



Ферменты

- Ферменты, или энзимы, представляют собой высокоспециализированный класс веществ белковой природы, используемый живыми организмами для осуществления с высокой скоростью многих тысяч взаимосвязанных химических реакций, включая синтез, распад и взаимопревращение огромного множества разнообразных химических соединений.
- Ферменты являются белковыми катализаторами биохимических реакций, большая часть которых в отсутствие ферментов протекала бы крайне медленно. В отличие от небелковых катализаторов (H^+ , OH^- , ионы металлов) каждый фермент способен катализировать лишь очень небольшое число реакций, часто только одну. Таким образом, ферменты представляют собой реакционно-специфические катализаторы. Практически все биохимические реакции катализируются ферментами.

КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ И НОМЕНКЛАТУРА

- Первоначально ферментам давали названия, образуемые путем добавления окончания -аза к названию субстрата, на который данный фермент действует. Так, ферменты, гидролизующие крахмал (амилон), были названы амилазами; ферменты, гидролизующие жиры (липос), — липазами; ферменты, гидролизующие белки (протеины), — протеиназами. Позднее ферментам, катализирующим сходные по типу реакции, стали давать название, указывающее тип соответствующей реакции — дегидрогеназы, ок-сидазы, декарбоксилазы, ацилазы и т.д. Многие из этих названий используются и теперь.

- Номенклатура, введенная Международным биохимическим союзом (IUB), на первый взгляд кажется сложной и громоздкой, но зато она является однозначной. Главный ее принцип состоит в том, что ферменты называют и классифицируют в соответствии с типом катализируемой химической реакции и ее механизмом; это существенно облегчает систематизацию данных, относящихся к различным аспектам метаболизма. Основные черты системы, введенной IUB, состоят в следующем.

- 1. Реакции и ферменты, которые их катализируют, подразделяются на шесть классов, в каждом из которых имеется несколько подклассов (от четырех до 13). 2. Название фермента состоит из двух частей: первая часть — название субстрата (или субстратов); вторая указывает тип катализируемой реакции и оканчивается на -аза. 3. Дополнительная информация, если она необходима для уточнения, заключается в скобки. Например, фермент, катализирующий реакцию $L\text{-малат} + \text{NAD}^+ = \text{Пируват} + \text{CO}_2 + \text{NADH} + \text{H}^+$ имеет номер 1.1.1.37 и называется L-малат: NADf оксидоредуктаза (декарбоксилирующая).

- 4. Каждый фермент имеет кодовый номер по классификации ферментов (КФ): первая цифра характеризует класс реакции, вторая — подкласс и третья — подподкласс. Четвертая цифра указывает порядковый номер фермента в его подподклассе. Таким образом, КФ 2.7.1.1 означает, что фермент относится к классу 2 (трансфераза), подклассу 7 (перенос фосфата) и подподклассу 1 (акцептором фосфата является спирт). Последняя цифра обозначает фермент гексокиназу, или АТР: D-гексозо-б-фос-фотрансферазу, т.е. фермент, катализирующий перенос фосфата с АТР на гидроксильную группу атома углерода в шестом положении глюкозы.

- 1. Оксидоредуктазы. Ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов, S и S':
- $S \text{ (восст)} + S' \text{ (окисл)} = S \text{ (окисл)} + S' \text{ (восст)}$
- Катализируют реакции, в которых участвуют такие группы, как CH OH , CH CH , C = O , CH NH_2 и CH NH
- $\text{Спирт} + \text{NAD}^+ = \text{Альдегид или кетон} + \text{NADH} + \text{H}^+$.

- 2. Трансферазы. Ферменты, катализирующие перенос группы G (отличной от атома водорода) с субстрата S на субстрат S':
- $S-G + S' = S'-G + S$
- Катализируют перенос одноуглеродных групп, альдегидных или кетонных остатков, а также ацильных, алкильных, гликозильных групп и групп, содержащих фосфор и серу. Некоторые подклассы: 2.3.
Ацилтрансферазы. Например: 2.3.1.6. Ацетил-СоА: холин О-ацетилтрансфераза [холин-ацетилтрансфераза] Ацетил-СоА + Холин = СоА + О-Ацетилхолин.

- 3. Гидролазы. Ферменты, катализирующие гидролиз эфирных, сложноэфирных, пептидных и гликозильных связей, кислотных ангидридов, связей C—C, C-галоида и P—N.
- 3.1.1.8. Ацилхолин—ацилгидролаза [псевдохолинэстераза] $\text{Ацилхолин} + \text{H}_2\text{O} = \text{Холин} + \text{Кислота}$.

- 4. Лиазы ферменты, отщепляющие группы от субстратов по негидролитическому механизму, с образованием двойных связей. Ферменты, действующие на связи C—C, C—O, C—N, C—S и C—галогид. Некоторые подгруппы: 4.1.2. Альдегид-лиазы. Например: 4.1.2.7. Кетозо-1-фосфат-альдолаза [альдолаза] Кетозо-1-фосфат = Дигидроксиацетонфосфат + Альдегид

- 5. Изомеразы. В этот класс включены все ферменты, катализирующие взаимопревращения оптических, геометрических и позиционных изомеров. Некоторые подклассы: 5.2. Цистранс-изомеры.
- 6. Лигазы. (от лат. лигаре—связывать). Ферменты, катализирующие соединение двух молекул, сопряженное с разрывом пиррофосфатной связи АТР или подобного соединения. В этот класс включены ферменты, катализирующие реакции, в ходе которых образуются связи
- $ATP + L\text{-Глутамат} + NH_4 = ADP + \text{Ортофосфат} + L\text{-Глутамин}.$

- В природе существуют как простые, так и сложные ферменты. Первые целиком представлены полипептидными цепями и при гидролизе распадаются исключительно на аминокислоты. Такими ферментами (простые белки) являются гидролитические ферменты, в частности пепсин, трипсин, папаин, уреаза, лизоцим, рибонуклеаза, фосфатаза и др. Большинство природных ферментов относится к классу сложных белков, содержащих, помимо полипептидных цепей, какой-либо небелковый компонент (кофактор), присутствие которого является абсолютно необходимым для каталитической активности. Кофакторы могут иметь различную химическую природу и различаться



- Многие ферменты оказывают каталитическое действие на субстраты только в присутствии специфического термостабильного низкомолекулярного органического соединения — кофермента. В таких случаях холофермент (каталитически активный комплекс) состоит из апофермента (белковая часть) и связанного с ним кофермента. Кофермент может быть связан с апоферментом ковалентными или не-ковалентными связями.



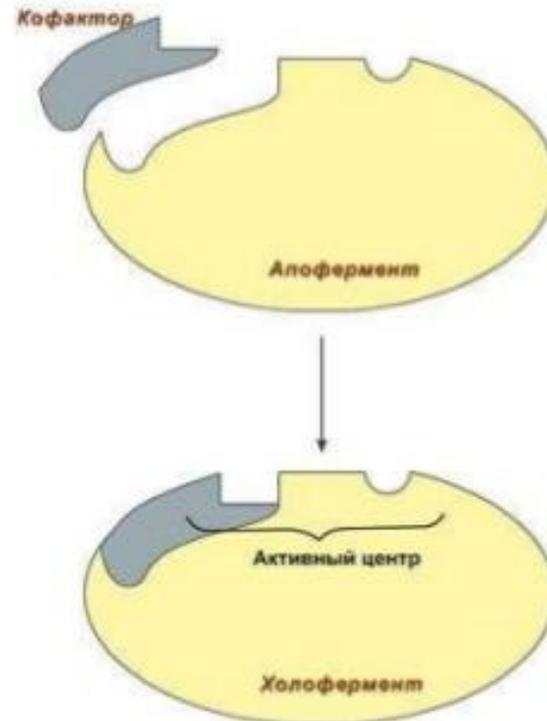
1. Коферменты, участвующие в переносе любых групп, кроме атомов водорода:
 - Сахарофосфаты
 - CoASH
 - Тиаминпирофосфат
 - Пиридоксальфосфат
 - Фолиатные коферменты
 - Биотин
 - Кобамидные (B₁₂) коферменты
 - Липоевая кислота
2. Коферменты, участвующие в переносе атомов водорода:
 - NAD\ NADP+ FMN,
 - FAD
 - Липоевая кислота
 - Кофермент Q

Кофермент или коэнзим (КоЕ)

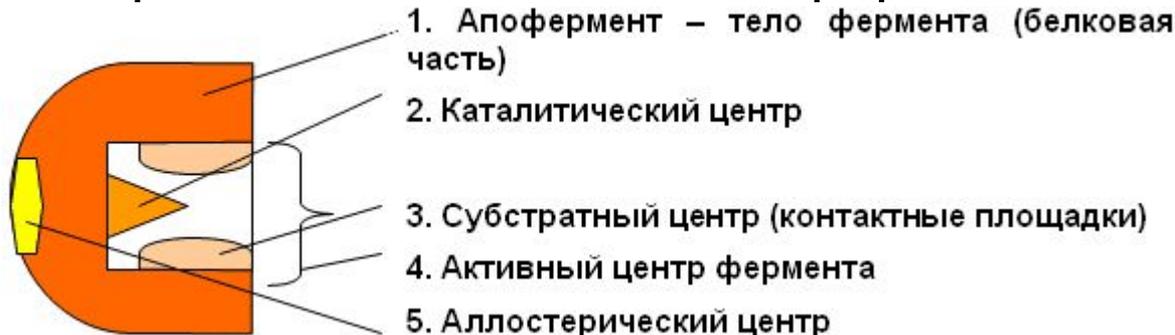
это небелковый компонент сложного фермента, который проявляют высокую химическую активность и входит в состав **активного центра**

Функции коферментов (КоЕ):

1. Посредники между S и E
2. Непосредственно участвуют в акте катализа
3. Стабилизируют апофермент



- Под активным центром подразумевают уникальную комбинацию аминокислотных остатков в молекуле фермента, обеспечивающую непосредственное связывание ее с молекулой субстрата и прямое участие в акте катализа. Установлено, что у сложных ферментов в состав активного центра входят также простетические группы. В активном центре условно различают так называемый каталитический центр, непосредственно вступающий в химическое взаимодействие с субстратом, и связывающий центр, или контактную («якорную») площадку, которая обеспечивает специфическое сродство к субстрату и формирование его комплекса с ферментом. В свою очередь молекула субстрата также содержит функционально различные участки: например, субстраты эстераз или протеиназ – одну специфическую связь (или группу атомов), подвергающуюся атаке со стороны фермента, и один или несколько участков, избирательно связываемых ферментом.



- Изоферменты, или изоэнзимы, – это множественные формы фермента, катализирующие одну и ту же реакцию, но отличающиеся друг от друга по физическим и химическим свойствам, в частности по сродству к субстрату, максимальной скорости катализируемой реакции (активности), электрофоретической подвижности или регуляторным свойствам.
- Подобные разновидности фермента получили название изоферментов (изоэнзимов или, реже, изозимов). В частности, если фермент состоит из 4 субъединиц двух разных типов – Н и М (сердечный и мышечный), то активный фермент может представлять собой одну из следующих комбинаций: НННН, НННМ, ННММ, НМММ, ММММ, или Н₄, Н₃М, Н₂М₂, НМ₃, М₄, соответствующую изоферментам ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₄ и ЛДГ₅. При этом синтез Н- и М-типов осуществляется различными генами и в разных органах экспрессируется по-разному.

- Ферментативная активность зависит в основном от следующих факторов: концентрация фермента и субстрата, температура, pH, присутствие ингибиторов.
- **ТЕМПЕРАТУРА** В некотором ограниченном интервале температура- температур скорость ферментативной реакции повышается с ростом температуры. Коэффициент, указывающий, во сколько раз повышается скорость реакции при повышении температуры на 10° , называется температурным коэффициентом и обозначается Q_{10} . Для многих биологических реакций при повышении температуры на 10° скорость удваивается ($Q_{10} = 2$) и, аналогично, при понижении температуры на 10° уменьшается вдвое.

- рН
- Умеренные изменения рН оказывают влияние на ионное состояние фермента, а зачастую и субстрата. Как показывают измерения ферментативной активности при различных рН, оптимум активности находится обычно между рН 5,0 и 9,0. Вместе с тем отдельные ферменты, например пепсин, активны при значениях рН, лежащих далеко за пределами этого интервала.

Энзимодиагностика

Энзимодиагностика – это исследование активности ферментов плазмы крови, мочи, слюны с целью диагностики тех или иных заболеваний.

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).

Удаление ферментов

Ферментный анализ обычно основан на измерении

каталитической *активности* фермента, а не *концентрации* самого ферментного белка.

Поскольку

каждая молекула фермента может катализировать

реакцию многих молекул субстрата, измерение

активности обладает очень высокой

Ферменты, имеющие диагностическое значение

Щелочная фосфатаза (ЩФ)

ЩФ присутствует в высоких концентрациях в **печени, костях (остеобласты), плаценте и кишечном эпителии.**

Патологическое повышение активности ЩФ наблюдается чаще всего при холестатической болезни печени и при некоторых заболеваниях костей.

Физиологическое увеличение активности наблюдается при беременности (за счет плацентарной изоформы фермента), в детском возрасте, когда происходит рост костей (за счет костного изофермента).

Концентрация фермента в плазме высока при рождении, но затем быстро падает. Тем не менее она остается в 2-3 раза выше нормального уровня у взрослых. Концентрация поднимается снова во время подросткового ускорения роста перед снижением до взрослого уровня по мере прекращения роста костей

Активность ЩФ плазмы практически здоровых пожилых людей слегка выше нормы. Это может объясняться высокой частотой развития легкой субклинической формы болезни Педжета у пожилых.

Концентрации ЩФ, превышающие верхний предел нормы в 10 раз, могут наблюдаться при тяжелой болезни Педжета, рахите и остеомаляции и, иногда, при холестатической болезни печени. Однако для этих состояний более характерен меньший подъем активности.

Активность ЩФ не возрастает при неосложненной остеопорозе, если только это состояние не осложняется коллапсом или переломом кости.

Концентрация ЩФ в плазме обычно повышается при злокачественном заболевании, которое может иметь костное или печеночное происхождение и быть связано с присутствием как первичных, так и вторичных опухолей в этих тканях.

Физиологические

Беременность (последний триместр)

Детский возраст

Патологические

Часто превышение более чем в 5 раз верхней границы нормы:

Болезнь Педжета

Остеомаляция и рахит

Холестаза (внутри- и внепеченочный)

Цирроз

Обычно превышение менее чем в 5 раз верхней границы нормы:

Опухоли кости (первичные и вторичные)

Почечная остеодистрофия

Первичный гиперпаратиреоз с вовлечением кости

Заживающие переломы

Остеомиелит

Объемные поражения печени (опухоль, абсцесс)

Инфильтративное заболевание печени

Гепатит

Воспалительное заболевание желудка

Кислая фосфатаза

Этот фермент присутствует в высоких концентрациях в предстательной железе, и его повышенная концентрация в плазме наблюдается у некоторых пациентов с раком предстательной железы.

Его значение в диагностике данного заболевания невелико, так как активность фермента в плазме возрастает только примерно у 20 % больных, у которых опухоль ограничивается собственно железой. Однако при наличии метастазов активность фермента увеличивается у 80 % больных. Активность кислой фосфатазы повышена также при некоторых случаях простатита и при доброкачественной гипертрофии предстательной железы.

Трансаминазы

Два вида трансаминаз (точнее, аминотрансфераз) находят

применение в диагностической энзимологии. Это аспартаттрансаминаза (АсАТ) и аланинтрансаминаза (АлАТ).

Оба фермента широко распространены в различных тканях.

Очень высокая активность **АлАТ**, иногда превышающая верхнюю границу нормы в 100 раз, наблюдается при тяжелых поражениях тканей, таких как острый гепатит, синдром сдавления и тканевая гипоксия.

При гепатитах максимальный уровень превышает верхний предел нормы в 10-20 раз. Этот пик может приходиться на продромальную стадию перед тем, как у пациента развивается желтуха, или на момент ее появления.

При инфаркте миокарда активность **АсАТ** плазмы начинает повышаться примерно через 12 ч после инфаркта, достигая пика с 10-кратным превышением верхней границы нормы через 24-36 ч и затем падая в течение двух-трех дней, что свидетельствует об отсутствии дальнейшего повреждения сердечной **МЫШЦЫ.**

Причины повышения активности трансаминаз плазмы

Превышение верхней границы нормы более, чем в 10 раз:

- Острый гепатит и некроз печени;
- Синдром длительного сдавливания;
- Тяжелая гипоксия тканей.

Превышение верхней границы нормы в 5 – 10 раз:

- Инфаркт миокарда;
- После хирургического вмешательства или травмы;
- Заболевание скелетных мышц;
- Холестаз;
- Хронический гепатит.

Превышение верхней границы нормы менее, чем в 5 раз:

- Физиологическое (у новорожденных);
- Другие болезни печени;
- Панкреатит;
- Гемолиз (in vivo или in vitro)

При большинстве заболеваний, связанных с повышением концентрации АсАТ, наблюдается одновременный, хотя и менее высокий, подъем концентрации АлАТ.

Однако при гепатите активность АлАТ в плазме может превышать активность АсАТ. Основное применение измерение активности данного фермента находит при лечении заболеваний печени, когда повышение активности свидетельствует о повреждении гепатоцитов.

Только изредка встречаются концентрации, более чем в 20 раз превышающие верхний предел нормы, и наиболее вероятно обнаружить такое повышение в продромальной фазе вирусного гепатита.

Концентрации, превышающие норму в 2 раза, иногда наблюдаются у пациентов без клинических симптомов повреждения тканей. Как причину повышения активности АсАТ в таких случаях следует подозревать **злоупотребление алкоголем.**

Повышение активности АсАТ в плазме является чувствительным индикатором отторжения трансплантата при пересадке печени.

Г-Глутамилтрансфераза (ГГТ)

Данный фермент присутствует в высоких концентрациях в печени, почках и поджелудочной железе.

Его активность в плазме является чувствительным индикатором заболеваний гепатобилиарной системы. При обструкции желчных путей увеличение активности ГГТ в плазме может предшествовать подъему активности щелочной фосфатазы.

Г-Глутамилтрансфераза (ГГТ)

Активность ГГТ в плазме возрастает при отсутствии заболеваний печени у пациентов, принимающих антиконвульсанты, фенитоин и фенобарбитон. Сходное действие может оказывать рифампицин при лечении туберкулеза, что является примером индукции фермента.

Повышение активности ГГТ в плазме происходит не вследствие повреждения клеток, а в результате усиления внутриклеточного синтеза фермента и освобождения его повышенного количества в циркуляцию в процессе нормального метаболизма клеток.

Активность ГГТ в плазме, как правило, очень высока у пациентов с алкогольным поражением печени, но эта активность может увеличиваться у сильно пьющих (что приводит к индукции фермента) и при отсутствии других явных признаков поражения печени.

Активность ГГТ может оставаться повышенной в плазме в течение 3—4 недели воздержания от алкоголя даже при отсутствии поражения печени.

Превышение верхнего предела нормы более чем в 10 раз:

Холестаз

Алкогольное поражение печени

Превышение верхнего предела нормы в 5–10 раз:

Гепатит (острый и хронический)

Цирроз (без холестаза)

Другие заболевания печени

Панкреатит

Превышение верхнего предела нормы менее чем в 5 раз:

Злоупотребление алкоголем

Лекарства, вызывающие индукцию фермента

Застойная сердечная недостаточность

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

Этот фермент существует в тканях организма в форме тетрамера: два мономера, Н и М, могут соединяться в различных соотношениях, образуя пять известных изоферментов ЛДГ. Активный фермент может представлять собой одну из следующих комбинаций:

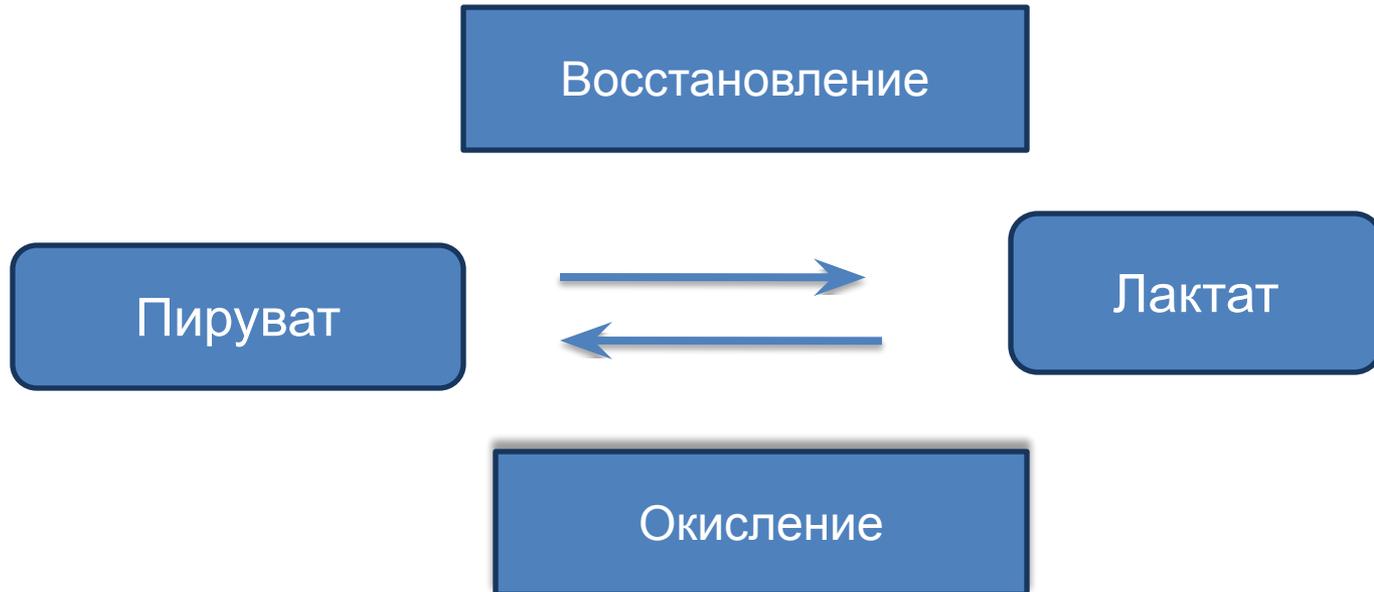
НННН, НННМ, ННММ, НМММ, ММММ или

H_4 , H_3M , H_2M_2 , H_1M_3 , M_4 или
ЛДГ₁, ЛДГ₂, ЛДГ₃, ЛДГ₄, ЛДГ₅.

Изоферменты различаются по нескольким свойствам, включая термостабильность, чувствительность к различным ингибиторам и электрофоретическую подвижность.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

ЛДГ катализирует обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную



Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

В тканях с аэробным метаболизмом (сердце, почки и др.) преобладают изоферменты ЛДГ₁, ЛДГ₂. Эти изоферменты ингибируются даже небольшими концентрациями пирувата, что препятствует образованию молочной кислоты. Пируват подвергается более полному окислению в ЦТК.

В скелетных мышцах главными изоферментами являются ЛДГ₄, ЛДГ₅, что обуславливает интенсивный анаэробный гликолиз с быстрым превращением пирувата в лактат.

Лактатдегидрогеназа (ЛДГ)

Повышение ЛДГ активности наблюдается при широком спектре патологических состояний:

- острое поражение печени, скелетных мышц и почек;
- при мегалобластных и гемолитических анемиях.
- У пациентов с лимфомой высокая активность ЛДГ в плазме является указанием на плохой прогноз. Существует корреляция между активностью фермента и объемом опухоли, и последовательные измерения могут быть полезны для контроля эффективности лечения.

Определение активности изоферментов ЛДГ может быть результативным при подозрении на инфаркт миокарда и в диагностике гемолитического криза при серповидно-клеточной анемии. Как в сердечной мышце, так и в эритроцитах ЛДГ представлена главным образом изоферментом ЛДГ₁ (H₄).

ЛДГ₁ имеет длительное время полусуществования в плазме; после инфаркта миокарда ее активность медленно повышается, достигая пика через 2-3 дня, а затем снижается в течение недели или дольше.

Поскольку данный изофермент присутствует в эритроцитах, его активность повышается после легочной эмболии, которая может напоминать по клиническим признакам инфаркт миокарда.

Наличие гемолиза сводит на нет диагностическую ценность измерения активности ЛДГ₁.

Креатинкиназа

Активная молекула КК представляет собой димер; два мономера, М и В, образуют три изофермента — ВВ, ММ и МВ. Изофермент ВВ локализован в головном мозге. В норме его активность в плазме очень низка, и даже при серьезном повреждении мозга (инсульте) она почти не повышается.

Большая часть обычно присутствующей в плазме креатинкиназы представлена изоферментом скелетных мышц ММ. Повышение его концентрации в плазме отмечается при повреждении скелетных мышц или при тяжелой и длительной физической нагрузке.

Креатинкиназа сердечной мышцы содержит значительно больше изофермента MB (примерно 30 %), чем скелетные мышцы (менее 1 %).

Повышенная концентрация КК в плазме характерна для ИМ и, при отсутствии повреждений скелетных мышц, нет необходимости в отдельном определении изофермента MB.

Однако, если у больных с подозрением на инфаркт миокарда, который последовал за физической нагрузкой, травмой или внутримышечной инъекцией (все воздействия могут повышать активность КК), активность изофермента MB составляет более 5 % от общей активности КК, поражение миокарда можно считать доказанным.

Превышение верхнего предела нормы более чем в 10 раз:

Инфаркт миокарда

Острый некроз скелетных мышц

Злокачественная гиперпирексия

Превышение верхнего предела нормы в 5–10 раз:

Последствия хирургического вмешательства

Травма скелетных мышц

Тяжелая физическая нагрузка

Эпилепсия

Миозит

Мышечная дистрофия

Превышение верхнего предела нормы менее чем в 5 раз:

Физиологическое (у новорожденных)

Гипотиреоз

Амилаза

Амилаза обнаружена в слюнных железах и экзокринной части поджелудочной железы, а ее тканеспецифические изоферменты можно разделить методом электрофореза или с использованием ингибиторов.

Клиническое значение данного фермента связано, в первую очередь, с дифференциальной диагностикой "острого живота". Активность амилазы в плазме обычно возрастает при остром панкреатите, и превышение верхнего предела нормы более чем в 10 раз (крайне редкое при других видах патологии) является диагностическим критерием. Менее выраженное повышение (в 5 раз) может также сопровождать панкреатит и другие неотложные формы острого живота, особенно прободение дуоденальной язвы.

Внеабдоминальные причины редко вызывают повышение активности амилазы в плазме свыше 5-кратного превышения пределов нормы.

Примером высокой активности амилазы в плазме, обусловленной уменьшением ее клиренса, является макроамилаземия. При этом состоянии амилаза связывается с другим белком (в некоторых случаях с иммуноглобулином) и формирует комплекс со значительно более высокой относительной молекулярной массой, в результате чего уменьшается почечный клиренс.

Это не имеет клинических последствий, но может привести к ложному предположению о наличии заболевания поджелудочной железы. Измерение активности изоформы амилазы поджелудочной железы, способно увеличить диагностическую специфичность определения активности амилазы в плазме.

Мелкие молекулы амилазы фильтруются в почечных клубочках, но большинство ферментов, вероятно, удаляются клетками ретикулоэндотелиальной системы.

Активность амилазы плазмы растет при острой почечной недостаточности, но в целом изменения скорости клиренса не рассматриваются как важная причина изменения концентрации ферментов в плазме.

Превышение верхнего предела нормы более чем в 10 раз:

Острый панкреатит

Превышение верхнего предела нормы в 5–10 раз:

Прободная дуоденальная язва

Непроходимость кишечника

Другие состояния “острого живота”

Острая почечная недостаточность с олигурией

Диабетический кетоацидоз

Превышение верхнего предела нормы менее чем в 5 раз:

Поражения слюнных желез, например камни и воспаление (включая эпидемический паротит)

Хроническая почечная недостаточность

Макроамилаземия

Превышение нормы (сверхнормальность) (См.)