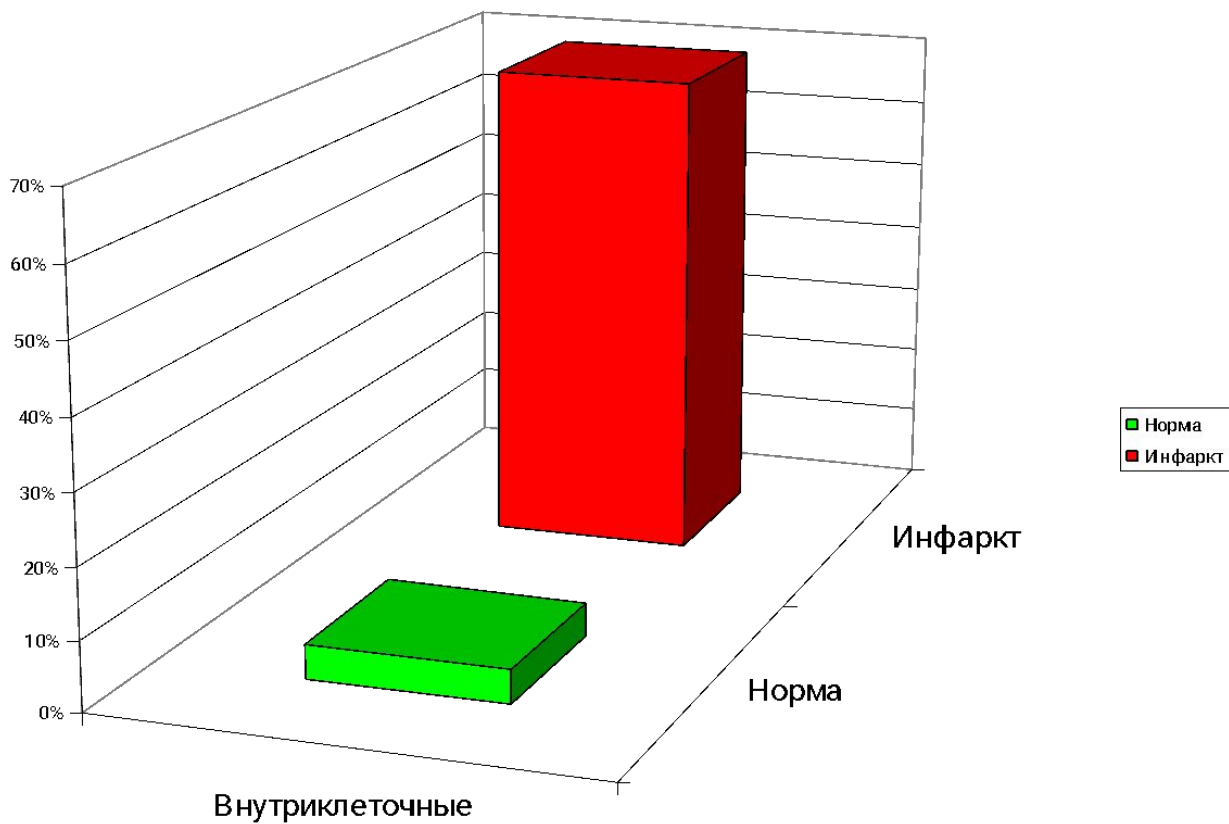
- В норме активность секреторных ферментов в плазме высокая
- При патологии органа, вырабатывающего секреторные ферменты, их активность в плазме понижается

Ферменты печени в крови в норме и при гепатите

Ферменты печени в крови в норме и при гепатите



Ферменты миокарда в крови в норме и при инфаркте



Понятие об изоферментах. Изоферменты и их диагностическая роль

Изоферментами называют разновидности одного и того же фермента, встречающиеся в разных тканях.

Они катализируют одну и ту же реакцию, однако с разными кинетическими характеристиками:

- с разным выходом продукта в единицу времени;
- с разной способностью осуществлять обратную реакцию;
- С разной чувствительностью к регуляторам

Причины отличий изоферментов друг от друга

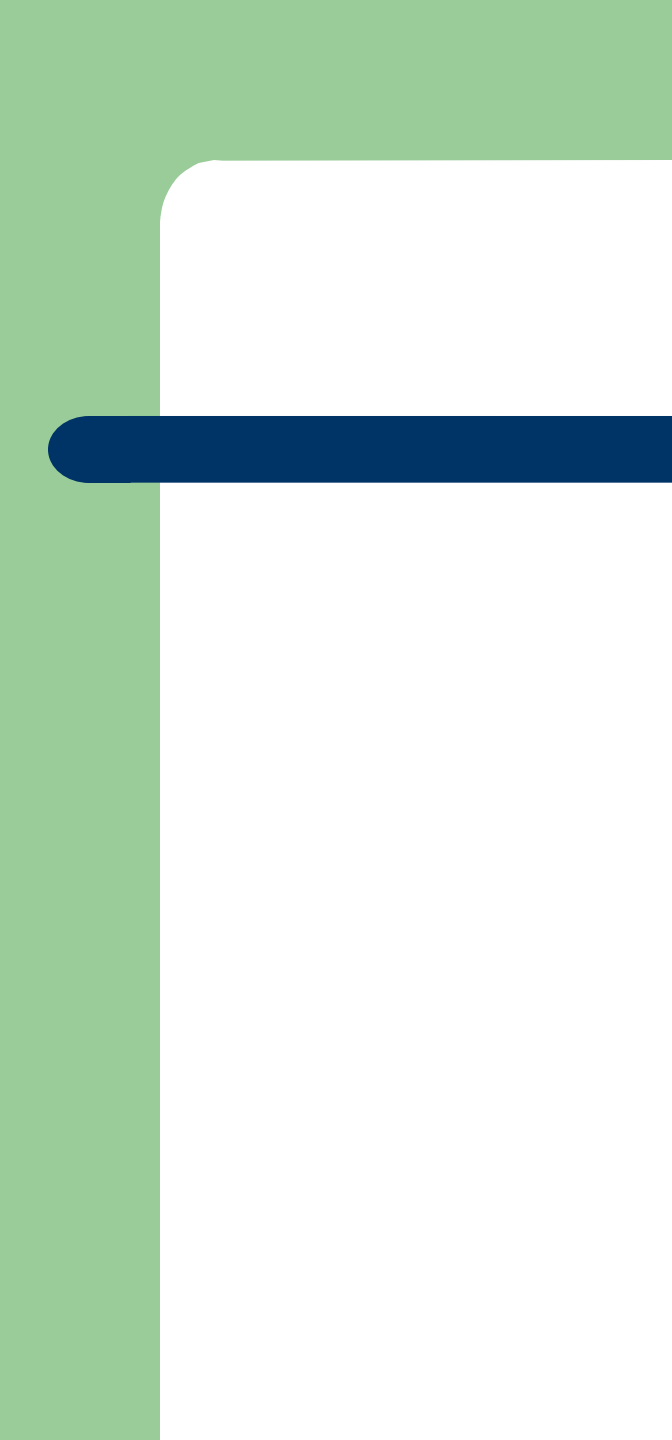
Кроются в небольших изменениях аминокислотных последовательностей.

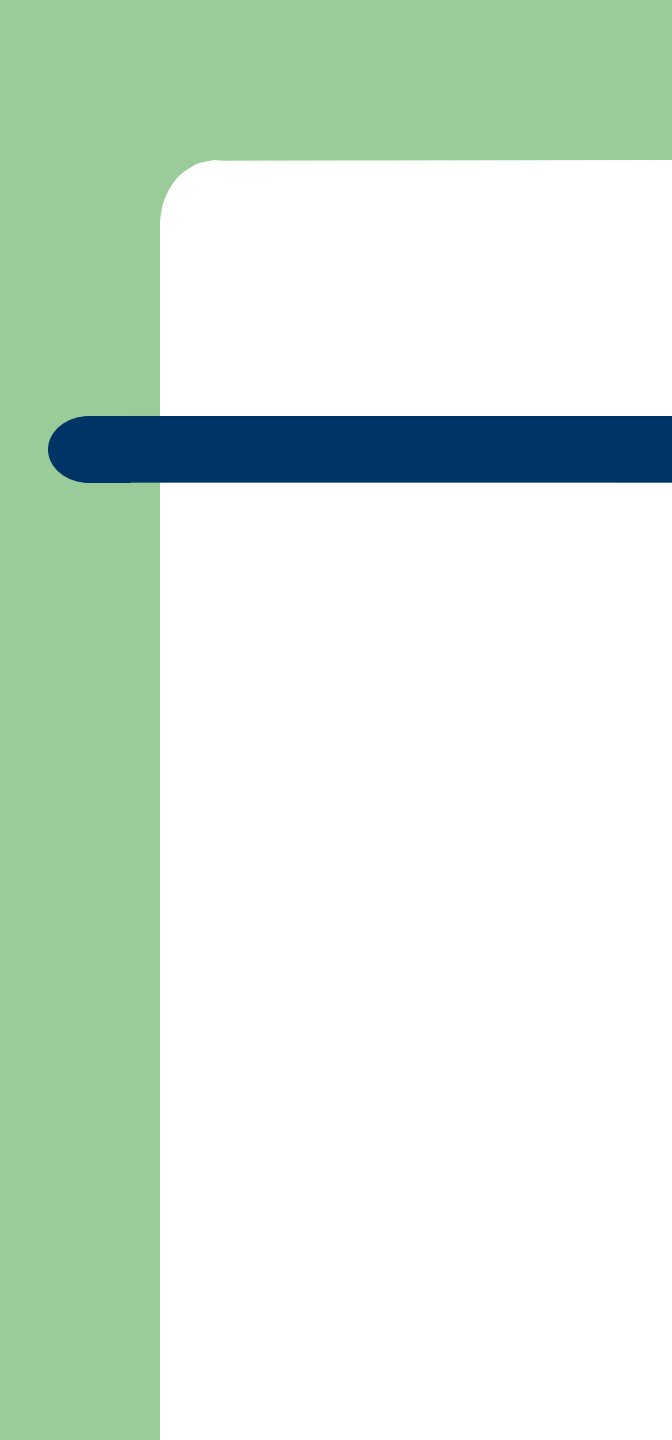
Конформации белковых глобул из-за этого несколько изменяются, поэтому связывание лигандов (субстратов и регуляторов) с АЦ и РЦ также изменяется.

Важно понимать, что изменения аминокислотных последовательностей – это результат полиморфизма генов фермента в разных тканях

Примеры изоферментов

- Гемоглобин (более 200 разновидностей, у каждого человека не менее 3 видов)
- Лактатдегидрогеназа (печеночный, скелетно-мышечный и сердечный изоферменты есть у каждого человека)
- Креатинфосфокиназа (скелетно-мышечный и кардиальный изоферменты есть у каждого человека)
- Алкогольдегидрогеназа («национальные» изоферменты)





Маркерные ферменты

- Маркерными называют внутриклеточные ферменты, характерные для данного органа.
- Часто говорят о маркерных белках – это более широкое понятие, включающее также и другие белки, характерные для данного органа
- В лабораторной диагностике используют и то, и другое.
- Нередко маркерную функцию выполняет только один изофермент или специфическое соотношение ферментов

Маркерные ферменты печени

Аргиназа (расщепляет аргинин на мочевины и орнитин)

Орнитин:карбамоилфосфаттрансфераза (ОКТ) – начальный этап синтеза мочевины

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ) изоферменты 4 и 5

Сорбитолдегидрогеназа (СДГ)

Соотношение аминотрансфераз как маркер заболеваний печени

- В печени преобладает активность аланин-аминотрансферазы (аланин превращается в пируват).
- Активность аспартат-аминотрансферазы гораздо ниже (аспартат превращается в оксалоацетат).
- Поэтому **в печени $АлТ/АсТ > 1$**
- При гепатите в крови нарастает активность обеих аминотрансфераз, но уровень АлТ всегда гораздо более высокий.
- **Это соотношение называют коэффициент де Ритиса. При гепатите он всегда больше единицы.**

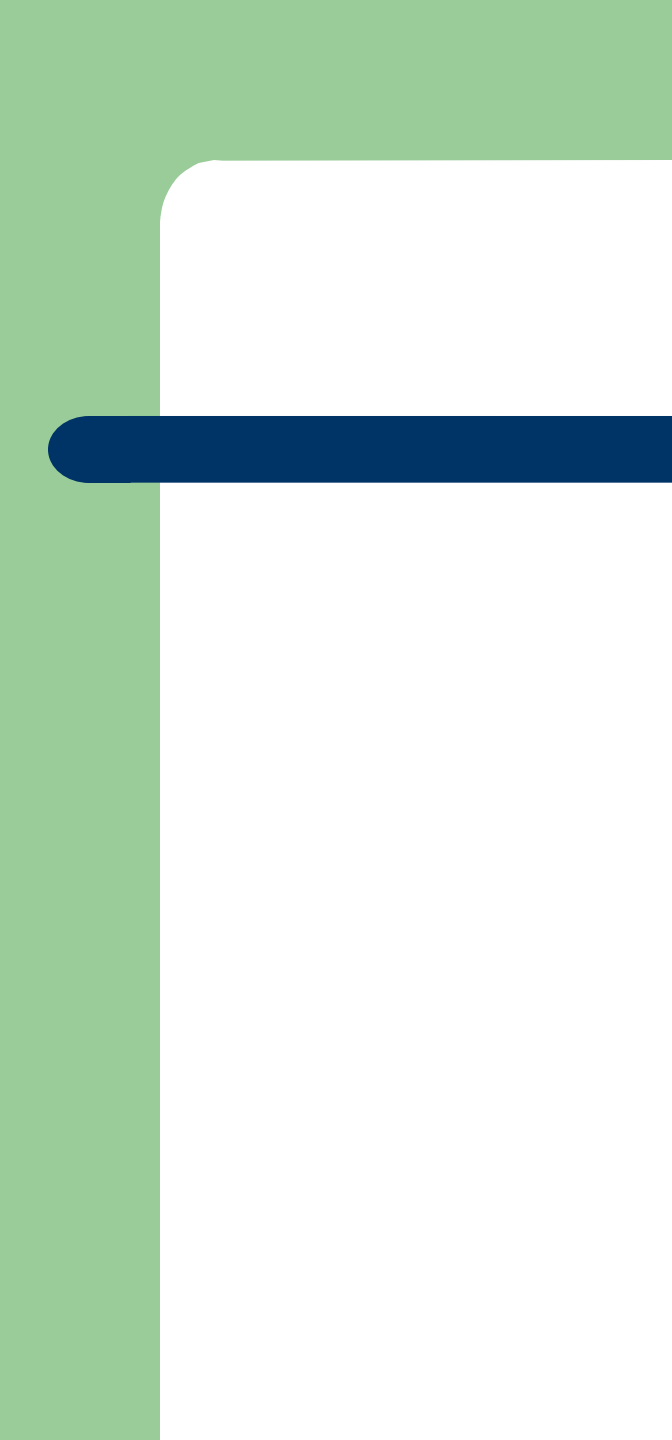
Маркеры миокарда

- Креатинфосфокиназа (сердечный изофермент)
- ЛДГ 1,2
- Обратное соотношение аминотрансфераз:
АсТ > АлТ.
- При разрушении сердечной мышцы коэффициент де Ритиса (АлТ/АсТ) в крови **меньше 1**
- Маркерами инфаркта являются также тропонин (белок мышечного сокращения с АТФазной активностью) и митохондриальные ферменты цикла Кребса (малатдегидрогеназа, изоцитратдегидрогеназа)

Секреторные ферменты печени и их роль в диагностике

- Факторы свертывания (ферменты, активирующие образование фибрина при повреждении тканей)
- Факторы фибринолиза (ферменты, гидролизующие фибрин и препятствующие тромбозу сосудов)
- Псевдохолинэстеразу (ПХЭ) – аналог ацетилхолинэстеразы, но с относительной субстратной специфичностью. Предпочтительный субстрат - бутирилхолин
- Печень секретирует в кровь 2 важных вещества, не имеющих ферментативной активности: гепарин и альбумины





- Все эти вещества выделяются печенью в кровь сразу же, по мере синтеза. Поэтому в норме их содержание в плазме крови высокое
- При снижении синтеза этих веществ в печени их уровень в крови быстро падает

Почему снижение секреторных ферментов не является абсолютным признаком гепатита?

- При гепатитах активность секреторных ферментов печени в крови снижается, но только по этому признаку диагноз гепатита поставить нельзя, потому что

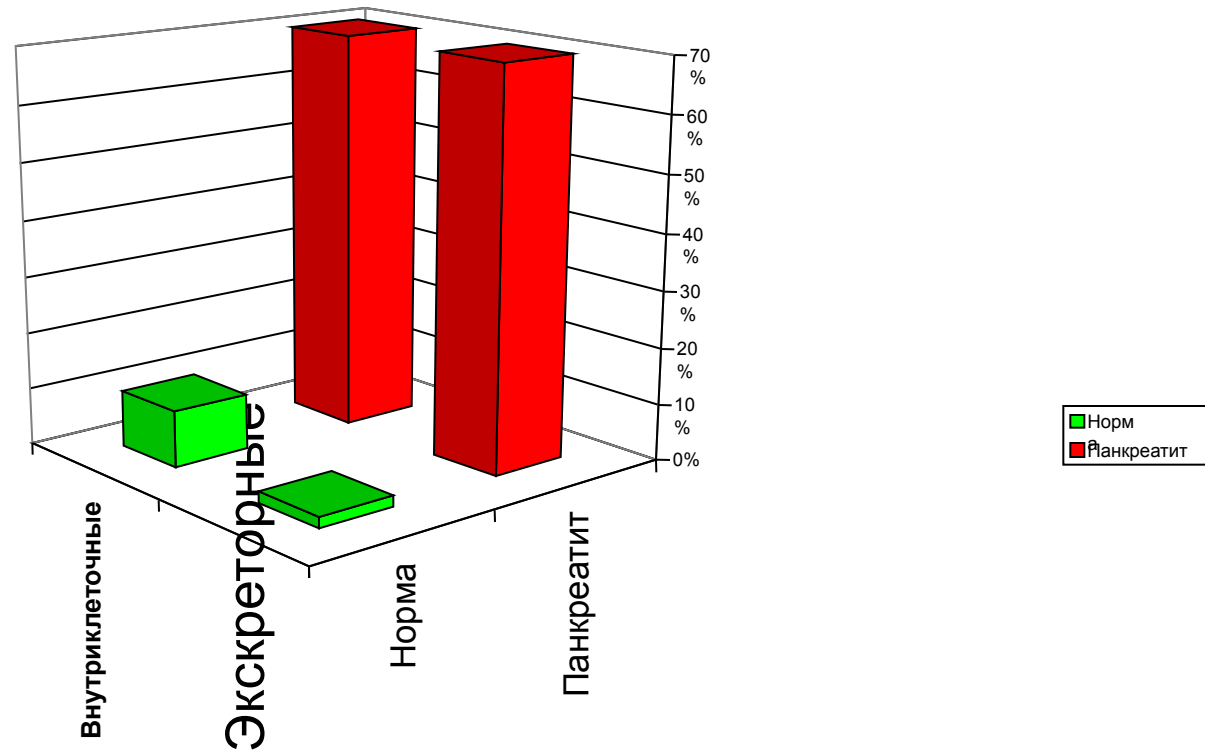
Иные причины снижения уровня секреторных ферментов в крови

- Снижение синтеза белков в печени может быть связано:
- Со старением организма
- Недостатком незаменимых аминокислот
- Врожденным дефектом (например, дефицит некоторых факторов свертывания при гемофилии)
- Хроническим гиповитаминозом (А, РР)

Диагностика болезней с помощью экскреторных ферментов

- Железы пищеварительного тракта выделяют в экскреторные ферменты:
- Слюнные железы: амилазу, мальтазу
- Поджелудочная железа: трипсин, химотрипсин, липазу, фосфолипазу, холестеролэстеразу, амилазу, карбоксипептидазы А и В
- Печень как пищеварительная железа выделяет щелочную фосфатазу по желчным протокам

Ферменты поджелудочной железы в крови в норме и при панкреатите



Классификация ферментов

Основной класс	Тип реакции
Оксидоредуктазы	Окислительно-восстановительные реакции всех типов
Трансферазы	Перенос отдельных функциональных групп между двумя молекулами
Гидролазы	Расщепление связей с участием молекул воды
Лиазы	Расщепление связей способом, отличным от гидролиза или окисления
Изомеразы	Взаимопревращения различных изомеров
Лигаза (синтетазы)	Образование связей в реакции конденсации 2-х веществ с затратой макроэргической связи

Дальнейшая классификация оксидоредуктаз

- ОВР могут осуществляться в клетке несколькими способами:
- 1. Перенос электронов (цитохромы)
- 2. Перенос протонов (дегидрогеназы)
- 3. Прямое взаимодействие с кислородом (оксидазы и оксигеназы)

Примеры подклассов оксидоредуктаз

- Цитохромы (тканевое дыхание)
- Дегидрогеназы и редуктазы, флавиновые и пиридиновые (цикл Кребса, окисление жирных кислот, синтез холестерина и жирных кислот)

Оксидазы

- Кислород является акцептором электронов, но не внедряется в молекулу субстрата S
- В ходе катализа оксидазы могут генерировать либо воду, либо перекись водорода :
- А) $SH_2 + 1/2O_2 \longrightarrow S + H_2O$
- Б) $SH_2 + O_2 \longrightarrow S + H_2O_2$

Оксигеназы

- Кислород внедряется в молекулу субстрата S
- Если внедряется только один атом кислорода, фермент называется монооксигеназа (гидроксилаза)
- Если внедряется 2 атома кислорода, то это диоксигеназа (участвуют в синтезе простагландинов из арахидоновой кислоты)

Каталазы, пероксидазы и супероксиддисмутазы

- Также относятся к классу оксидоредуктаз и работают с кислород-содержащими молекулами или кислородом:
- СОД
- $2\text{O}_2^{2-} + 2\text{H}^+ \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$



Вопросы по теме «Энзимодиагностика»

- Дать определение секреторных, экскреторных, внутриклеточных ферментов. Привести примеры.
- Что такое маркерные ферменты?
- Перечислить маркерные ферменты печени.
- Перечислить маркерные ферменты миокарда.
- Перечислить экскреторные ферменты поджелудочной железы
- Назвать экскреторные ферменты слюнных желез
- Какой экскреторный фермент содержится в желчи?
- Как изменится активность маркерных ферментов печени при гепатите?
- Как изменится активность маркерных ферментов миокарда при инфаркте?
- Что такое коэффициент де Ритиса и как он используется в диагностике гепатита?
- Как используется коэффициент де Ритиса в диагностике инфаркта?
- Назовите вещества неферментативной природы, секретируемые печенью. Перечислите их функции в организме.
- Нарисуйте диаграмму, отражающую содержание секреторных и маркерных ферментов печени в крови в норме и при гепатите
- Нарисуйте диаграмму, отражающую содержание экскреторных и внутриклеточных ферментов поджелудочной железы в крови в норме и при гепатите
- Нарисуйте диаграмму, отражающую содержание экскреторных и внутриклеточных ферментов поджелудочной железы в крови в норме и при гепатите
- Нарисуйте диаграмму, отражающую содержание экскреторных и внутриклеточных ферментов поджелудочной железы в крови в норме и при гепатите
- Нарисуйте диаграмму, отражающую содержание маркерных белков миокарда в крови в норме и при гепатите
- Напишите указание для лаборатории, какие вещества следует определить в крови для диагностики гепатита
- Напишите указание для лаборатории, какие вещества следует определить в крови для диагностики инфаркта
- Напишите указание для лаборатории, какие вещества следует определить в крови для диагностики панкреатита
- Для каждого из трех предыдущих заданий стрелками укажите ожидаемое направление изменений (стрелка вверх, стрелка вниз)

Вопросы по теме «Ферменты. Регуляция активности»

- 1. Химическая природа ферментов. Краткая характеристика структуры.
- Что такое активный центр? Как он формируется и какие функции выполняет?
- Дайте определение понятиям кофактор, кофермент, простетическая группа. Приведите примеры.
- Объясните характер взаимодействия кофактора, кофермента и простетической группы с молекулой фермента
- Что такое апофермент и холофермент? Охарактеризуйте активность каждого вида.
- Почему извлечение простетической группы всегда ведет к разрушению фермента?
- Что такое изостерические и аллостерические ферменты? Чем они отличаются?
- Перечислите свойства ферментов как катализаторов.
- Опишите условия оптимальной работы:
- А. для внутриклеточных ферментов
- Б. для пепсина
- В. Для трипсина (работает в 12-перстной кишке)
- Начертите графики зависимости активности ферментов от pH, t, концентрации субстрата. Объясните особенности каждого графика.
- От каких факторов зависит скорость работы фермента?
- Что такое K_m ? На соответствующем графике определите K_m с указанием единиц измерения.
- Опишите принцип аллостеризма с точки зрения конформационных изменений белка.
- Что такое аллостерические регуляторы? Перечислите известные Вам аллостерические регуляторы.
- Вспомните и напишите формулы цитрата, АДФ и цАМФ. Какую роль часто играют эти вещества в отношении ферментов?
- Приведите примеры активации ферментов путем ограниченного протеолиза. В чем преимущества такого способа активации?
- Приведите примеры заболеваний, связанных с несвоевременной активацией ферментов путем ограниченного протеолиза. Кратко опишите, какие могут наступить последствия.