

Энзимопатии
Энзимодиагностика
Энзимотерапия

Энзимопатии

Энзимопатии – это группа заболеваний, которые вызваны различными дефектами ферментов.

Энзимопатий делятся на:

наследственные (первичные)

приобретенные (вторичные).

Приобретенные энзимопатии делятся на

алиментарные,

токсические,

вызванные различными патологическими состояниями

организма, например повышением температуры тела и т.д.

Приобретенные энзимопатии, по-видимому, наблюдаются при всех болезнях.

Причиной наследственных энзимопатий является генетически обусловленная недостаточность или полное отсутствие синтеза ферментов.

Дефектные ферменты наследуются, в основном, по аутосомно-рецессивному типу.

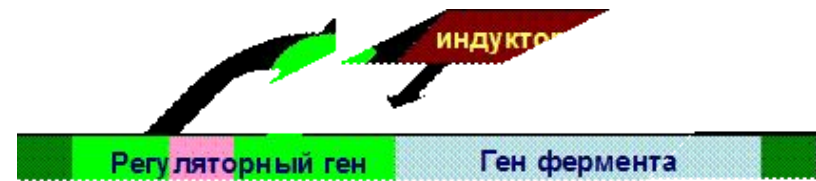
Гетерозиготы, чаще всего, не имеют фенотипических отклонений.

При наследственных энзимопатиях происходит нарушение определенных метаболических путей, возникает дефицит их конечных продуктов и накопление промежуточных продуктов, что приводит к клиническим проявлениям.

1) В норме:



2) Дефекты регуляторных участков белков, которые контролируют синтез ферментов, вызывает полное или частичное нарушения биосинтеза ферментов:



3) Дефекты гена синтеза фермента.

У образовавшегося фермента наблюдаются структурные изменения, которые проявляются в изменении его каталитической активности (как правило, она исчезает), чувствительности к активаторам и ингибиторам, сродству к субстратам, оптимумам pH, температуры. В связи с этим изучением констант фермента является решающим в постановке диагноза врожденных энзимопатий.



Особенностью течения наследственных энзимопатий является ***наличие скрытого периода***, когда болезнь клинически не проявляется, но может быть заподозрена или установлена на основании биохимических исследований.

Обычно первые клинические симптомы врожденных энзимопатий обнаруживаются в раннем детском возрасте.

Многочисленные патологические состояния, обусловленные дефицитом одного или нескольких ферментов, характеризуется большим разнообразием течения.

Классификация **наследственных энзимопатий** до конца не разработана, обычно их разделяют по **типу нарушений метаболизма**:

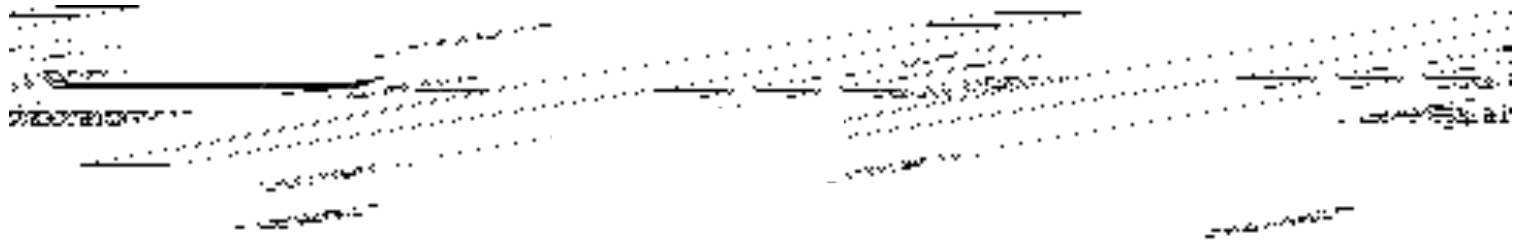
1. нарушения метаболизма аминокислот: фенилкетонурия, альбинизм, алкаптонурия и др.;
2. нарушения углеводного обмена: галактоземия, наследственная непереносимость фруктозы, гликогенозы;
3. нарушения липидного обмена: липидозы;
4. нарушения метаболизма нуклеиновых оснований: подагры, синдром Лёша-Нихана и др.;
5. нарушение обмена в соединительной ткани: мукополисахаридозы и др.;
6. дефекты ферментов в ЖКТ: муковисцидоз, непереносимость лактозы и др.
7. нарушения обмена стероидов и т.д.

Все это относится к **генным заболеваниям**

Примеры:

Синдром Лёша — Найхана — наследственное заболевание, характеризующееся увеличением синтеза мочевой кислоты (у детей) вызванное дефектом фермента гипоксантин-гуанинфосфорибозилтрансферазы, который катализирует реутилизацию гуанина и гипоксантина — в результате образуется большее количество ксантина и, следовательно, мочевой кислоты.
Частота встречаемости 1:300 000.

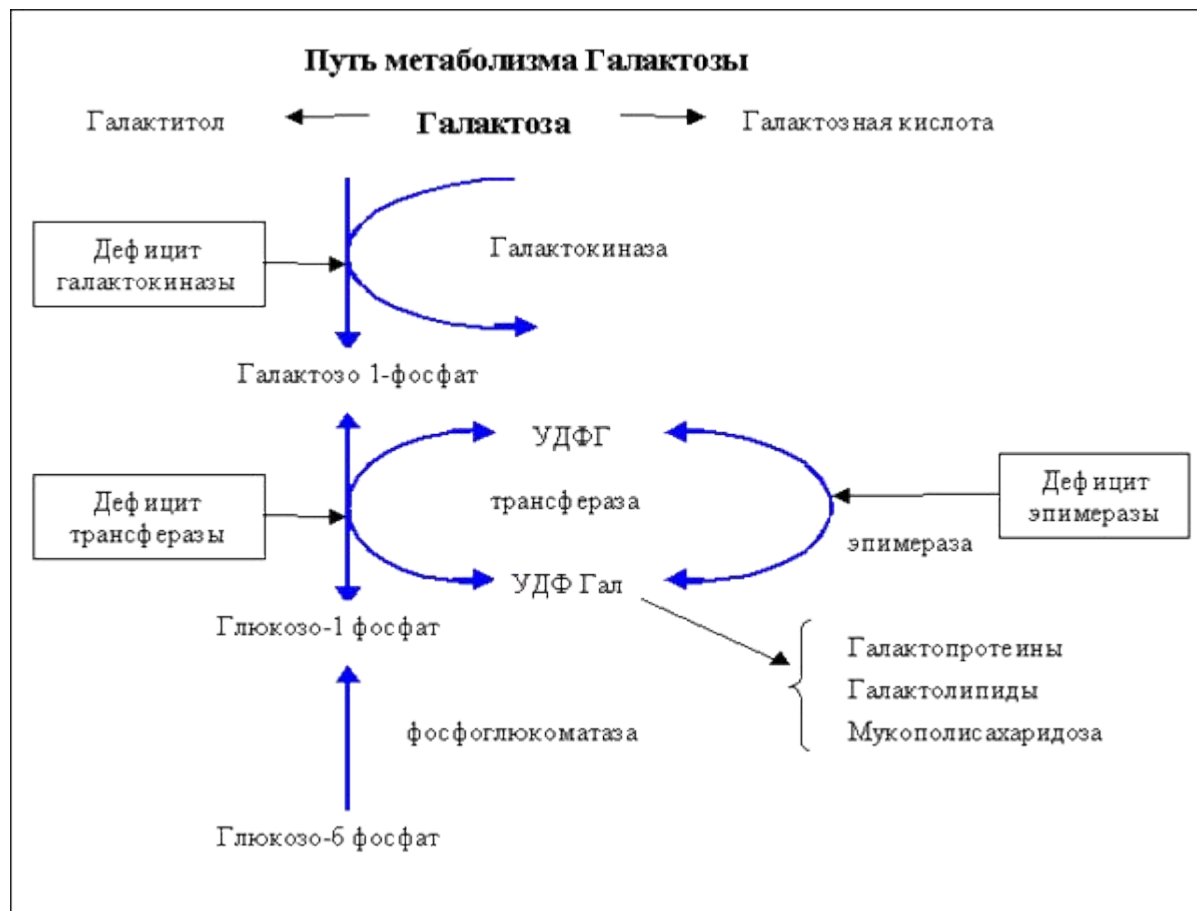
Фенилпировиноградная олигофрения – наследственное заболевание, приводящее в раннем детстве к гибели ребенка или к развитию тяжелой умственной отсталости. Молекулярный дефект заключается в блокировании превращения незаменимой аминокислоты фенилаланина в тирозин:



Фермент, катализирующий данную реакцию, не синтезируется в клетках печени, единственном органе, где он в норме открыт. Это приводит к развитию тяжелого наследственного заболевания, обусловленного избыточным накоплением самого Фен и продуктов его побочного пути обмена – фенилпировиноградной кислоты, а затем фенилмолочной и фенилуксусной кислоты в ткани мозга и сыворотке крови больных детей.

Диагноз ставят на основании химического метода открытия Фен или фенилпировиноградной кислоты на пленках детей. Лечение в основном сводится к исключению из питания ребенка Фен. Для такого ребенка Тир оказывается незаменимой аминокислотой

Галактеземия (непереносимость молочного сахара), связана с отсутствием синтеза в клетках печени фермента, катализирующего превращение галактозы в глюкозу. Мутация структурного гена, ответственного за синтез фермента галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы.



Следствием подобной аномалии является накопление галактозы в тканях и развития катаракты в раннем возрасте, поражение тканей печени и мозга, нередко приводящие к гибели ребенка.

Лечение в данном случае сводиться к исключению из диеты молочного сахара.

Приобретенные

Аллиментарные энзимопатии – это стойкие нарушения активности ферментов, связанные с характером питания:

1. отсутствием или снижением в пище количества белка;
2. дефицитом в пище витаминов, макро- и микроэлементов, некоторых низкомолекулярных биологически активных веществ;
3. нарушением соотношения в пище белков, жиров и углеводов.

Токсические энзимопатии обусловлены избирательным угнетением активности или синтеза отдельных ферментов или неспецифическим угнетением биосинтеза белка в результате длительного воздействия токсических агентов. Например, соли тяжелых металлов, пестициды.

Токсические агенты могут находиться не только в чужеродных соединениях, но и в пищевых продуктах.

Например:

1) ингибиторы, содержащиеся в соевых продуктах, яйцах домашней птицы угнетают активность протеаз ЖКТ - трипсина, химотрипсина, эластазы.

2) антивитамины.

Например: антивитамином витамина В1 (тиамина) является пиритиамин, вызывающий явления полиневрита)

3) цианиды или оксиды углерода (II) угнетают активность ферментов, содержащих в активном центре Fe^{2+} .

4) длительное действие фторидов угнетает активность ферментов, содержащих в активном центре Mg^{2+} .

Энзимодиагностика

Энзимодиагностика заключается в постановке диагноза заболевания (или синдрома) на основе определения активности ферментов в биологических жидкостях человека. Принципы энзимодиагностики основаны на следующих позициях:

- 1) при повреждении клеток в крови или других биологических жидкостях (например, в моче) увеличивается концентрация внутриклеточных ферментов повреждённых клеток;
- 2) количество высвобождаемого фермента достаточно для его обнаружения;
- 3) активность ферментов в биологических жидкостях, обнаруживаемых при повреждении клеток, стабильна в течение достаточно длительного времени и отличается от нормальных значений;
- 4) ряд ферментов имеет преимущественную или абсолютную локализацию в определённых органах (органоспецифичность); существуют различия во внутриклеточной локализации ряда ферментов.

1. Причины, приводящие к увеличению количества ферментов в крови

Ферменты плазмы крови можно разделить на 2 группы.

Первая, относительно небольшая группа ферментов активно секретируется в плазму крови определёнными органами. Например, печень синтезирует неактивные предшественники ферментов свёртывающей системы крови.

Ко второй относят большую группу ферментов, которые выполняют свою функцию внутри клетки и не имеют физиологического значения в плазме крови.

У здорового человека активность этих ферментов в плазме низкая и достаточно постоянная, так как постоянно соотношение скоростей высвобождения их из клеток и скоростей разрушения.

При многих заболеваниях происходит повреждение клеток, и их содержимое, в том числе и ферменты, высвобождаются в кровь.

К причинам, вызывающим высвобождение внутриклеточного содержимого в кровь, относят нарушение проницаемости мембраны клеток (при воспалительных процессах) или нарушение целостности клеток (при некрозе).

Определение в крови активности ряда ферментов хорошо налажено в биохимических лабораториях, что используют для диагностики заболеваний сердца, печени, скелетной мускулатуры и других тканей.

Уровень активности ферментов в плазме коррелирует со степенью повреждения клеток.

Для энзимодиагностики имеют большое значение знания о субклеточной локализации ферментов.

Например,
появление в плазме крови ферментов, имеющих только цитозольную локализацию, свидетельствует о воспалительном процессе;

при обнаружении митохондриальных или ядерных ферментов можно говорить о более глубоких повреждениях клетки, например о некрозе.

Однако повышение концентрации ферментов не всегда связано с повреждением тканей.

При избыточной клеточной пролиферации, например при онкопролиферативных процессах, при повышенной скорости синтеза некоторых ферментов в клетках или при нарушенном клиренсе наблюдают повышение концентрации в крови определённых ферментов.

Следует учитывать, что нормальные значения активности ферментов в крови детей и беременных женщин отличаются от показателей, характерных для взрослых здоровых людей.

2. Изоферменты

Ферменты, катализирующие одну и ту же химическую реакцию, но отличающиеся по первичной структуре белка, называют изоферментами, или изоэнзимами. Они катализируют один и тот же тип реакции с принципиально одинаковым механизмом, но отличаются друг от друга кинетическими параметрами, условиями активации, особенностями связи апофермента и кофермента.

Природа появления изоферментов разнообразна, но чаще всего обусловлена различиями в структуре генов, кодирующих эти изоферменты. Следовательно, изоферменты различаются по первичной структуре белковой молекулы и, соответственно, по физико-химическим свойствам. На различиях в физико-химических свойствах основаны методы определения изоферментов.

По своей структуре изоферменты в основном являются олигомерными белками.

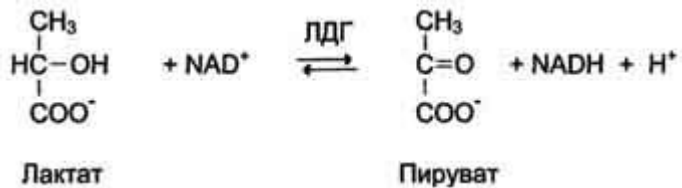
Причём та или иная ткань преимущественно синтезирует определённые виды протомеров.

В результате определённой комбинации этих протомеров формируются ферменты с различной структурой - изомерные формы.

Обнаружение определённых изоферментных форм ферментов позволяет использовать их для диагностики заболеваний.

Изоформы лактатдегидрогеназы.

Фермент лактатдегидрогеназа (ЛДГ) катализирует обратимую реакцию окисления лактата (молочной кислоты) до пирувата (пировиноградной кислоты)

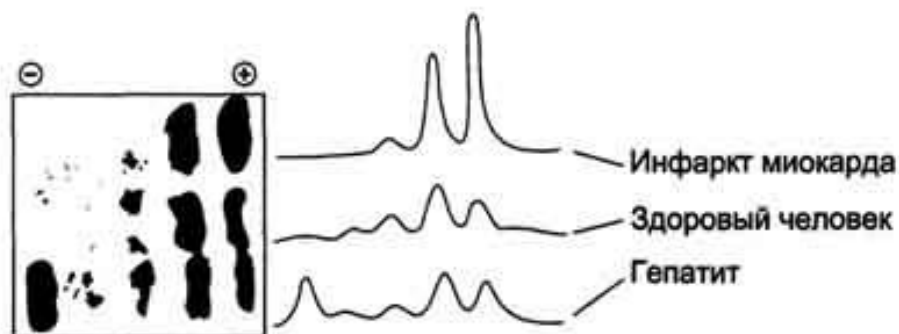
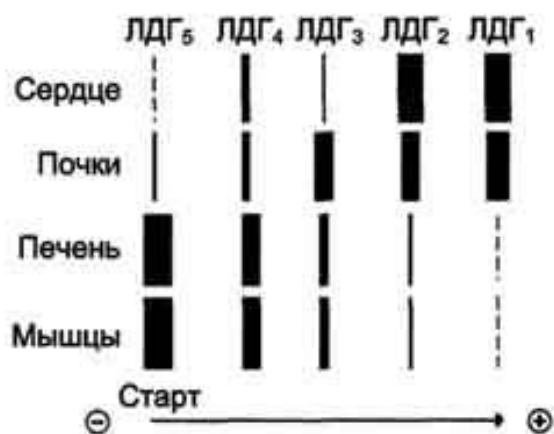
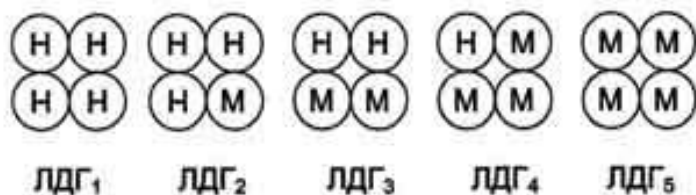


Лактатдегидрогеназа - олигомерный белок с молекулярной массой 134 кД, состоящий из 4 субъединиц 2 типов: М (от англ, muscle - мышца) и Н (от англ, heart - сердце).

Комбинация этих субъединиц лежит в основе формирования 5 изоформ лактатдегидрогеназы.

ЛДГ1 и ЛДГ2 наиболее активны в сердечной мышце и почках, ЛДГ4 и ЛДГ5 - в скелетных мышцах и печени.

В остальных тканях имеются различные формы этого фермента.



Изоформы
лактатдегидрогеназы.
А - строение различных
изоформ ЛДГ;
Б - распределение на
электрофореграмме и
относительные
количества изоформ ЛДГ
в различных органах;
В - содержание изоформ
ЛДГ в плазме крови в
норме и при патологии

Появление в эволюции различных изоформ ЛДГ обусловлено особенностями окислительного метаболизма тканей.

Изоферменты ЛДГ4 и ЛДГ5 (М-типы ЛДГ) работают эффективно в анаэробных условиях, ЛДГ1 и ЛДГ2 (Н-типы) - в аэробных, когда пируват быстро окисляется до CO_2 и H_2O , а не восстанавливается до молочной кислоты.

При ряде заболеваний исследуют активность ЛДГ в плазме крови.

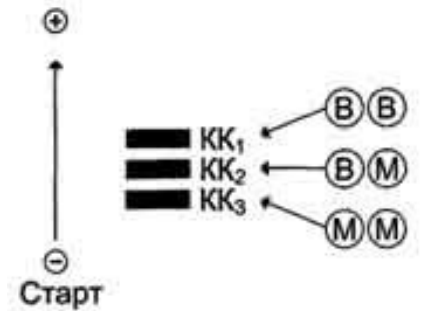
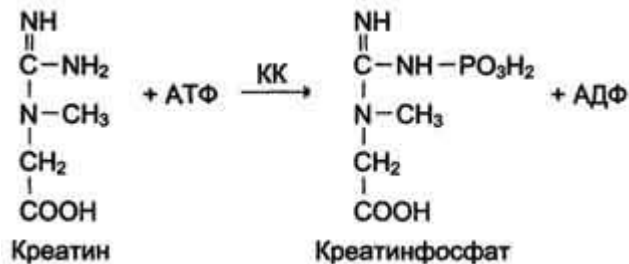
В норме активность ЛДГ составляет 170-520 ЕД/л.

Повышение активности наблюдают при острых поражениях сердца, печени, почек, а также при мегалобластных и гемолитических анемиях.

Однако это указывает на повреждение лишь одной из перечисленных тканей.

Изоформы креатинкиназы.

Креатинкиназа (КК) катализирует реакцию образования креатинфосфата:



Молекула КК - димер, состоящий из субъединиц двух типов: М (от англ, muscle - мышца) и В (от англ, brain - мозг). Из этих субъединиц образуются 3 изофермента - ВВ, МВ, ММ.

Изофермент ВВ находится преимущественно в головном мозге, ММ - в скелетных мышцах и МВ - в сердечной мышце. Изоформы КК имеют разную электрофоретическую подвижность.

Активность КК в норме не должна превышать 90 МЕ/л. Определение активности КК в плазме крови имеет диагностическое значение при инфаркте миокарда (происходит повышение уровня МВ-изоформы – КК2).

Количество изоформы ММ (КК3) может повышаться при травмах и повреждениях скелетных мышц.

Изоформа ВВ (КК1) не может проникнуть через гематоэнцефалический барьер, поэтому в крови практически не определяется даже при инсультах и диагностического значения не имеет.

Аспартатаминотрансфераза (АСТ) катализирует реакцию переаминирования (трансаминирования) между аспартатом и α -кетоглутаратом:

α -Кетоглутарат + L-аспартат $\leftrightarrow$ L-глутамат + оксалоацетат.

У млекопитающих наиболее высокая активность и концентрация АСТ отмечена в печени, нервной ткани, скелетной мускулатуре и миокарде.

Незначительная активность АСТ определена и в крови здоровых людей.

В большинстве тканей существует как минимум два изофермента АСТ: митохондриальный изофермент (мАСТ) и растворимый в цитозоле изофермент АСТ (цАСТ).

цАСТ состоит из двух идентичных субъединиц; димер 93 кДа.

мАСТ - димер с молекулярной массой 91 кДа.

Изоферменты АСТ имеют некоторое различие кинетических характеристик: оптимум действия мАСТ более низкий, чем цАСТ.

3. Энзимодиагностика при инфаркте миокарда

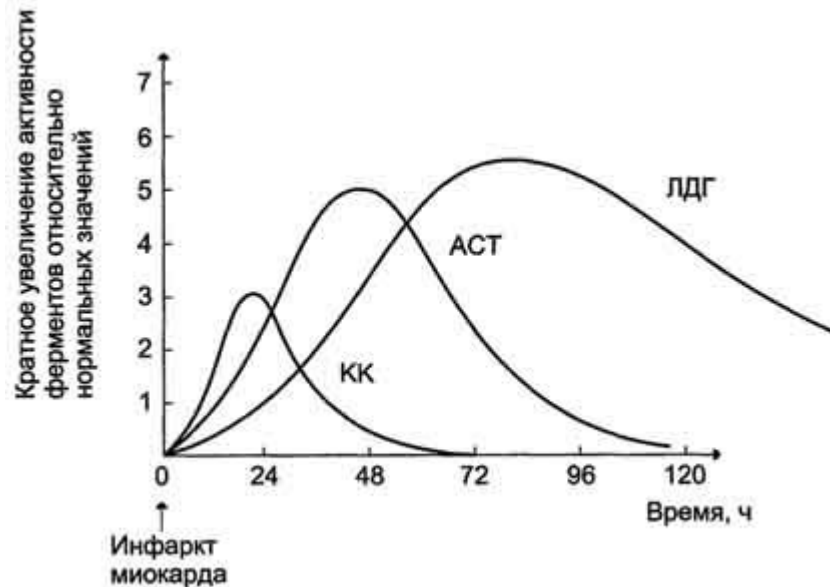
Примерно 30% больных инфарктом миокарда имеют атипичную клиническую картину этого заболевания = >. дополнительные методы исследования для подтверждения повреждения сердечной мышцы.

При инфаркте миокарда наблюдают достоверные изменения в крови активности ферментов КК, ЛДГ и аспартатаминотрансферазы - АСТ, которые зависят от времени, прошедшего от начала развития инфаркта и от зоны тканевого повреждения.

После закупорки (окклюзии) коронарного сосуда в крови вначале отмечают повышение активности КК изоформы MB, однако фермент быстро удаляется из кровотока.

Обнаружение повышенной активности КК в плазме крови - основной энзимодиагностический критерий инфаркта миокарда.

Если у пациента с загрудинными болями не обнаружено изменения в активности КК, диагноз инфаркта миокарда маловероятен.



Активность АСТ в норме составляет 5-40 МЕ/л. При инфаркте миокарда активность АСТ повышается через 4-6 ч, максимум - 2-3 дн.

Уровень ЛДГ также увеличивается в плазме крови через несколько часов после закупорки кровеносного сосуда; максимум активности наблюдают на 3-4-й день, затем наступает постепенная нормализация активности. Уровень повышения активности ЛДГ коррелирует с размерами повреждения сердечной мышцы.

Аланинаминотрансфераза (АЛТ)

Аланинаминотрансфераза (АЛТ) катализирует реакцию переаминирования между L-аланином и α -кетоглутаратом:

L-аланин + α -кетоглутарат $\leftrightarrow$ пируват + L-глутамат.

АЛТ присутствует во многих органах: печени, почках, скелетных мышцах, миокарде, поджелудочной железе. Невысокая активность АЛТ отмечена и в сыворотке крови здоровых людей.

Как и АСТ, АЛТ присутствует в клетках в форме двух изоферментов - цитозольного и митохондриального, но последний нестабилен, содержание его в клетке низкое.

Клиническое значение определения концентрации аминотрансфераз.

Повышение активности аминотрансфераз отмечено при ряде патологических процессов, в которые вовлечена печень.

Активность АСТ и АЛТ повышена при остром панкреатите, холецистите, паразитарных заболеваниях, псориазе, ожогах, применении пропионлактона как противовирусного средства, перегрузке организма железом.

Увеличение активности аминотрансфераз можно отметить и у здоровых людей при диете, богатой белком или содержащей 25—30% сахарозы, а также у доноров.

Активность АСТ в крови возрастает при туберкулезе легких, септицемии, герпетической инфекции, вирусном гепатите, опухолях.

Активность АСТ снижается при малярии и беременности, не меняется при эмболии легочной артерии, пневмониях, абсцессах легкого, ревматоидном артрите.

Увеличение активности АЛТ отмечено у пациентов при терапии некоторыми лекарственными средствами, особенно антибиотиками.

Исследование отношения мАСТ/общая активность АСТ также было предложено в качестве диагностического теста. Отношение мАСТ/общая активность АСТ снижено при общем гепатите и не изменено при алкогольном поражении печени, метастазах в печени.

Появление в сыворотке крови высокой активности мАСТ свидетельствует о некротических процессах в гепатоцитах. Предложено использовать повышение активности АСТ в сыворотке крови как прогностический тест при остром лейкозе.

α -Амилаза -фермент, гидролизующий внутренние 1,4 α - гликозидные связи крахмала, гликогена и других полимеров глюкозы.

Клиническое значение определения активности амилазы в сыворотке крови.

Определение активности α -амилазы в сыворотке крови - наиболее распространенный тест диагностики острого панкреатита.

При остром панкреатите активность фермента в сыворотке крови возрастает через 3-12 ч после болевого приступа, достигает максимума через 20—30 ч и возвращается к норме при благоприятном течении в пределах четырех дней. Активность α -амилазы в моче возрастает через 6-10 ч после подъема активности в сыворотке и возвращается к норме чаще всего через три дня после подъема.

Активность α -амилазы в сыворотке крови часто увеличена при почечной недостаточности, однако не совсем ясно, что является причиной такого увеличения - возрастание образования фермента или снижение его элиминации.

В таких случаях дополнительную информацию может дать определение скорости экскреции α -амилазы или расчет клиренса фермента.

γ -Глутамилтранспептидаза

ГГТ катализирует перенос γ -глутамила на аминокислоту или пептид, на другую молекулу субстрата или воду.

Биологическая роль фермента связана также с регуляцией уровня глутатиона в тканях.

Именно этим можно объяснить высокий уровень глутатиона в плазме крови и моче пациентов с генетически детерминированным отсутствием синтеза ГГТ.

Регулируя уровень глутатиона, ГГТ может влиять на синтез белка, что объясняет повышенную удельную активность фермента в тканях с высокой скоростью метаболизма. Это же может быть причиной повышенного уровня фермента в тканях и крови новорожденных.

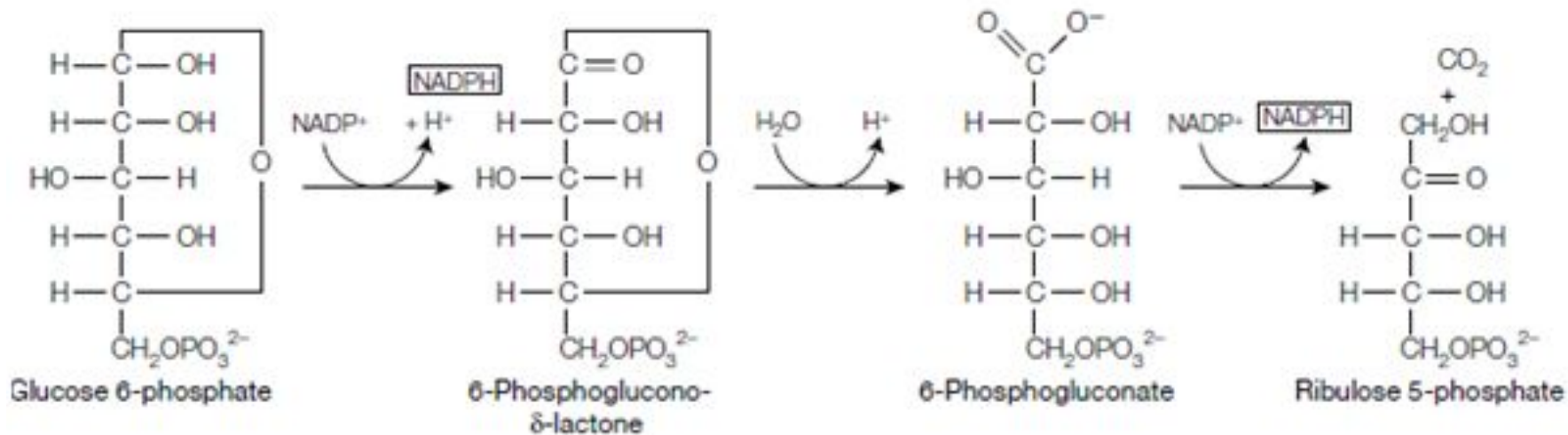
Клиническое значение определения концентрации ГГТ в сыворотке крови

Наиболее частая причина повышения активности ГГТ в сыворотке крови — **патология печени.**

Слабое токсическое воздействие на печень, вызывающее жировую инфильтрацию, прием алкоголя и лекарственных препаратов сопровождаются умеренным увеличением активности ГГТ.

Более выраженное повышение активности фермента связано с внепеченочной и внутрипеченочной обструкцией, вторичным вовлечением печени в онкологические процессы организма путем метастазирования.

Самая высокая активность ГГТ в сыворотке крови отмечена при закупорке желчного протока или злокачественных опухолях, прямо или опосредованно поражающих печень.



Энзимотерапия

Использование ферментов в качестве терапевтических средств имеет много ограничений вследствие их высокой иммуногенности. Тем не менее энзимотерапию активно развивают в следующих направлениях:

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

Заместительная энзимотерапия эффективна при желудочно-кишечных заболеваниях, связанных с недостаточностью секреции пищеварительных соков.

Например, пепсин используют при ахилии, гипо- и анацидных гастритах.

Дефицит панкреатических ферментов также в значительной степени может быть компенсирован приёмом внутрь препаратов, содержащих основные ферменты поджелудочной железы (фестал, энзистал, мезим-форте и др.).

В качестве дополнительных терапевтических средств ферменты используют при ряде заболеваний.

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 рибонуклеазу и дезоксирибонуклеазу используют в качестве противовирусных препаратов при лечении аденовирусных конъюнктивитов, герпетических кератитов.

Ферментные препараты стали широко применять при тромбозах и тромбоземболиях.

С этой целью используют препараты фибринолизина, стрептолиазы, стрептодеказы, урокиназы.

Фермент гиалуронидазу (лидазу), катализирующий расщепление гиалуроновой кислоты, используют подкожно и внутримышечно для рассасывания контрактур рубцов после ожогов и операций (гиалуроновая кислота образует сшивки в соединительной ткани).

Ферментные препараты используют при онкологических заболеваниях.

Аспарагиназа, катализирующая реакцию катаболизма аспарагина, нашла применение для лечения лейкозов:



Предпосылкой антилейкемического действия аспарагиназы послужило обнаружение в лейкозных клетках дефектного фермента аспарагинсинтетазы, катализирующего реакцию синтеза аспарагина.

Лейкозные клетки не могут синтезировать аспарагин и получают его из плазмы крови. Если имеющийся в плазме аспарагин разрушать введением аспарагиназы, то в лейкозных клетках наступит дефицит аспарагина и в результате - нарушение метаболизма клетки.