

**ФЕРМЕНТЫ - 3**

**ФЕРМЕНТЫ - 3**

**Наумов А.В.**

**Наумов А.В.**

# Изменение активности ферментов при патологии



# Внутриклеточная локализация ферментов

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

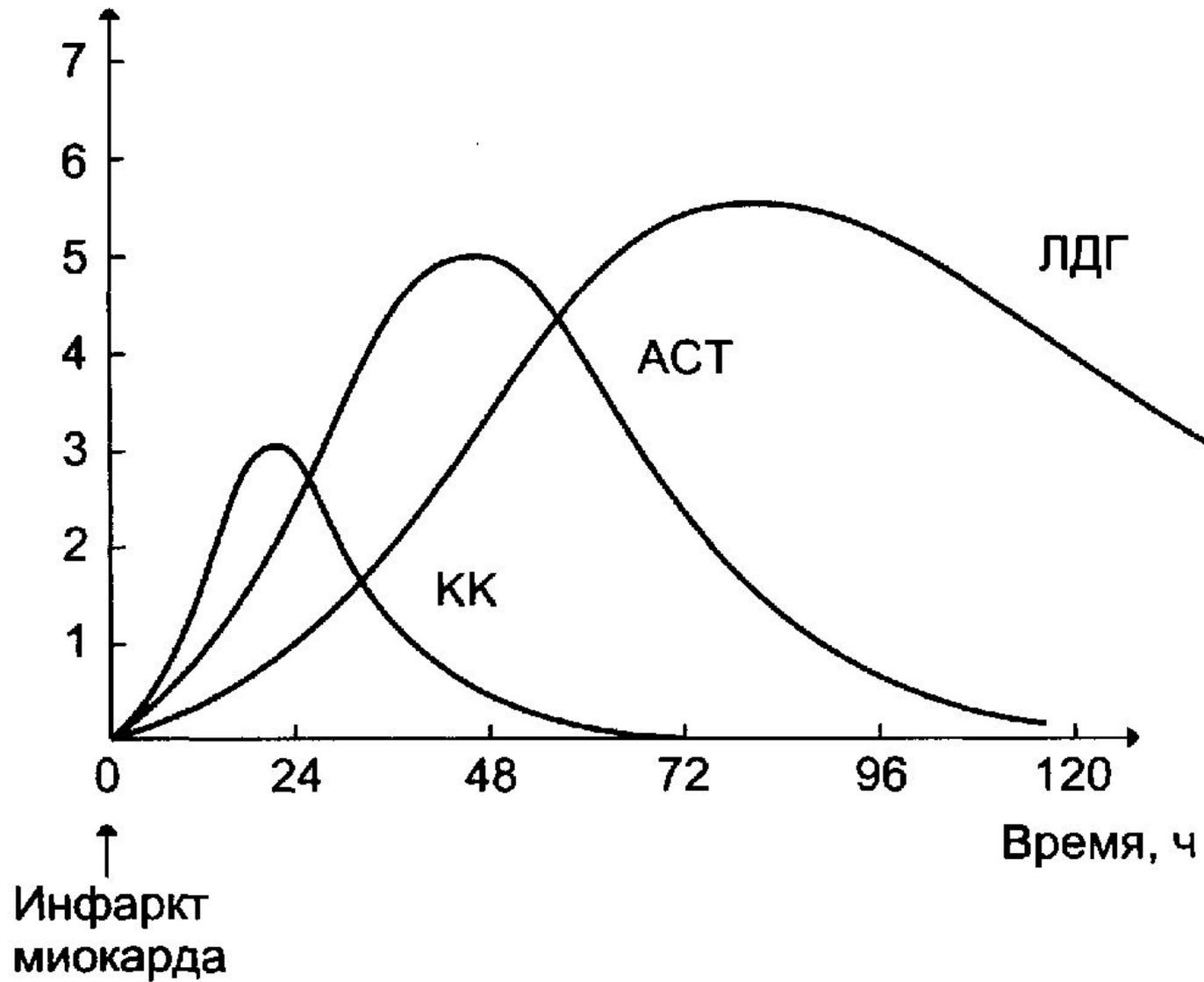
# Происхождение ферментов СЫВОРОТКИ крови:



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

# Органоспецифические ферменты (ИЗОферменты)

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



# Энзимопатии

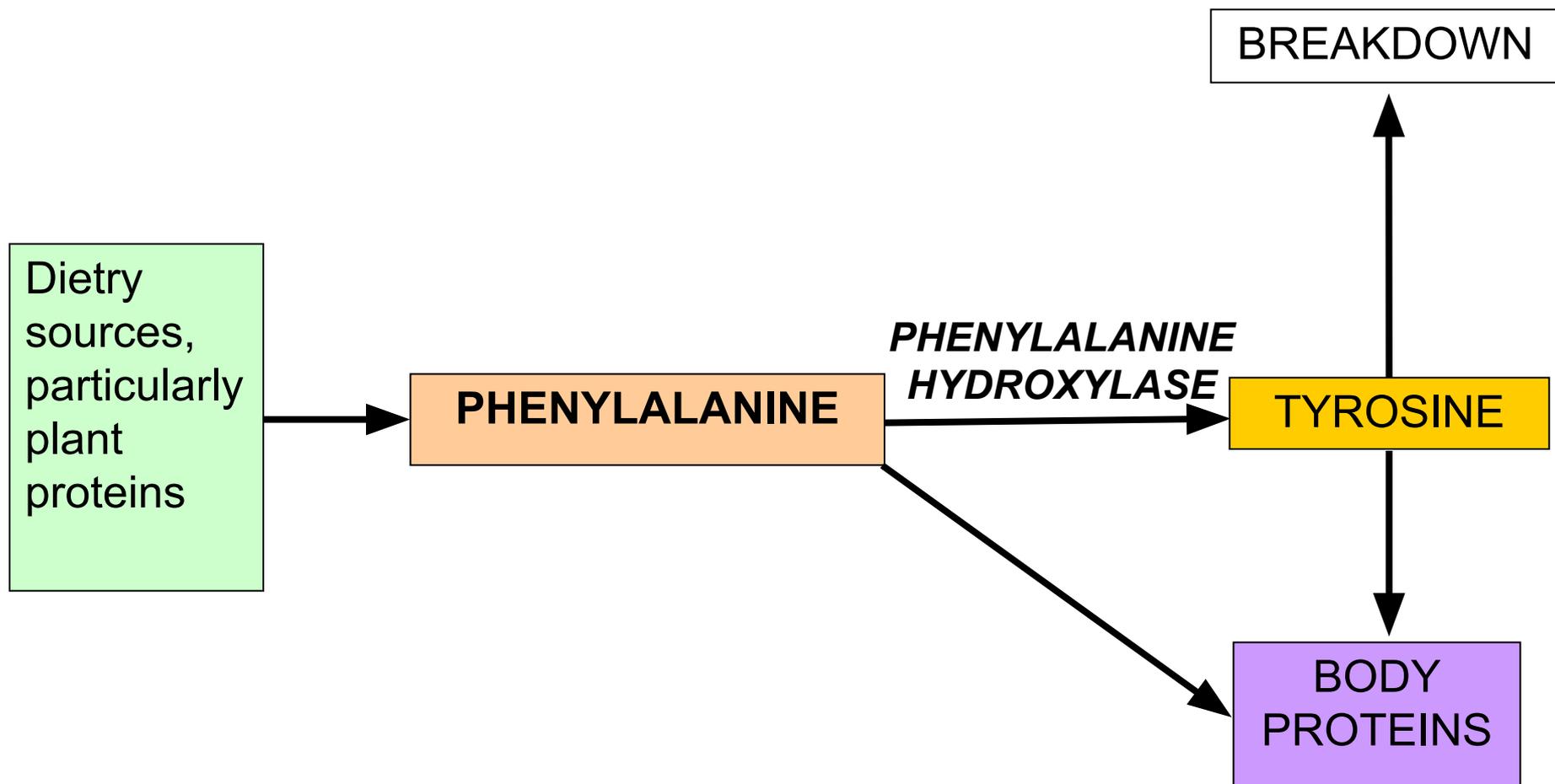
ЭНЗИМОПАТИИ

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

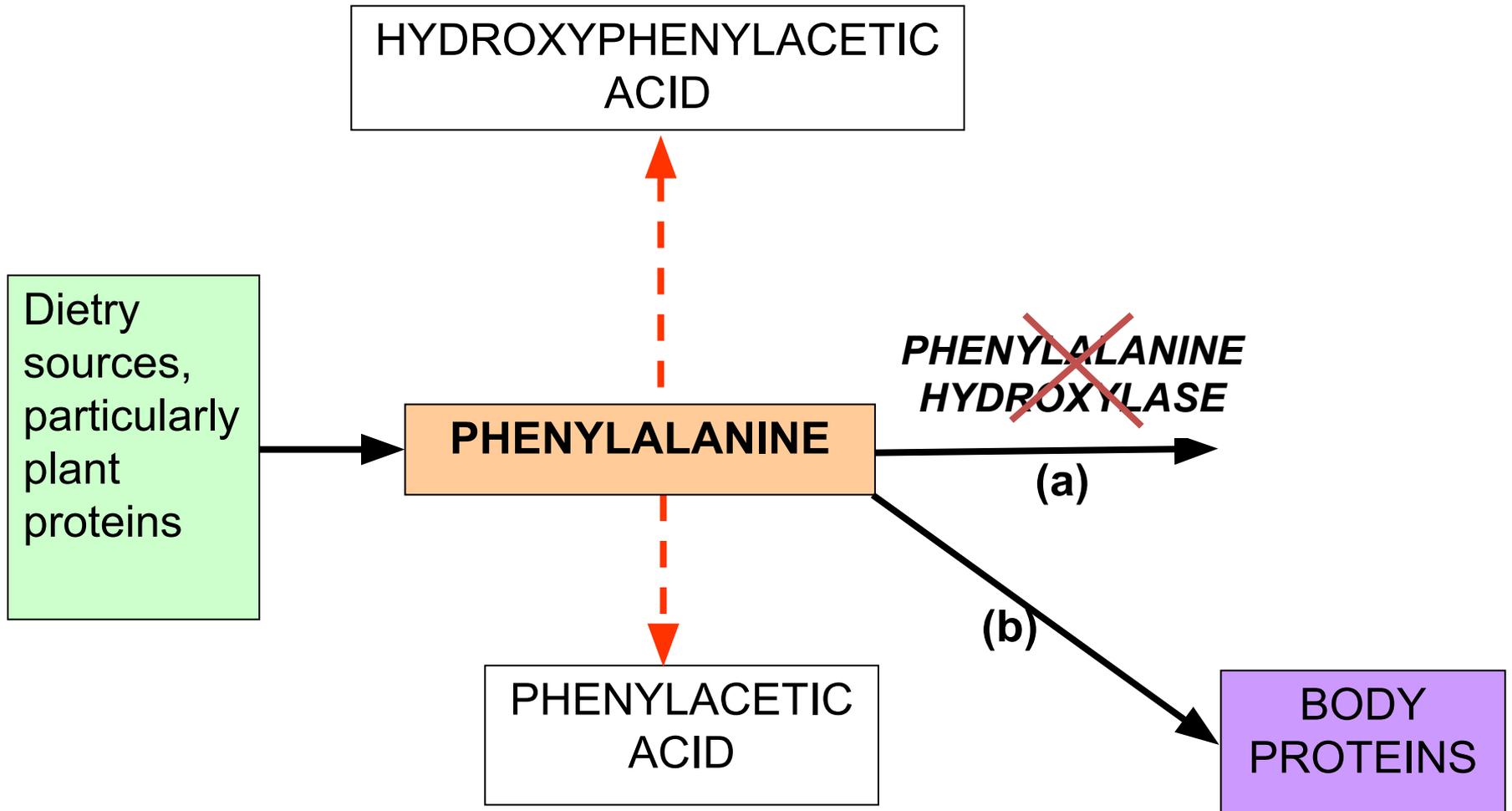
# Энзимопатии

- ✓ **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.



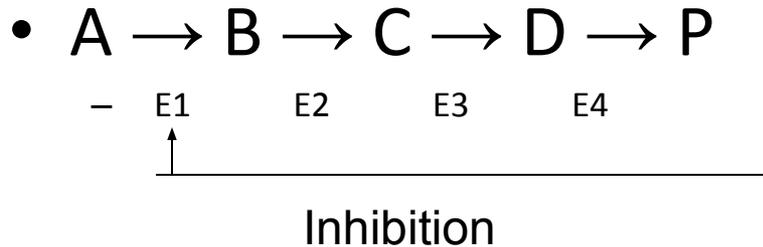
**Alcaptonuria** - caused by a deficiency of *homogentisate oxidase*. Large quantities of homogentisate (product of tyrosine metabolism) excreted in urine and autooxidizes, forming dark colored pigment (black urine). In addition, pigment accumulates in various tissue and cause a degenerative arthritis.



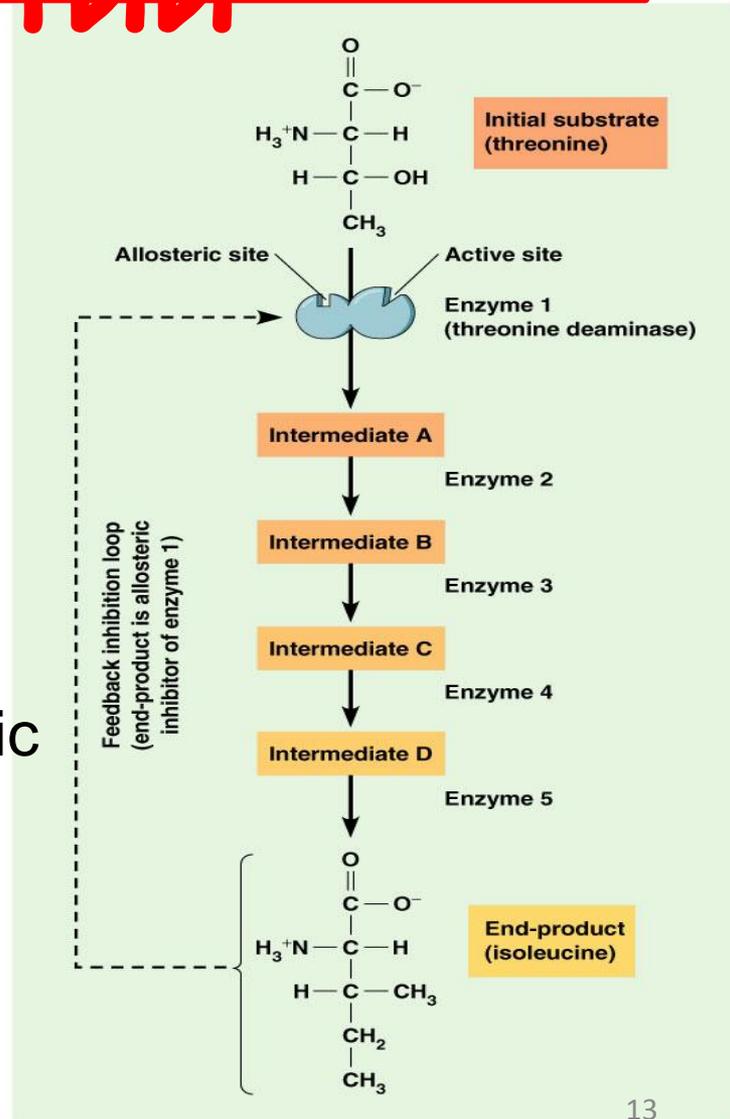
Fig. 3: Comparison of Colour of Freshly Voided Urine and Urine after 24 Hours



# 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 (В<sub>6</sub>) – пиридоксальфосфат (PLP).**

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

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

OMIM 259900\*

- **$\beta$ -аланин:  $\alpha$ -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<sup>2+</sup>.

- **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 (В<sub>1</sub>)** – 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.
- **$\alpha$ -кетоглутарат дегидрогеназа** (митохондрии) - мегалобластическая анемия, сахарный диабет, нейросенсорная **глухота** OMIM 203740.

**Рибофлавин (В<sub>2</sub>)** – 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 хранения/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*)

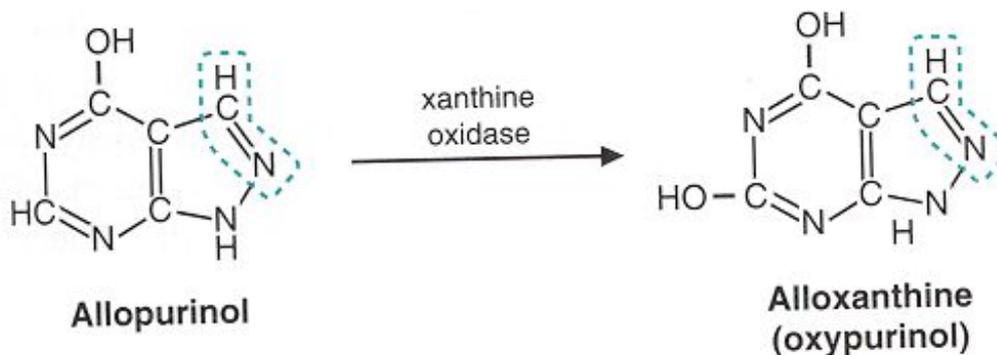
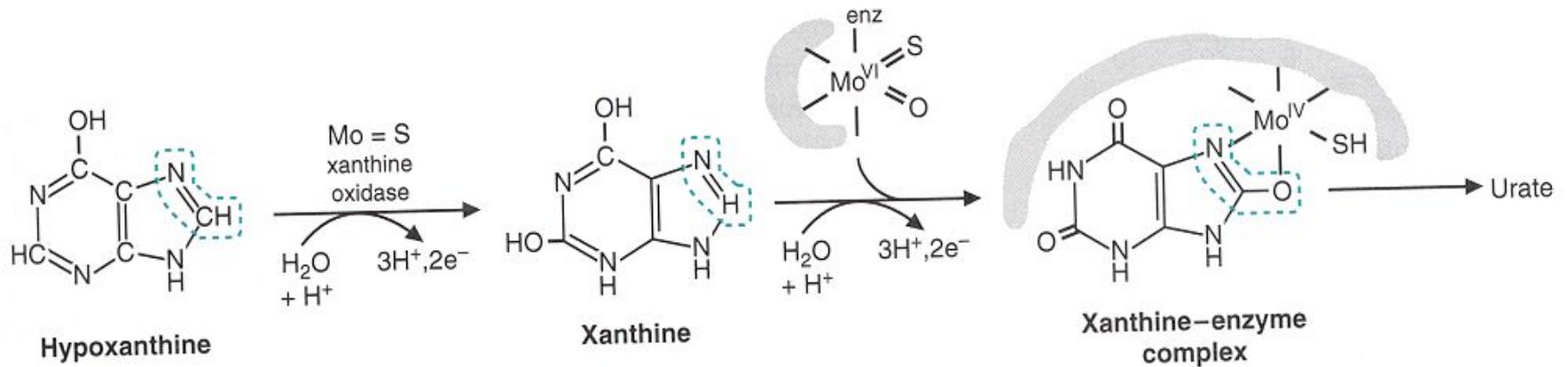
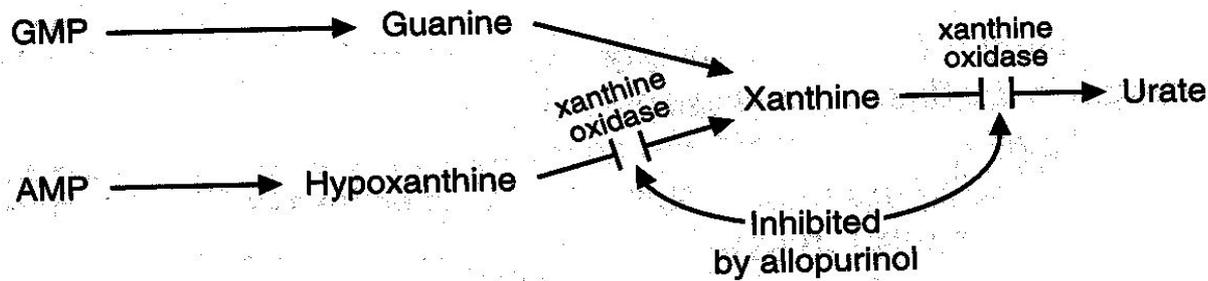
- **Антиферментные препараты**

(лекарственные препараты – ингибиторы ферментов)

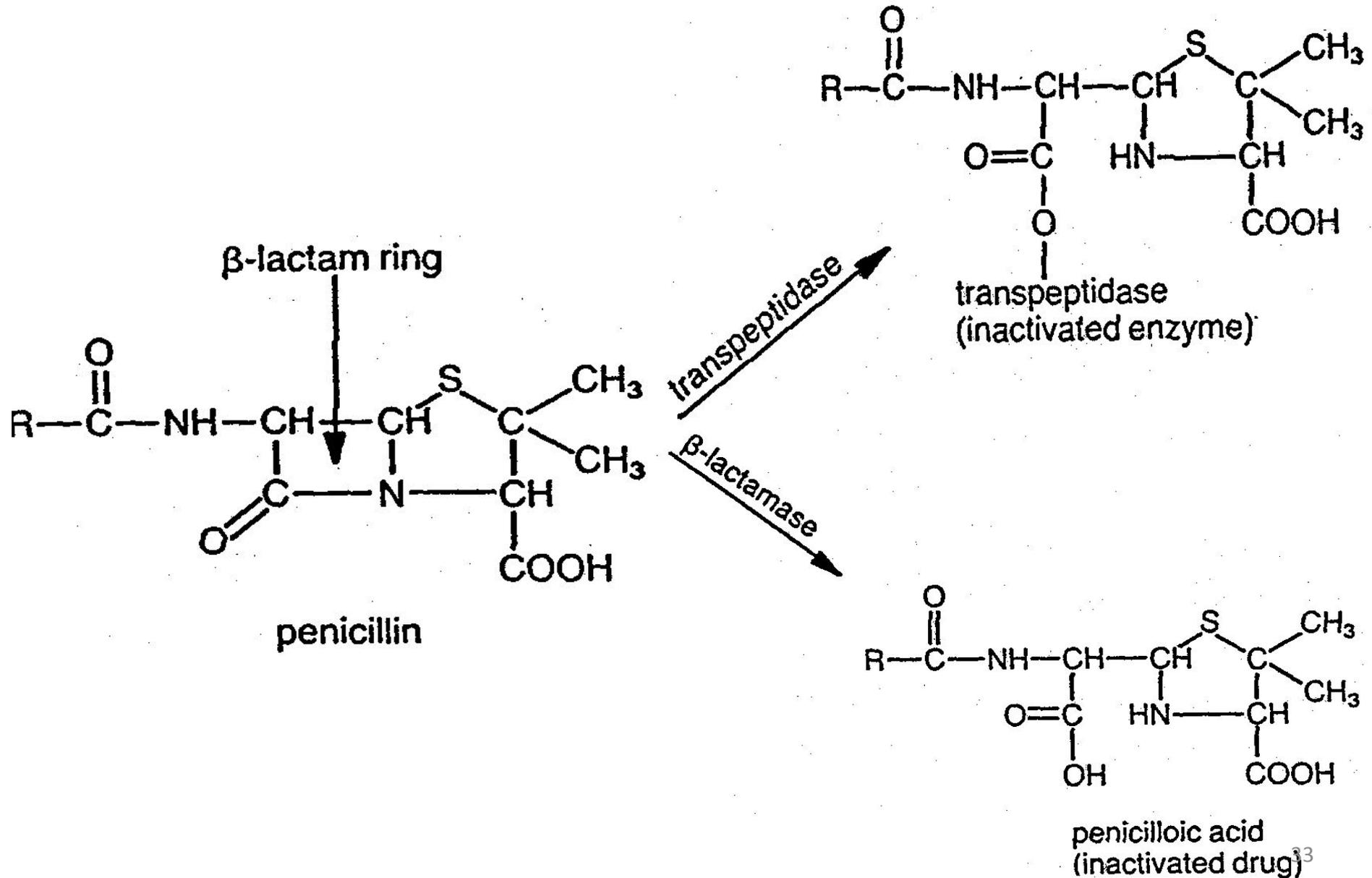
- **сульфаниламидные антибиотики (стрептоцид)** структурное сходств сульфаниламидного фрагмента с ПАБК - субстратом дигидроптероатсинтетазы, синтезирующим дигидроптероевую кислоту (конкурентное ингибирование).
- **антиметаболиты (5-фторурацил)**
- **ингибиторы протеолиза (контрикал, трасилол)**
- **ингибиторы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