

ФЕРМЕНТЫ - 3

ФЕРМЕНТИ - 3

Наумов А.В.

НАУМОВ А.В.

Изменение активности ферментов при патологии



Внутриклеточная локализация ферментов

- **Ядро** – ДНК полимераза.
- **Митохондрии** – ферменты цикла кребса, β - окисления жирных кислот, АсАТ
- **Цитоплазма** – ферменты гликолиза.

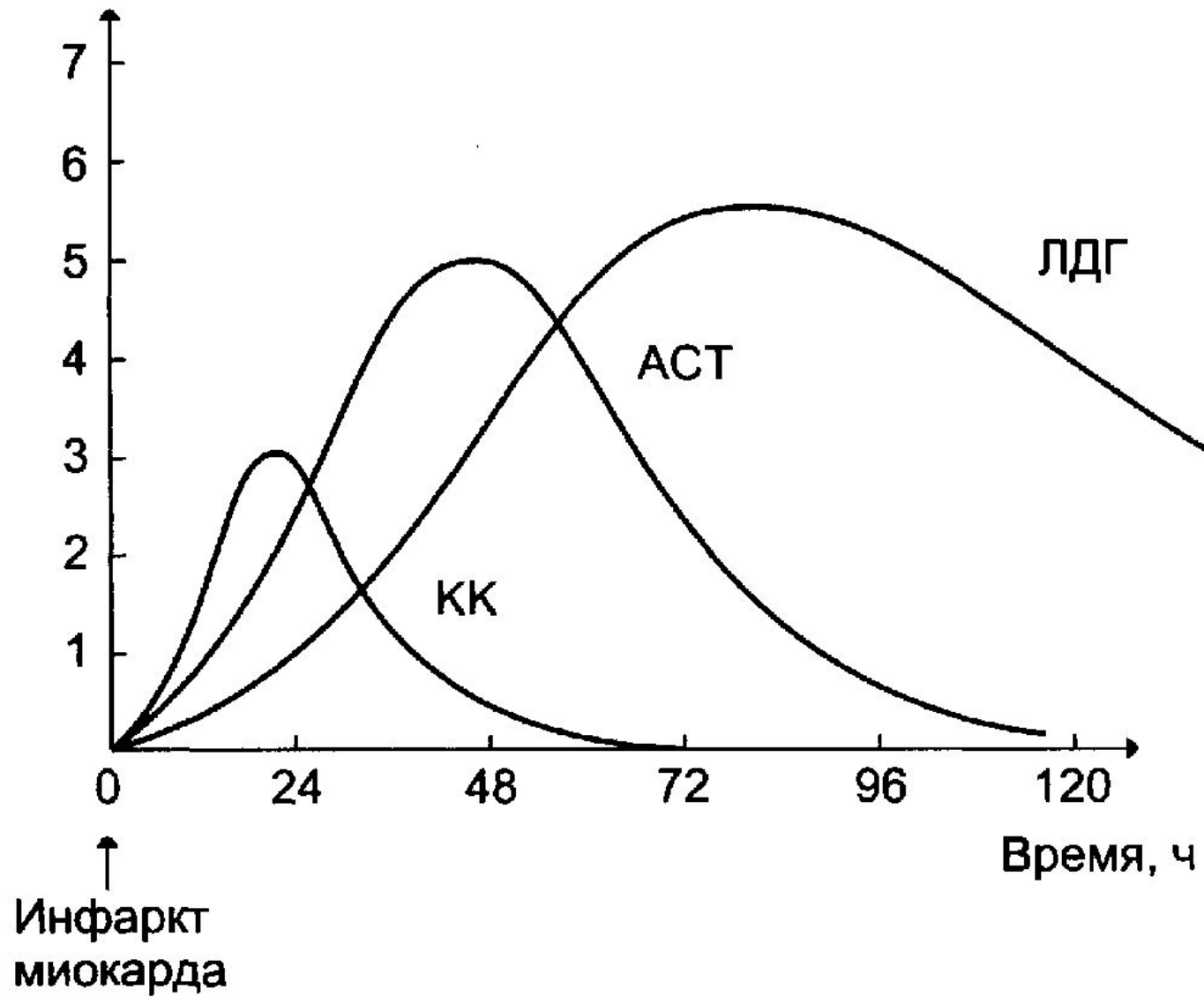
Происхождение ферментов СЫВОРОТКИ крови:



- Собственные ферменты плазмы крови (секреторные)
 - протромбин,
 - проакцелерин.
- Экскреторные
 - амилаза
 - липаза
- Индикаторные (клеточные)

Органоспецифические ферменты (**ИЗО**ферменты)

Фермент	Орган
ЛДГ ₁ ЛДГ ₂	миокард
ЛДГ ₄ ЛДГ ₅ амилаза АлАТ АсАТ	печень, мышцы поджелудочная железа печень миокард
Кислая фосфатаза	предстательная



Энзимопатии

ЭНЗИМОПАТИИ

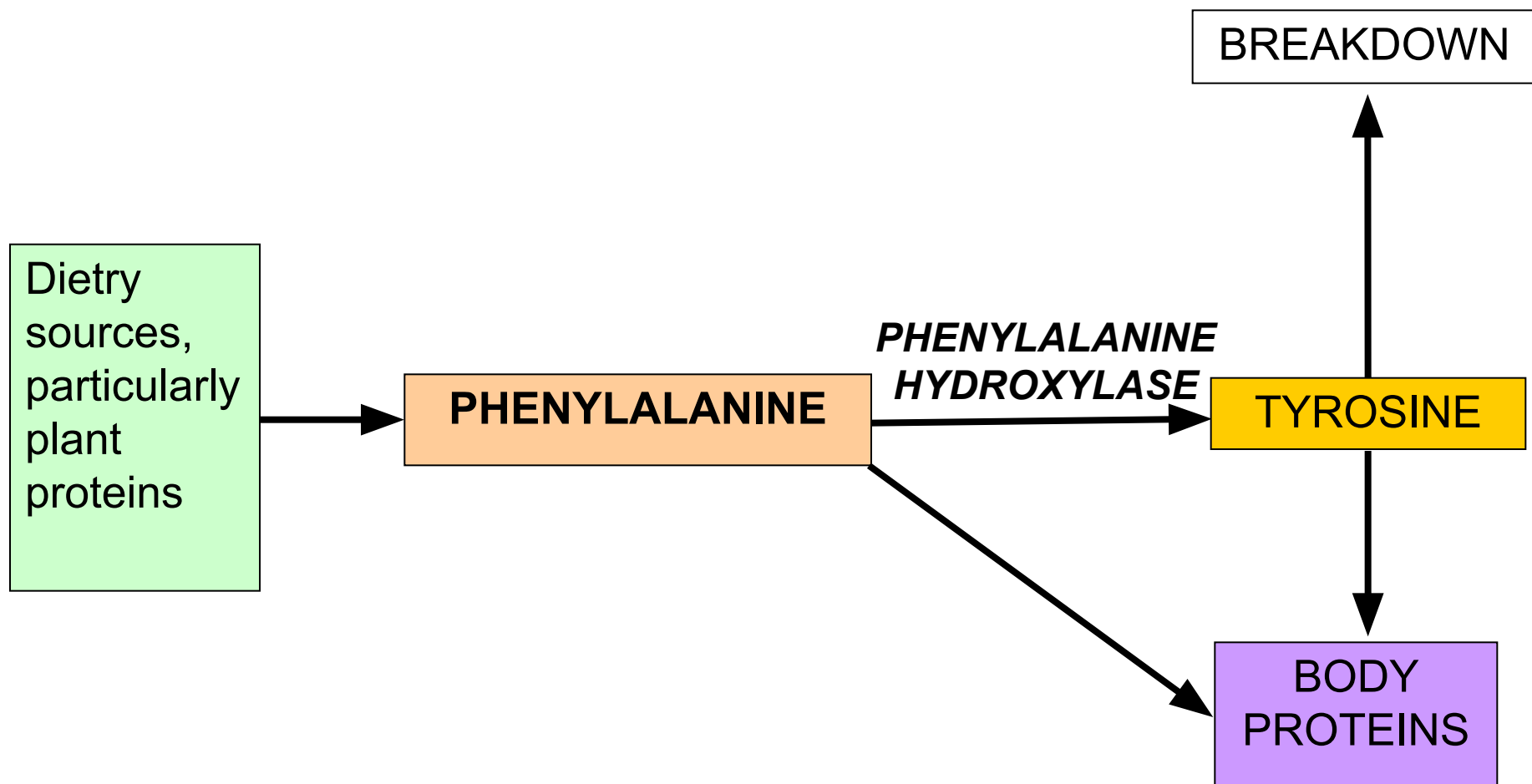
- заболевания, возникающие при
отсутствии фермента или нарушении
его активности.

Энзимопатии

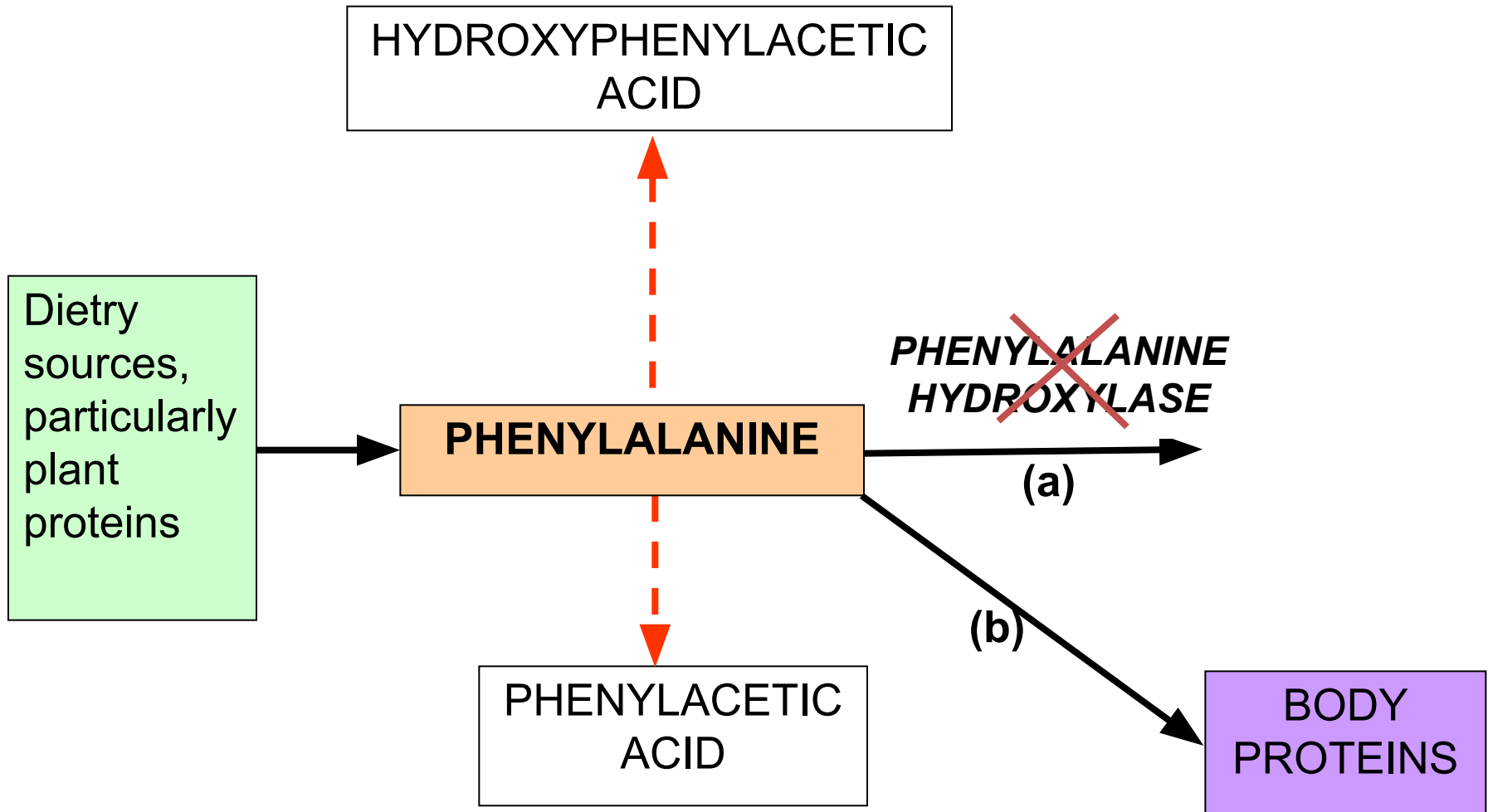
- ✓ **Наследственные (*первичные*) генетические** – характеризуются отсутствием, недостатком или дефектом структуры какого-либо фермента
 - □ Альбинизм □ Фенилкетонурия
 - □ Галактоземия □ Гликогенозы

- ✓ **Приобретённые (*вторичные*)**
 - - *ингибирование фермента*
 - - *доступность кофакторов*

Нормальный метаболизм фенилаланина.



Фенилкетонурия



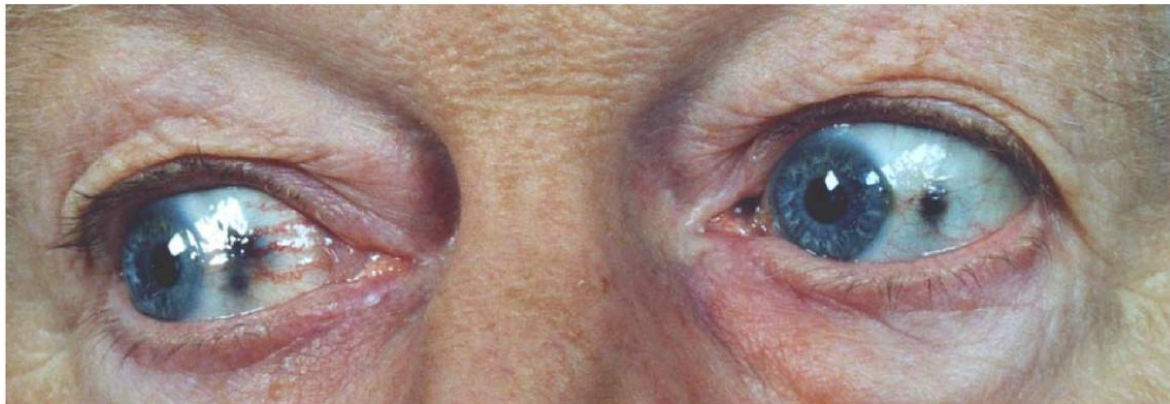
Albinism - *tyrosinase* is deficient and melanine (black pigment of skin, hair and eyes) not produce, and affected individuals (called albinos) are extremely sensitive to sunlight.



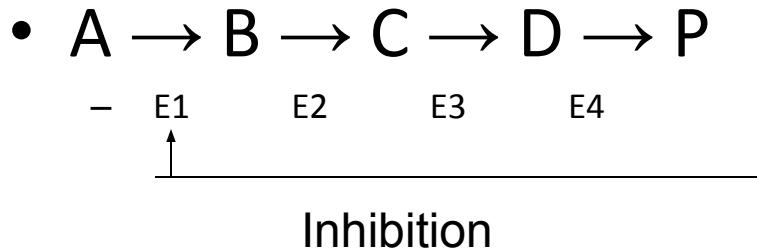
Alcaptonuria - caused by a deficiency of *homogentisate oxidase*. Large quantities of homogentisate (product of tyrosine metabolism) excreted in urine and autooxidizes, forming dark colored pigment (black urine). In addition, pigment accumulates in various tissue and cause a degenerative arthritis.



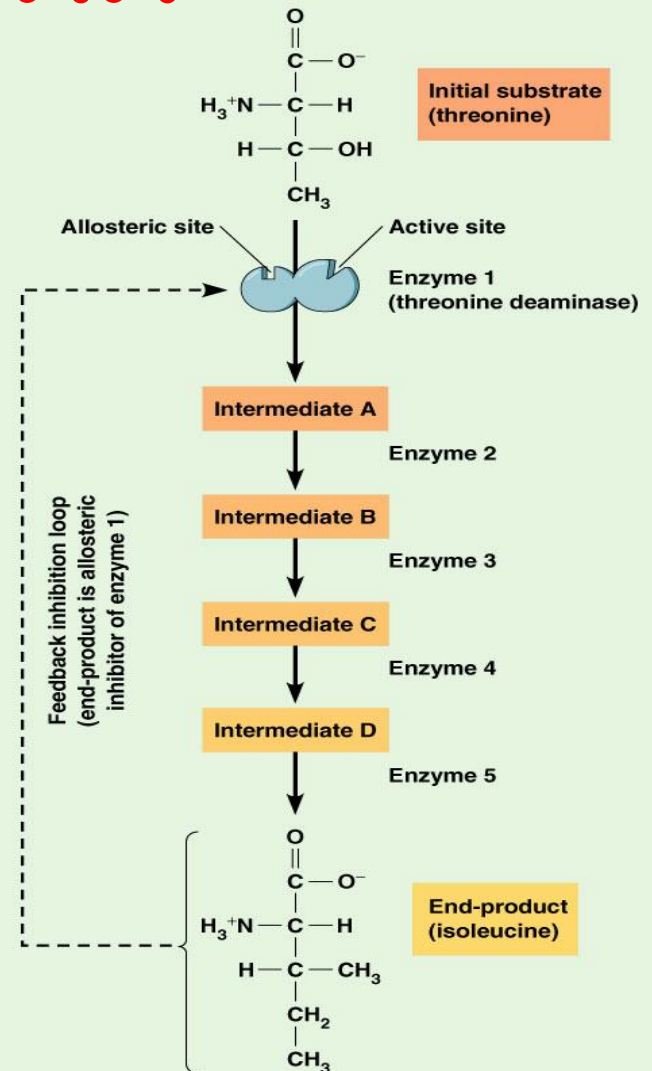
Fig. 3: Comparison of Colour of Freshly Voided Urine and Urine after 24 Hours



Вторичные ЭНЗИМОПАТИИ



Threonine deaminase is regulated by isoleucine in the cell. Isoleucine binds to enzyme at allosteric site and acts as allosteric inhibitor



Вторичные энзимопатии

Доступность кофакторов:

- **недостаток** витаминов в питании;
- нарушение процессов **усвоения** и **транспорта** витаминов;
- изменение **сродства** кофермента к активному центру

1/3 БОЛЬНЫХ
ЧУВСТВИТЕЛЬНЫ
К

ВИТАМИНОТЕРАПИИ

Пиридоксин (В₆) – пиридоксальфосфат (PLP).

1,3 мг/день. В составе ~ 112 ферментов (3%).

- **Аланин-глиоксилат аминотрансфераза** – гипероксалурия, **МКБ** и почечная недостаточность.

OMIM 259900*

- **β -аланин: α -кетоглутарат трансминаза.**

Синдром Кохена – выраженная умственная отсталость сочетается с ожирением, мышечной гипотонией, гипоплазией нижней челюсти с выдающимися резцами, узкими руками и ногами и пр.

OMIM 216550*

* Проект «Менделевское наследование у человека» (англ. Mendelian Inheritance in Man, MIM).

- **Специфическая эритроидная синтетаза δ-аминолевулиновой кислоты** (митохондрий) – связанная с X хромосомой **сидеробластическая анемия**
OMIM 301300

Нарушен синтез дельта-АЛК (сукцинил Co-A + Gly), - недостаточное образование **копропорфирина** и **протопорфиринов** в эритроблестах и накопление в них Fe^{2+} .

- **Кинурениназа** – превращает кинуренин (Trp) в антраниловую кислоту.

Нарушение умственного развития.
236800

OMIM

- **Декарбоксилаза ароматических L-аминокислот.**
Синтез дофамина и серотонина.

Нарушение развития , гипотония, и пр.

OMIM 107930

- **Орнитинаминотрансфераза** (митохондрий) (ЕС 2.6.1.13.) – гиратная (кольцевидная) атрофия сетчатки (ОМIM 258870)*

Нарушение превращения орнитина в пролин.

Симптомы: атрофия сетчатки и пигментного эпителия глаз.

Вначале - «куриная» (сумеречная) слепота, в 60-70 лет - прогрессирующая дегенерация сетчатки и сосудистого сплетения глаз.

- **Цистатионин β -синтетаза.** (ОМIM 236200) **Гипергомоцистеинемия**, нарушения развития, сердечно-сосудистая и скелетная патология, и пр.

* Проект «Менделевское наследование у человека» (англ. Mendelian Inheritance in Man, MIM).

Тиамин (В₁) – 1,2 мг в день., **тиаминдифосфат**, 4 фермента.

- **Дегидрогеназа АК с разветвлённой цепью** (митохондрии) – **болезнь кленового сиропа** - в моче Val, Leu, Ile - даёт запах кленового сиропа.

ОМIM 248600.

Симптомы: кетоацидоз, нарушение умственного развития, атаксия, слепота (> α-кетокислот).

- **Пируват декарбоксилаза** (митохондрий) – болезнь Лея (Leigh disease) **подострая некротическая энцефаломиелопатия.**

Лактоацидоз, энцефаломиелопатия, нарушение умственного развития, атаксия (беспорядок, греч.), повышенная восприимчивость к инфекциям, мышечная слабость, гипотония и др.

ОМIM 312170.

Ген в X хромосоме. У новорожденных девочек из-за лактоацидоза развивается **эпилептический синдром**

- **Мембранный переносчик тиамин** **SLC19A2** (белок мембран) – мегалобластическая анемия, сахарный диабет, нейросенсорная **глухота**
OMIM 603941.
- **Тиамин пирофосфокиназа** - мегалобластическая анемия, сахарный диабет, нейросенсорная **глухота** OMIM 606370.
- **α -кетоглутарат дегидрогеназа** (митохондрии) - мегалобластическая анемия, сахарный диабет, нейросенсорная **глухота** OMIM 203740.

Рибофлавин (В₂) – 1,3 мг/день. ФМН и ФАД, в составе 4% (~ 150) ферментов.

- **метилен-ТНФ редуктаза** – **гипер**гомоцистинемиия, сердечно-сосудистые заболевания, мигрень, диабетическая нефропатия, врождённые нарушения развития сердца
OMIM 236250.
- **НАД(Ф)хинон оксидоредуктаза** – высокий риск лейкемии, урогенитальных опухолей
OMIM 125860.
- **Протопорфириноген оксидаза** – смешанная (пёстрая) порфирия, нейропсихиатрические нарушения, двигательная невропатия
OMIM 176200.

- ***Короткоцепочечная-, средне- и длинно- ацил-КоА дегидрогеназа*** – нейромышечные нарушения, метаболический ацидоз, припадки, отставание в физическом развитии

OMIM 201470, 201450, 201460.

- ***Комплекс I ЦПЭ митохондрий*** – выраженные миопатии, непереносимость физических нагрузок, возможны митохондриальные энцефаломиелопатии, лактоацидоз и острые нарушения мозгового кровообращения **OMIM 252010.**

Энзимотерапия

Энзимотерапия

Применение ферментов в медицине

- **диагностическое** - определение активности ферментов в сыворотке крови и биологических жидкостях.
- **терапевтическое** – лекарства.
- **лабораторное** (аналитическое)
- реагенты.

Ферменты в диагностике

Основные принципы для применения :

- если из-за **повреждения клеток** повышается концентрация внутриклеточных ферментов в крови или биологических жидкостях (моча);
- **количество** фермента достаточно для определения;
- **активность фермента** определяется лишь при повреждении клеток, стабильна на протяжении определённого времени и выше нормальных величин;
- **ферменты** имеет приоритет или абсолютную **локализацию** в определенных органах;
- имеется различие во **внутриклеточной** локализации.

Ферменты плазмы крови

1. **Собственные ферменты крови - секреторные.** Синтезируются в печени – место действия – кровь (*протромбин, проакцелерин, проконвертин, церулоплазмин, холинестераза* и др.)
2. **Экскреторные** – попадают в кровь из секреторных органов – панкреатического сока, слюны и пр. (*амилаза, липаза*).
3. **Клеточные** – попадают в кровь при повреждении клеток или тканей.

Ферменты плазмы крови

Клеточные ферменты в небольших количествах могут попадать в кровь также в результате:

- благодаря **диффузии** через неповреждённые мембраны
- при физиологическом **старении** клеток.

Повышение уровня в крови

- **некроз клеток;**
- **повышение проницаемости мембран;**
- **повышение внутриклеточного синтеза ;**
- **повышение уровня в тканях;**
- **повреждение механизма
хранение/экскреция.**

Понижение уровня в крови

- 1. Врождённое (генетическое)**
- 2. Приобретённое:**
 - ингибирование фермента**
 - доступность кофакторов**

Применение ферментов в лечении болезней

- Заместительная терапия (*мезим, фестал*)
- Лечение гнойно-некротических и рубцовых процессов (*химотрипсин, лидаза* (гиалуронидаза))
- Тромболитическая терапия (*фибринолизин, урокиназа*)
- Противоопухолевые препараты (*аспарагиназа*)
- Противомикробные препараты (*ДНКаза*)

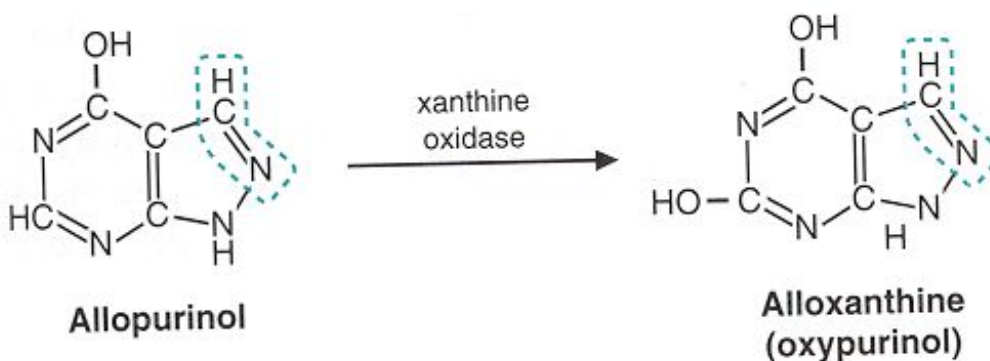
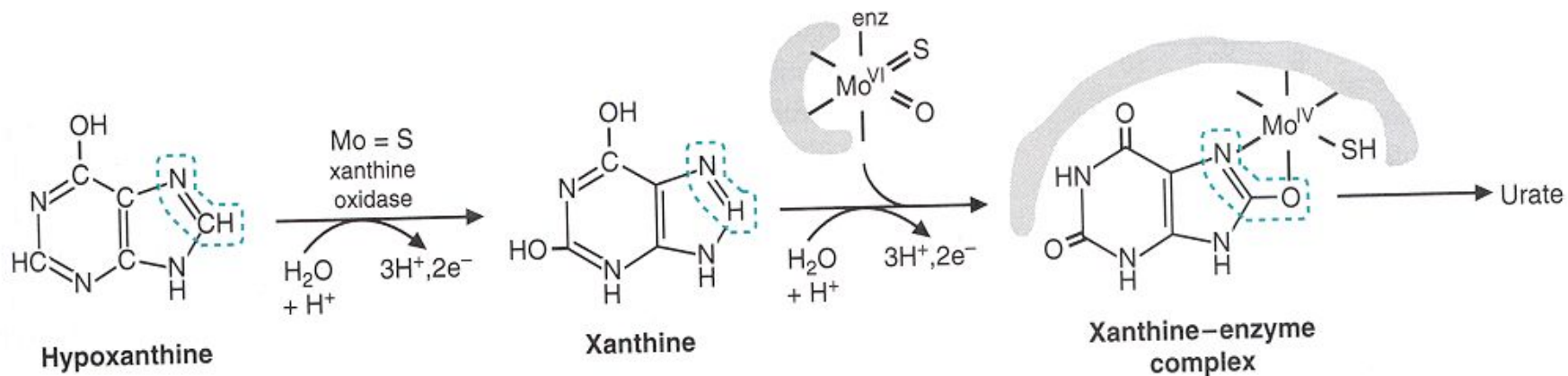
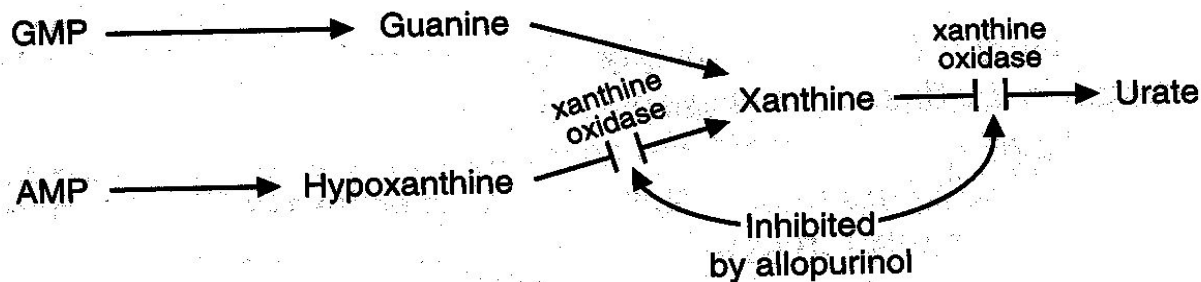
- **Антиферментные препараты**

(лекарственные препараты – ингибиторы ферментов)

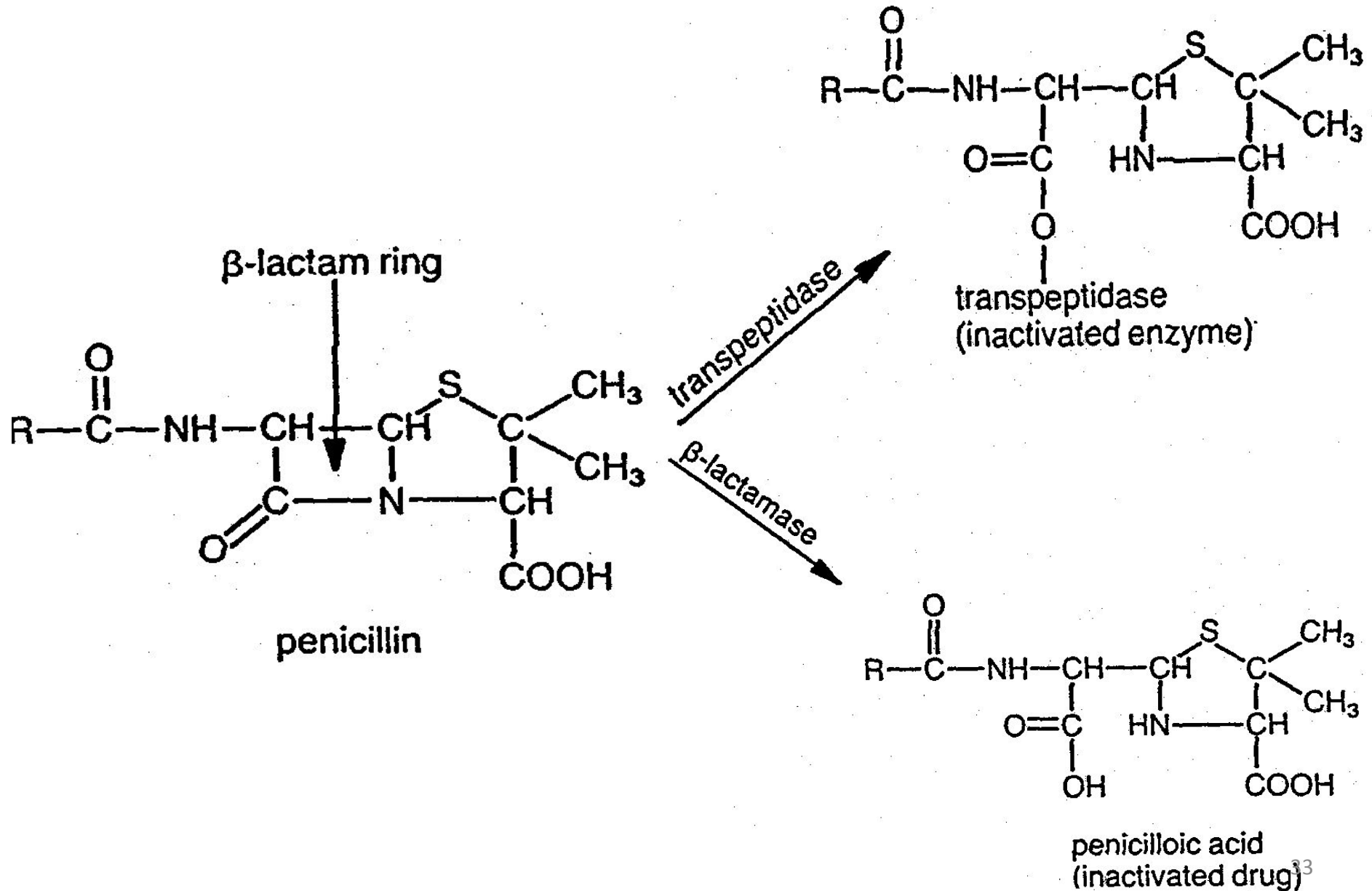
- **сульфаниламидные антибиотики (стрептоцид)** структурное сходств сульфаниламидного фрагмента с ПАБК - субстратом дигидроптероатсинтетазы, синтезирующим дигидроптероевую кислоту (конкурентное ингибирование).
- **антиметаболиты (5-фторурацил)**
- **ингибиторы протеолиза (контрикал, трасилол)**
- **ингибиторы моноаминооксидазы (антидепрессанты)**
- **ингибиторы ксантинооксидазы (аллопуринол)**
- **коферментные ингибиторы (антивитамины)**

Необратимые ингибиторы:

Allopurinol



Необратимые ингибиторы : Penicillin



Элементы комплексной терапии

**применение ферментов в сочетании с
другой терапией**

Трипсин - обработка гнойных ран

Фибринолизин - тромболитическая терапия

Лидаза - лечение рубцово-спаечных процессов

Энзимодиагностика

- постановка диагноза заболевания на основе определения активности ферментов в биологическом материале (биологические жидкости, ткани



Использование **ферментов** в качестве
аналитических реактивов

<i>Глюкозооксидаза</i>	Определение концентрации глюкозы в крови
<i>Холестерол-оксидаза</i>	Определение холестерина в крови
<i>Липаза</i>	Определение триацил- глицеринов в крови
<i>Уреаза</i>	Определение мочевины в крови

Иммобилизованные ферменты

- ферменты, связанные с твердым носителем или помещенные в полимерную капсулу

Для иммобилизации ферментов используют два основных подхода:

- химическая модификация фермента
- физическая изоляция фермента в инертном материале

Использование **иммобилизированных ферментов** в аналитических и препаративных целях:

- ферментные электроды (**глюкозооксидаза**)
- тест-системы (**уреаза**)
- получение L-аминокислот
- обработка молока (**галактозидаза**)

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!