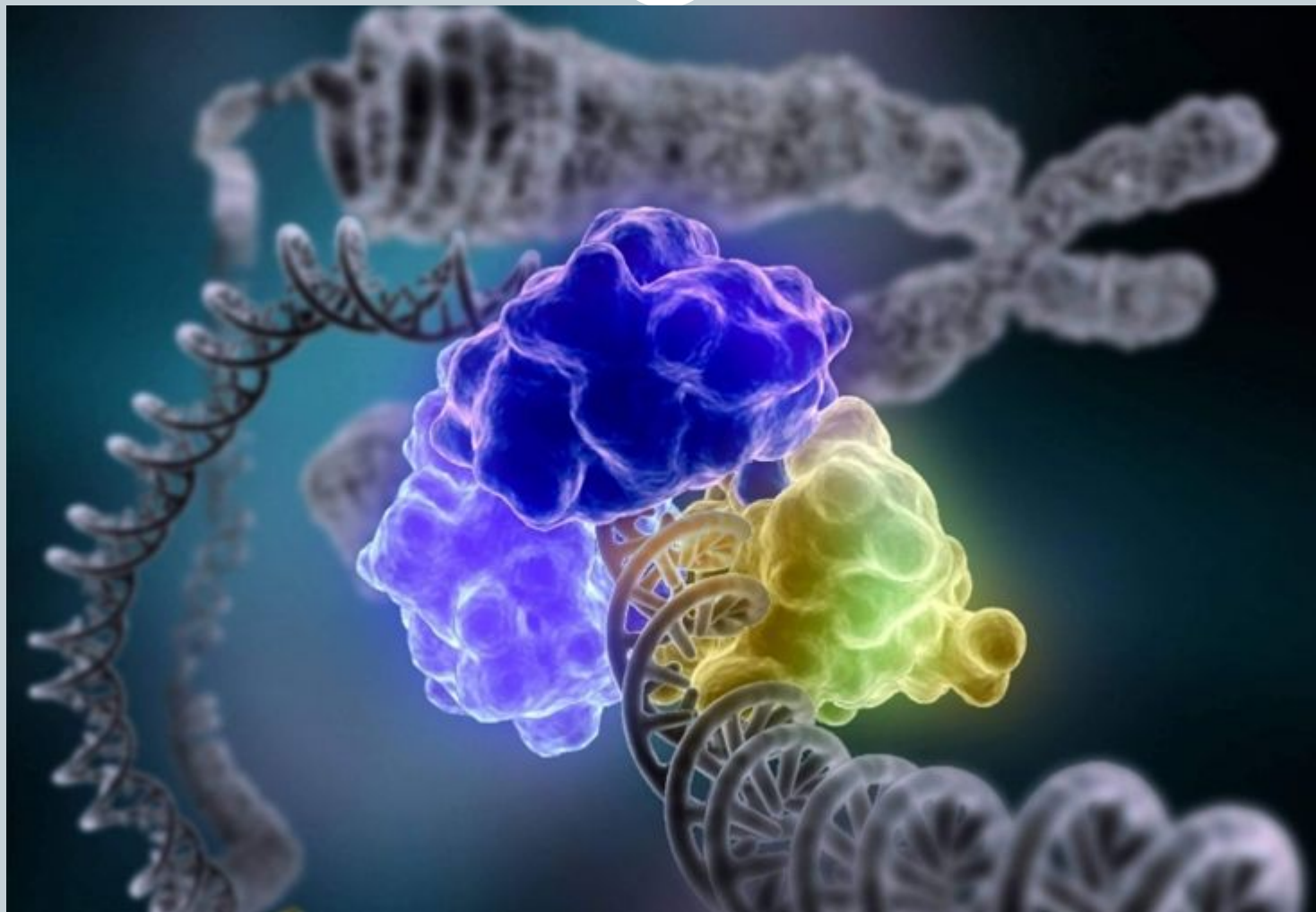


ФЕРМЕНТЫ СЫВОРОТКИ и ПЛАЗМЫ



Ферменты (энзимы) - это специфические белки, которые исполняют в организме роль биологических катализаторов и обеспечивают нормальное протекание всех химических реакций в организме.

Ферменты сыворотки

```
graph TD; A[Ферменты сыворотки] --> B[Секреторные]; A --> C[Клеточные]; A --> D[Экскреторные]; C --> E[Органоспецифические]; C --> F[Неспецифические];
```

The diagram is a hierarchical flowchart. At the top level is the title 'Ферменты сыворотки' in blue. Three blue arrows point downwards from this title to the second level, which consists of three red terms: 'Секреторные', 'Клеточные', and 'Экскреторные'. From the 'Клеточные' term, two blue arrows point downwards to the third level, which consists of two red terms: 'Органоспецифические' and 'Неспецифические'.

Секреторные

Клеточные

Экскреторные

Органоспецифические

Неспецифические

Секреторные ферменты

- синтезируются в печени;
- в норме выделяются в плазму крови, где играют определенную физиологическую роль;
- их активность в сыворотке крови выше, чем в клетках или тканях;
- в клинической практике они представляют интерес, когда их активность в сыворотке крови становится ниже нормы за счёт нарушения функции печени (белок синтезирующей функции).

Примеры: свертывающая система крови, система комплемента, системы регуляции сосудистого тонуса (калликреин - кининовая система и система ренин – ангиотензин), сывороточная ХЭ.

Экскреторные ферменты

- образуются органами пищеварительной системы (поджелудочной железой, слизистой оболочкой кишечника, печенью, эндотелием жёлчных путей);
- в норме их активность в сыворотке крови низка и постоянна;
- при патологии, когда блокирован любой из обычных путей экскреции, активность этих ферментов в сыворотке крови значительно увеличивается.

Примеры: амилаза, липаза, щелочная фосфатаза и др.

Клеточные (индикаторные) ферменты

- попадают в кровь из тканей, где они выполняют определенные внутриклеточные функции;
- большая часть индикаторных ферментов в сыворотке крови определяется в норме лишь в следовых количествах;
- при поражении тех или иных тканей ферменты из клеток «вымываются» в кровь; их активность в сыворотке резко возрастает, являясь индикатором степени и глубины повреждения этих тканей.

**ОРГАНЫ И ТКАНИ ИМЕЮТ ХАРАКТЕРНЫЙ
ДЛЯ НИХ НАБОР ФЕРМЕНТОВ**

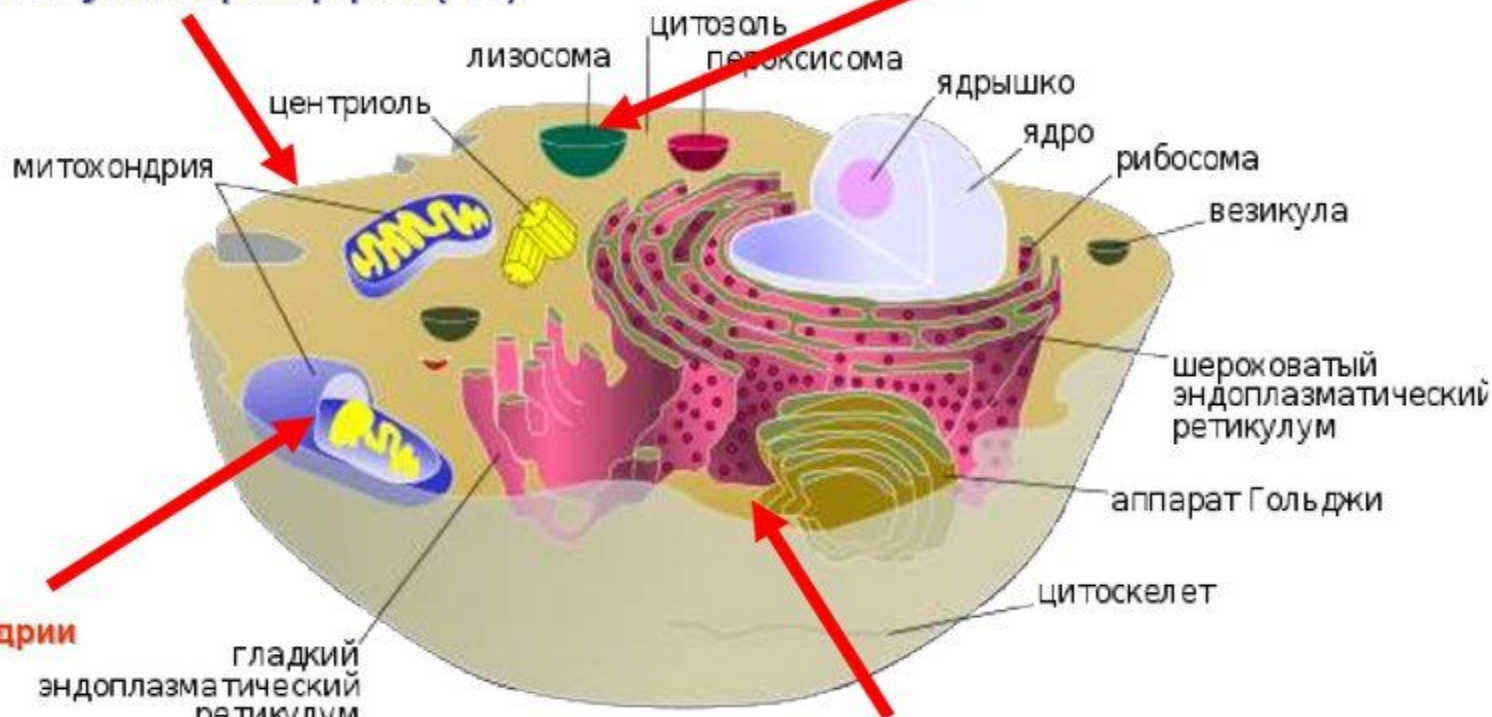
**ВНУТРИ КЛЕТОК РАЗНЫХ ТКАНЕЙ ФЕРМЕНТЫ
РАСПРЕДЕЛЕНЫ НЕ ОДИНАКОВО**

РЯД ФЕРМЕНТОВ ИМЕЮТ ИЗОФОРМЫ

Примеры различной локализации ферментов в клетке

Клеточная мембрана
кислая фосфатаза,
5'-нуклеотидаза,
гамма-глутамилтрансфераза (ГГТ)

Лизосомы
Щелочная фосфатаза (ЩФ)



Митохондрии
АсАТ
КФК
глутаматдегидрогеназа (ГДГ)

Цитоплазма
аланинаминотрансфераза (АлАТ),
аспартатаминотрансфераза (АсАТ),
лактатдегидрогеназа (ЛДГ),
креатинкиназа (КК)

Изоферменты

*Множественны формы различных ферментов
Катализируют одну и ту же реакцию*

- отличаются по а/к составу
- могут иметь различный молекулярный вес
- разную электрофоретическую подвижность
- разные иммунологические/биохимические характеристики
- различный рН-оптимум
- разная стабильность
- разные способы регуляции

ЛДГ – 5 изоформ – тетрамеры – комбинация 2 типов субъединиц

- *КК – 2 субъединицы – 3 изоформы*

Причины повышения активности клеточных ферментов в крови:

- нарушение проницаемости мембраны клеток (при воспалительных процессах)
- нарушение целостности клеток (при некрозе)
- повышенная пролиферация клеток с ускорением клеточного цикла (например, при онкопролиферативных процессах)
- повышенный синтез ферментов
- обструкция путей секреции ферментов в полости
- снижение клиренса (например, активность амилазы в сыворотке повышается при острой почечной недостаточности)

Клиническое значение определения отдельных ферментов

- Большинство ферментов находятся в клетках и их активность *в сыворотке крови в норме минимальна*. При разрушении клеток соответствующего органа ферменты попадают в кровь и это служит *индикатором повреждения того или иного органа или ткани*, так как определенные ферменты *органоспецифичны*.

Основные ферменты, которые исследуются в лабораториях

- аспаратаминотрансфераза (АсАТ)
- аланинаминотрансфераза (АЛАТ)
- глутаматдегидрогеназа (ГЛД)
- лактатдегидрогеназа (ЛДГ)
- креатинкиназа (КК)
- щелочная фосфатаза (ЛФ)
- кислая фосфатаза (КФ)
- альдолаза (АЛД)
- холинестераза (ХЕ)
- α -амилаза (АМ)
- липаза (ЛП)
- аланинаминопептидаза (ААП)
- глюкозо-6-фосфатаза
- γ -глутамилтрансфераза (ГЛТ)
- аргиназа (Ар)
- сорбитолдегидрогеназа (СД)
- алкогольдегидрогеназа (АДГ)

Аспаратаминотрансфераза

(АСТ; глутамат-оксалоацетат- трансаминаза; GOT L-аспарат: 2-оксоглутаратаминотрансфераза, КФ 2.6.1.1)

Кетоглутарат + L-аспарат \leftrightarrow L-глутамат + оксалоацетат

Источники: сердце, печень, скелетная мускулатура, почки, поджелудочная железа, легкие и др. Миокард, печень и скелетные мышцы являются наиболее богатыми источниками АСТ.

Причины повышения активности в крови:

- инфаркт миокарда;
- вирусный, токсический, алкогольный гепатите;
- стенокардия;
- острый панкреатит;
- рак печени;
- острый ревмокардит;
- тяжелая физическая нагрузка;
- сердечной недостаточность.

АСТ повышен при травмах скелетных мышц, ожогах, тепловом ударе и вследствие кардиохирургических операций.

Аланинаминотрансфераза

(АЛТ; глутамат-пируваттран-саминаза; GPT, L-аланин: 2-оксоглутаратаминотрансаминаза, КФ 2.6.1.2)

L-аланин + α-кетоглутарат <-> пируват + L-глутамат.

Источники: печень, почки, скелетные мышцы, миокард, поджелудочная железа.

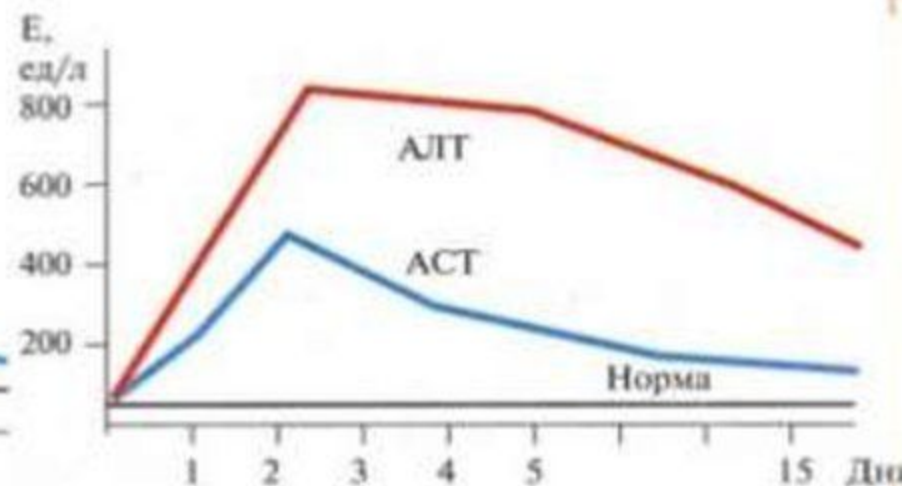
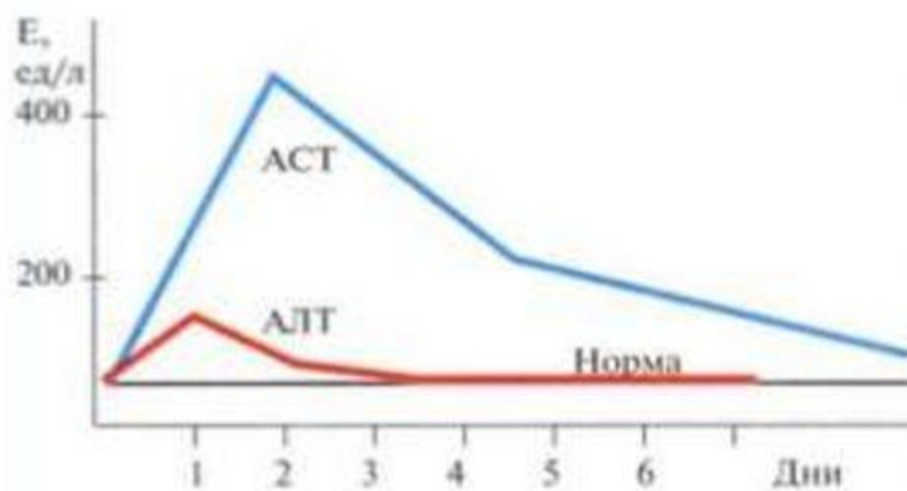
Причины повышения активности в крови:

1. Гепатит и другие заболевания печени (цирроз печени, жировой гепатоз- замещение клеток печени жировыми клетками, рак печени и др.)
2. Инфаркт миокарда - это некроз (гибель) участка сердечной мышцы, в результате которого в кровь выделяются ферменты АЛТ и АСТ.
3. Другие заболевания сердца (миокардит, сердечная недостаточность и др.)
4. Обширные травмы с повреждением мышц, а также ожоги
5. Острый панкреатит - воспаление ткани поджелудочной железы.

Изменение активности трансаминаз

при инфаркте

при остром гепатите



Коэффициент де Ритиса

$$\frac{\text{АСТ}}{\text{АЛТ}} = 1,33$$



1. При остром ИМ активность АСАТ более высока, чем АЛАТ (коэффициент де-Ритиса больше 1,3).
2. При остром вирусном и хроническом гепатитах, особенно на ранних стадиях, активность АЛАТ более высока, чем АСАТ (коэффициент де-Ритиса менее 1,0). Тяжелое поражение печени может изменить это соотношение.
3. При алкогольном гепатите нередко активность АСАТ оказывается выше чем АЛАТ (коэффициент де-Ритиса больше 1,3).

Альфа-амилаза



Альфа-амилаза (1,4- α -D-глюкан глюканогидролаза; КФ 3.2.1.1) относится к группе гидролаз, катализирующих гидролиз полисахаридов до моно- и дисахаридов (мальтоза, глюкоза), разрушая связи между 1 и 4 атомами углерода

Альфа-амилаза



Плазма крови человека содержит альфа-амилазы двух изозимных типов:

- панкреатическую (Р-тип), вырабатываемую поджелудочной железой (40%)
- слюнную (S-тип), продуцируемую слюнными железами (60%)

Уровень активности альфа-амилазы в норме:

- в сыворотке 25–220 МЕ/л;
- в моче 10–490 МЕ/л

Альфа-амилаза



- Выявление гиперамилаземи и гиперамилазурии является важным, но не специфическим тестом для острого панкреатита; кроме того, повышение ее активности может быть кратковременным. Для повышения информативности полученных результатов исследования полезно определение активности амилазы крови и мочи сочетать с параллельным определением концентрации креатинина в моче и сыворотке крови. На основании этих данных рассчитывают индекс амилазо-креатининового клиренса по формуле

Альфа-амилаза



- АМ · КРС · 100
- КРМ · АС

- где:
- АМ – амилаза мочи
- АС – амилаза сыворотки
- КРМ – креатинин в моче
- КРС – креатинин в сыворотке

Альфа-амилаза



- В норме амилазо-креатининовый индекс не выше 3
- Превышение считается признаком панкреатита, так как при панкреатите возрастает уровень истинно панкреатической амилазы, и ее клиренс осуществляется на 80 % быстрее клиренса амилазы слюны

Креатинкиназа



- Креатинкиназа или креатинфосфокиназа (КК; КФ 2.7.3.2.) катализирует обратимую реакцию фосфорилирования креатинина с участием АТФ в результате чего образуются креатинфосфат и АДФ.

Креатинкиназа



- Фермент существует в виде трех изоферментов:
 - КК-ВВ (КК-1) – мозговой,
 - КК-МВ (КК-2) – сердечный
 - КК-ММ (КК-3) – мышечный

Креатинкиназа

- Увеличение **общей КК:**
 - травмы,
 - операции,
 - инфаркт миокарда,
 - уменьшение кровоснабжения мышц,
 - миопатии,
 - дерматомиозит,
 - мышечные дистрофии,
 - миокардиты,
 - отравления, сопровождающиеся комой,
 - инфекционные болезни (например, брюшной тиф).



Креатинкиназа



- **КК-ММ** увеличивается в сыворотке при тех же состояниях, как и общая КК.



Креатинкиназа



- **КК-МВ**
- увеличивается более чем в 1,5 раза при:
 - инфаркте миокарда
- незначительно увеличивается при:
 - миокардитах
 - стенокардии
 - затяжной аритмии
 - шоке
 - тяжелых отравлениях



Креатинкиназа



- **КК-ВВ**
- незначительно повышается при:
 - некоторых формах рака
 - травме сердечной мышцы
 - заболеваниях соединительной ткани
 - у новорожденных при родовой травме мозга
- увеличиваться в 6 раз при:
 - родах (источником являются матка и плацента)



Лактатдегидрогеназа



- Лактатдегидрогеназа (ЛДГ; КФ 1.1.1.27) катализирует обратимое восстановление пирувата до лактата, в качестве кофермента используется НАДН



Лактатдегидрогеназа



- ЛДГ имеет молекулярную массу около 134 кДа.
- ЛДГ тетрамер, состоящий из двух субъединиц – М (*muscle* – мышечная) и Н (*heart* – сердечная).
- В сыворотке присутствуют 5 изоферментов, различающиеся составом субъединиц.



Изоферменты Лактатдегидрогеназы



| Вид | Состав | Содержание в сыворотке |
|--------------|---------------|-------------------------------|
| ЛДГ-1 | H4 | 15–30 % |
| ЛДГ-2 | H3M | 22–50 % |
| ЛДГ-3 | H2M2 | 15–30 %; |
| ЛДГ-4 | H1M3 | 0–15 % |
| ЛДГ-5 | M4 | 0–15 % |



Лактатдегидрогеназа



- Однократное исследование ЛДГ-1 обладает клинической специфичностью в отношении инфаркта миокарда в 66 % случаев, а определение ее в динамике (через каждые 4–6 часов в течение суток) – в 86 %



Лактатдегидрогеназа



- ЛДГ₂, ЛДГ₃ и ЛДГ₄ обладают промежуточными свойствами. Активность этих изоферментов повышается при массивном разрушении тромбоцитов (эмболия легочной артерии, массивные гемотрансфузии) и вовлечении в патологический процесс лимфатической системы.



Лактатдегидрогеназа



- При нелимфоцитарных лейкозах увеличивается активность **ЛДГ3** и **ЛДГ4**
- Увеличение **ЛДГ3** иногда наблюдается при острых панкреатитах



Лактатдегидрогеназа



- Активность **ЛДГ₄** возрастает при:
 - поражении печени
 - в активную фазу ревматизма
 - кардиосклерозе с нарушением гемодинамики
 - остром нефрите
 - поражениях почек
 - опухолях печени, предстательной железы, шейки матки, молочной железы, кишечника
 - тяжелых формах диабета



Лактатдегидрогеназа

● ЛДГ 5

- Наибольшее содержание этого изофермента характерно для скелетных мышц, печени, кожи, слизистых оболочек, а также клеток некоторых злокачественных опухолей.
-
- Значительное увеличение отмечается при:
 - травмах, воспалительных и дегенеративных заболеваниях мышц
 - многих болезнях печени (гепатиты, циррозы и др.).
 - онкологических заболеваниях (например лимфолейкозы)
 - активная фаза ревматизма
 - глубоких поражениях почек, сопровождающихся их гипоксией, опухолях почек и отторжении пересаженной почки
 - при тяжелых формах диабета



Щелочная фосфатаза



- Оптимум рН щелочной фосфатазы лежит в щелочной среде (рН 8,6–10,1).
- Фермент расположен на клеточной мембране и принимает участие в транспорте фосфора.



Щелочная фосфатаза



- В сыворотке несколько изоферментов ЩФ, **семь** из которых имеют наибольшее клинико-диагностическое значение.
- Для диагностических целей чаще всего проводят определение активности костной и печеночной форм фосфатазы



Щелочная фосфатаза



- *ЩФ -1 костная*
- *ЩФ-2 печеночная*
- *ЩФ-3 желчи (холестаза)*
- *ЩФ-4 кишечная*
- *ЩФ-5 почечная*
- *ЩФ-6 плацентарная*
- *ЩФ-7 неидентифицированные изоферменты*



Кислая фосфатаза



- Определение кислой фосфатазы в сыворотке обычно используют для выявления или мониторинга рака простаты у мужчин



ОБЩИЕ ПРАВИЛА ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ



- **О количестве фермента можно судить только косвенно по его активности, т. е. по производимому ферментом действию. Присутствие и количество**
- **фермента распознается по специфичности и скорости катализируемой им реакции.**
- *Методы определения активности фермента:*
- *по скорости накопления продуктов ферментативной реакции*
- *по скорости убыли субстрата*
- *Рекомендуется активность ферментов определять по начальной скорости реакции, когда количество превращенного субстрата не превышает 20% от исходного.*



Методы определения активности ферментов



- В КДЛ наиболее часто - колориметрические и спектрофотометрические методы.
- **Колориметрические методы** - измерение (ФЭК) интенсивности окраски вещества, образующегося при взаимодействии субстрата или продукта действия фермента со специфическими реактивами, добавленными в пробу, как правило, после остановки ферментативной реакции.
- **Спектрофотометрические методы** – основаны на изменении светопоглощения в ультрафиолетовом спектре при переходе вещества из окисленной формы в восстановленную. Определение активности ферментов, основанное на разнице спектров поглощения окисленной и восстановленной форм НАД и НАДФ, получило название **оптического теста Варбурга**



Международная единица активности

ПРЕВРАЩЕНИЕ 1 МКМОЛЯ СУБСТРАТА ИЛИ ПОЛУЧЕНИЕ 1
МКМОЛЯ
ПРОДУКТА В МИНУТУ В СТАНДАРТНЫХ ОПТИМАЛЬНЫХ
УСЛОВИЯХ

$$1 \text{ кат.} = 6 \cdot 10^7 \text{ МЕ}$$
$$1 \text{ МЕ} = 16.67 \cdot 10^{-9} \text{ кат.}$$

Единица активности в системе СИ – катал
(кат.) –
количество фермента, которое катализирует
превращение 1 моля субстрата или получение
1 моля продукта в секунду



СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

