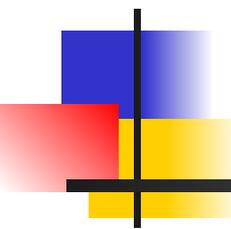


# ФЕРМЕНТЫ

материал по лекции с  
дополнениями для студентов ЛФС



---

**Т.В.ЖАВОРОНОК**

профессор кафедры биохимии  
и молекулярной биологии  
с курсом КЛД  
СибГМУ

# Ферменты

от латинского *fermentum*  
брожение, закваска

# Энзимы

от греческого *enzyme*  
ЭН – в, ЗИМ – закваска,  
дрожжи

**Энзимология – наука  
о ферментах**

- Практически все химические реакции в живых организмах протекают при участии ферментов.
- Для клетки ферменты абсолютно необходимы, без них клетка, а, следовательно, и жизнь не могли бы существовать.
- Они играют решающую роль в важнейших биологических процессах:
  - обмене веществ,
  - мышечном сокращении,
  - обезвреживании чужеродных веществ,
  - передаче сигнала,
  - транспорте веществ,
  - свертывании крови и многих других.
- Ферменты ускоряют химические реакции в  $10^8 - 10^{20}$  раз.

# Ферменты – белки и РНК

- Первый кристаллический **белок-фермент** (уреаза) выделен в 1926 г американским биохимиком Д.Самнером
- Много позже способность осуществлять катализ обнаружена не только у энзимов, но и у отдельных РНК; их называли «рибозимы» или **РНК-ферменты**.  
Пример. Рибонуклеаза Р – фермент, расщепляющий РНК. Он состоит из 2 компонентов: РНК+полипептид. При высокой концентрации ионов магния наличие белкового компонента становится ненужным. Катализировать реакцию может и одна РНК. От всех ферментов рибозимы составляют незначительную часть, поэтому далее везде: **фермент – это белок**.
- **ФЕРМЕНТЫ**
  - 1) катализаторы: **ускоряют** течение **биохимических реакций**
  - 2) посредники: **реализуют генетическую информацию, осуществляют все процессы обмена веществ и энергии**
- Ферменты присутствуют во всех клетках
- Известно более 2000 ферментов

# **Общие свойства ферментов и химических катализаторов небелковой природы**

- **Не могут возбудить реакций, противоречащих законам термодинамики. Не меняют направления реакции. Лишь ускоряют реакции, протекающие и без них.**
- **Не смещают положение равновесия, только ускоряют его достижение.**
- **Не тратятся в процессе катализа, не входят в состав конечных продуктов реакции, выходят из реакции в неизменном виде**

# Отличительные признаки

## ферментативного и химического катализа

- Скорость ферментативного катализа намного выше, чем небиологического
- У ферментов высокая специфичность
- Ферментативные процессы не дают побочных реакций
- Ферменты катализируют реакции в мягких условиях
- Ферменты регулируются
- Скорость ферментативной реакции прямо пропорциональна количеству фермента

# ФЕРМЕНТЫ - ГЛОБУЛЯРНЫЕ БЕЛКИ

## (ПРОСТЫЕ И СЛОЖНЫЕ)

- $\approx$  половина ферментов – **простые белки**  
(пепсин, трипсин, лизоцим)
- **Сложные** ферменты состоят из 2 компонентов



# Кофактор сложного фермента

- **ПРОСТЕТИЧЕСКАЯ ГРУППА** - прочно связана с белковой частью
- **КОФЕРМЕНТ** - легко отделяется от апофермента и способен к самостоятельному существованию



Соединение в **ХОЛОФЕРМЕНТ** чаще нековалентно разными типами связей

# Схема строения фермента



**Роль функциональных каталитических групп активного центра выполняют у простых ферментов – боковые радикалы АК (-SH, -OH и др.), у сложных – кофакторы**

# **ФУНКЦИИ КОФАКТОРОВ** (коферментов и простетических групп)

1. Участие в акте катализа
2. Осуществление контакта между энзимом и субстратом
3. Стабилизация апофермента

**роль апофермента:** белковая часть – основа фермента, усиливает каталитическую активность кофактора (небелковой части). Апофермент без небелковой части обычно нефункционален.

- Кофакторами могут быть
  - 1) неорганические вещества (Fe, Zn, ионы)
  - 2) органические молекулы

# КЛАССИФИКАЦИЯ КОФАКТОРОВ



## 1. ВИТАМИНЫ, ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

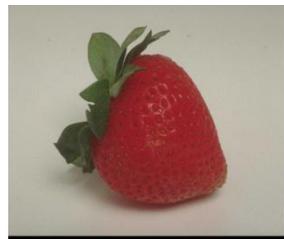
Большинство витаминов или соединений, построенных с участием витаминов

- - **тиаминовые** (**B<sub>1</sub>** – ТМФ, ТДФ, ТТФ) - коферменты **лиаз**: разрушают ковалентную связь негидролитическим путём
- - **флавиновые** (**B<sub>2</sub>** – ФМН, ФАД)
- - **пантотеновые** (**B<sub>3</sub>** – HS-КоА)

- - **никотинамидные** (**B<sub>5</sub>** = РР = ниацин – НАД<sup>+</sup>, НАДФ<sup>+</sup>)

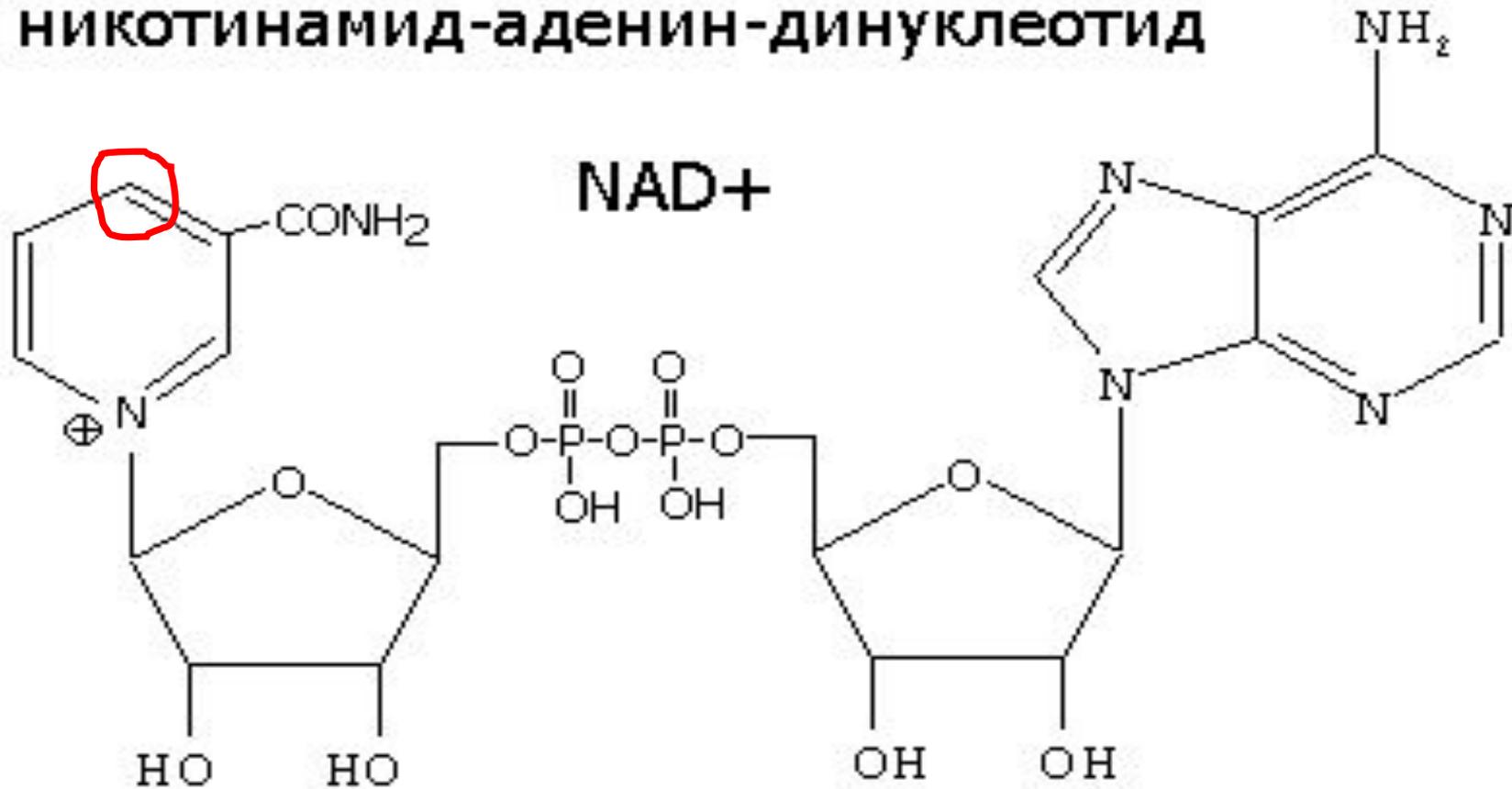
Витамины B<sub>2</sub>, B<sub>3</sub>, B<sub>5</sub> – в коферментах **оксидоредуктаз**, O/V реакции

- - **пиридоксиновые** (**B<sub>6</sub>** – пиридоксальфосфат), ферменты **метаболизма аминокислот** – дезаминирование, декарбоксилирование
- - **фолиевые** (**B<sub>9</sub>** = B<sub>c</sub> – ТГФК), ферменты **переноса** одноуглеродных фрагментов: -CH<sub>3</sub>, =CH-, -CH<sub>2</sub>-, -CHO, -CH<sub>2</sub>OH
- - **биотиновые** (вит **H** = биоцитин), ферменты реакций карбоксилирования (+CO<sub>2</sub>)



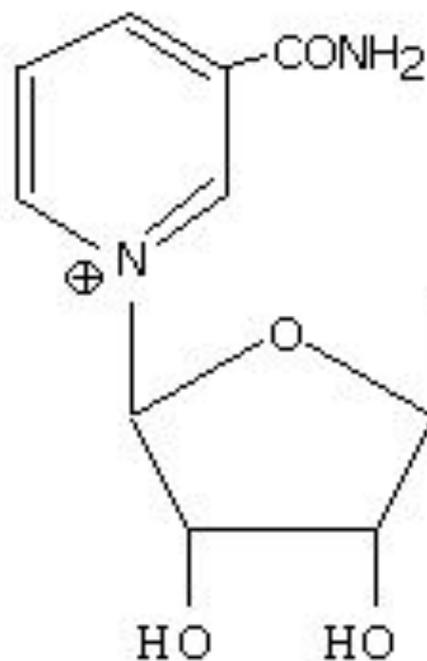
## а) В<sub>5</sub> КОФЕРМЕНТЫ NAD<sup>+</sup> и NADP<sup>+</sup>

НИКОТИНАМИД-АДЕНИН-ДИНУКЛЕОТИД

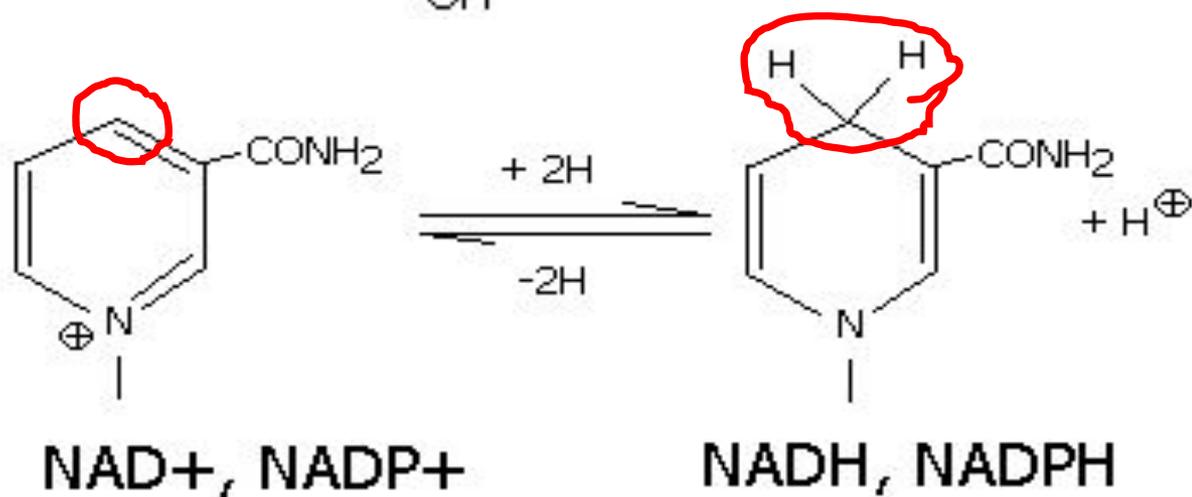
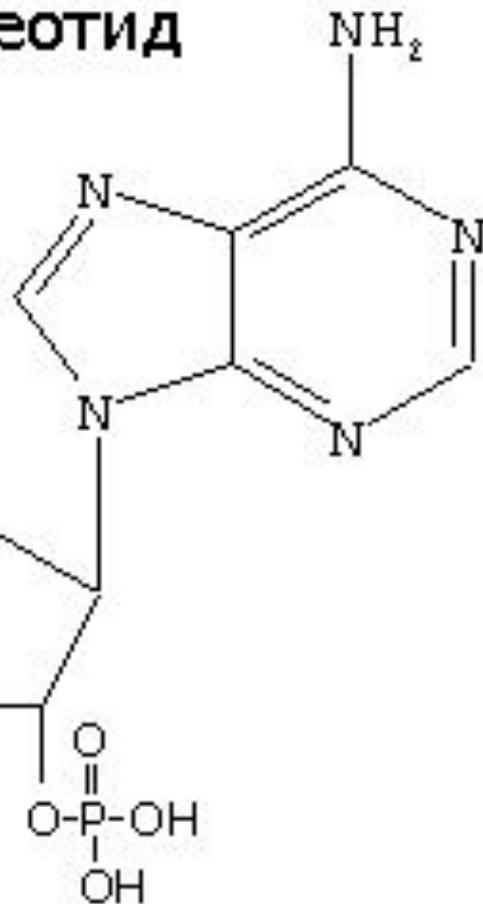


**Дегидрогеназы, содержащие NAD<sup>+</sup> или NADP<sup>+</sup>, катализируют перенос H от субстрата к никотинамидной части кофермента**

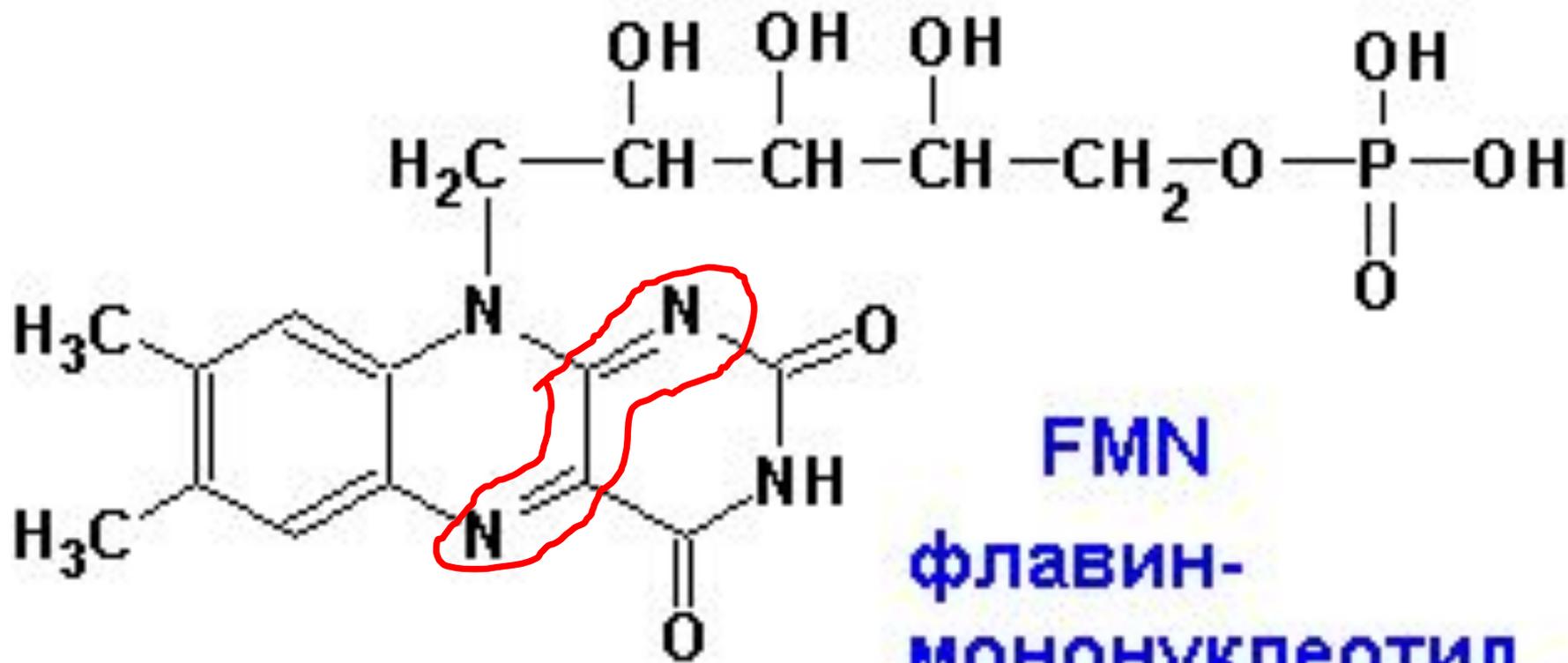
# НИКОТИНАМИД-АДЕНИН-ДИНУКЛЕОТИД ФОСФОРИЛИРОВАННЫЙ



NADP<sup>+</sup>



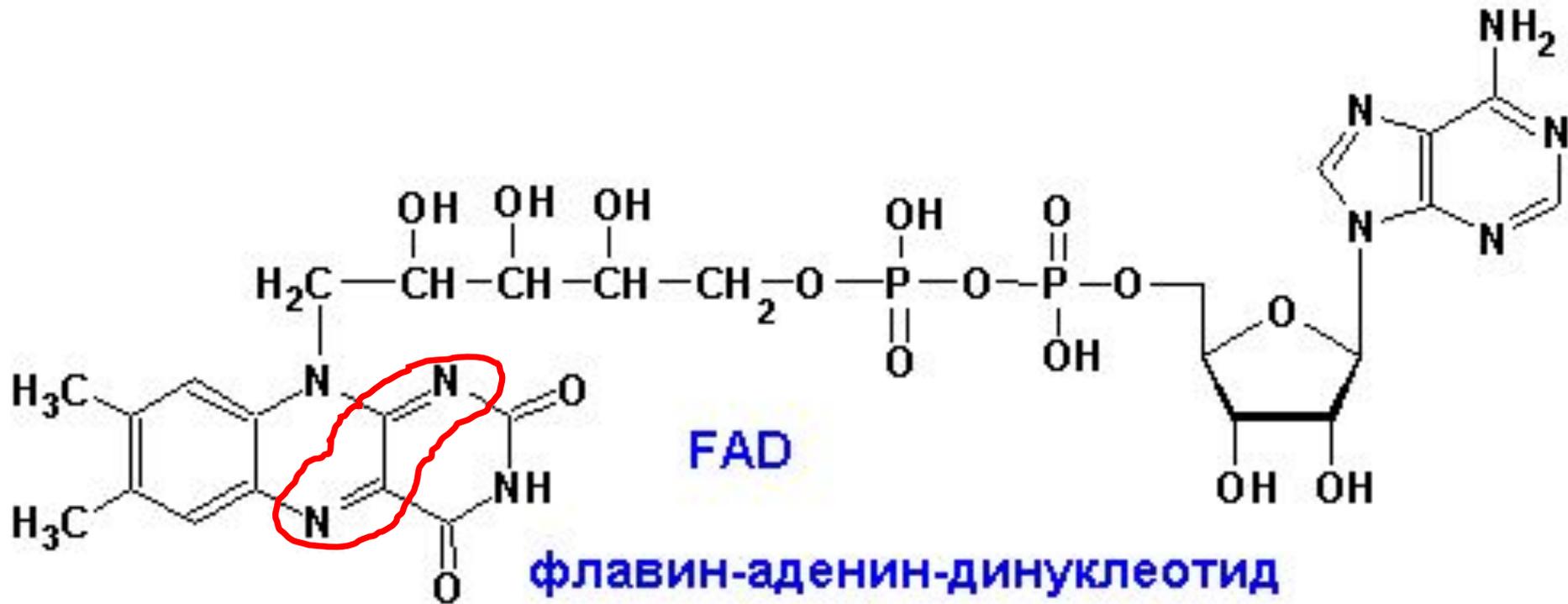
## Б) В<sub>2</sub> ФЛАВИНОВЫЕ ПРОСТЕТИЧЕСКИЕ ГРУППЫ



FMN

флавин-  
моноклеотид

(рибофлавин-5'-фосфат)



## FMN и FAD: 1) катализируют переходы

спирты → альдегиды

амины → имины

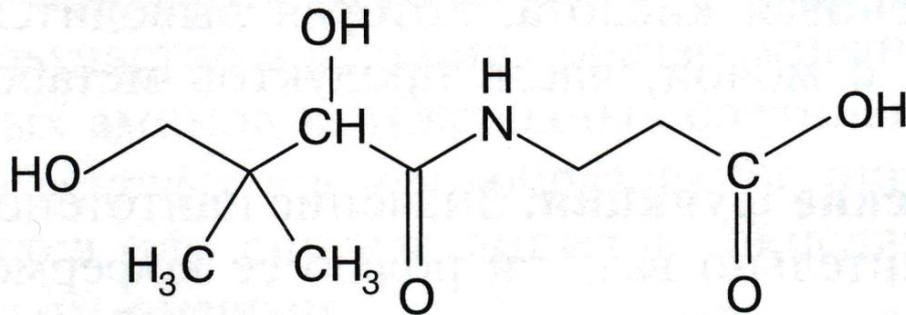
насыщ. карбонильные → ненасыщ. карбонильные

$\text{NADH}, \text{NADPH} \rightarrow \text{NAD}^+, \text{NADP}^+$

## 2) могут передавать $\text{H}^+$ непосредственно на $\text{O}_2$

$\text{FADH}_2, \text{FMNH}_2 + \text{O}_2 \rightarrow \text{FAD}, \text{FMN} + \text{H}_2\text{O}_2$

## В) В<sub>3</sub> КОЭНЗИМ А



пантовая кислота

β-аланин

пантотеновая кислота

пантотен → 4'-фосфопантотеин → **КоА-SH**

**КОФЕРМЕНТ АЦИЛИРОВАНИЯ**

перенос **АЦЕТИЛЬНЫХ, АЦИЛЬНЫХ ГРУПП**

кофермент присоединяется к субстрату

с образованием ацетил-КоА или ацил-КоА

# 2. НЕВИТАМИННЫЕ

- 1) **нуклеотидного типа:**

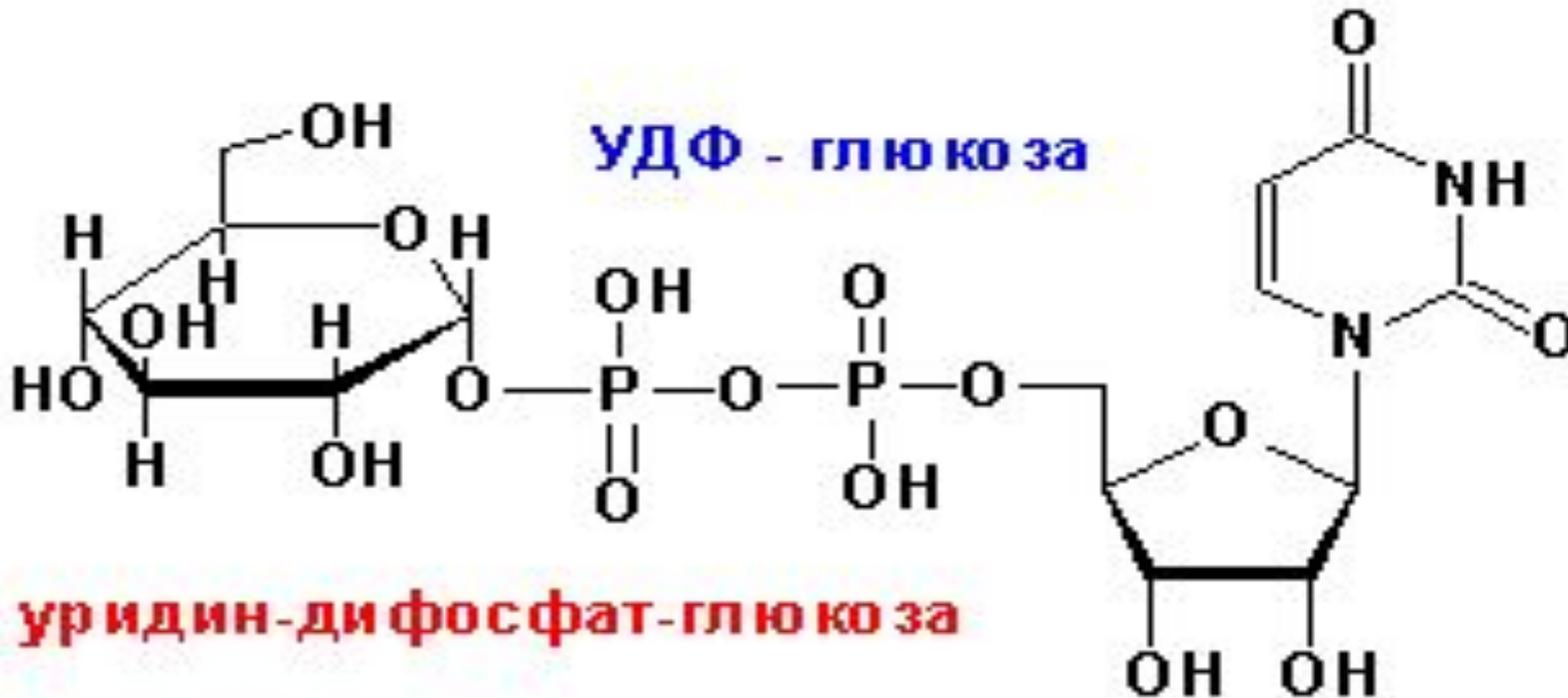
**нуклеотиды и их производные**  
**реакции переноса, ферменты – трансферазы**

**а) НУКЛЕОЗИД-ТРИФОСФАТЫ**

**АТФ, УТФ, ГТФ, ЦТФ**

коферменты фосфотрансфераз: перенос  
ФОСФАТА, ПИРОФОСФАТА,  
АМФ ИЛИ АДЕНОЗИНА

## 6) НУКЛЕОЗИД-ДИФОСФАТ-САХАРА



- **УДФ-ГЛЮКОЗА** – кофермент переноса остатка углевода



К невитаминным кофакторам также относят

- **2) металлопорфириновые**  
(гем у каталазы, пероксидаз)
- **3) фосфорные эфиры некоторых моносахаридов**
- **4) пептиды** (GSH = трипептид глутатион:  
γ-глу-цис-гли)

### 3. ИОНЫ МЕТАЛЛОВ

входят в состав активного центра,  
без них фермент неактивен  
(Cu, Zn у супероксиддисмутазы).

Ионы металлов могут связаться и **с алло-стерическим центром**, тогда они являются **активаторами** (или **ингибиторами**)

# Классификация и НОМЕНКЛАТУРА ФЕРМЕНТОВ

Вначале называли по случайным признакам  
(**тривиальная номенклатура** – пепсин, трипсин...)

Сейчас используется двойная номенклатура:

- **1) Рабочие названия:**

название субстрата, тип реакции, окончание "аза"

**ЛАКТАТ** + **дегидрогенизация** + **АЗА** = **лактатдегидрогеназа**

- **2) Систематические названия:**

название субстратов (через дробь), название  
типа химического превращения, аза

**"L-лактат:NAD<sup>+</sup> оксидоредуктаза"** = **лактатдегидрогеназа**

# Международная классификация

Утверждена в 1961 г.

КФ - русскоязычная, ЕС - англоязычная

- В её основе механизм реакции, то есть тип реакции, катализируемой ферментом

**Каждый фермент имеет свой шифр**

Например, шифр малатдегидрогеназы **КФ 1.1.1.37**

первая цифра – класс (тип реакции)

вторая – подкласс (природа атакуемой химической группы субстрата)

третья – подподкласс (природа акцептора или атакуемой связи)

четвертая – номер фермента

# КЛАССЫ ФЕРМЕНТОВ

Всё многообразиие реакций сводится к 6 типам  
(СМ реакции в приложении к ПРАКТИКУМУ!!!)

## 1. Оксидоредуктазы

- подклассов 17 : Дегидрогеназы, Оксидазы, Монооксидазы, Пероксидазы и каталазы, Оксигеназы и другие.
- реакции окисления-восстановления субстрат, подвергающийся окислению, выступает донором водорода
- небелковая часть:  
гем или производные витаминов В<sub>2</sub>, В<sub>5</sub>

## 2. Трансферазы

- **Подклассы:** Метил-, Карбоксил- и карбамоил-, Ацил-, Гексозил-, Амино-, Фосфотрансферазы ...
- **реакции** переноса различных групп с одной молекулы на другую
- **Кофакторы:** Кофермент А, пиридоксаль и другие

## 3. Гидролазы

- **Подклассы:** Эстеразы (липаза), Гликозидазы (амилаза), Пептидазы (трипсин),
- **реакции** гидролиза – разрыв связей с присоединением по месту разрыва молекул воды (преимущественно пищеварительные ферменты)
- **однокомпонентные** – не содержат небелковой части

## 4. Лиазы или Синтазы

- **Подклассы:** Лиазы связи С-О, Лиазы связи С-N, Лиазы связи С-S и другие. Чаще всего по двойным связям. Реакции, кроме синтеза связей С-С.
- **реакции** соединения или расщепления молекул без присоединения воды, без затраты энергии
- **небелковая часть** – тиаминпирофосфат (В1), пиридоксальфосфат (В6)

## 5. Изомеразы

- **реакции** изомеризации, т.е. изменение строения внутри одной молекулы

## 6. Лигаза или Синтетаза

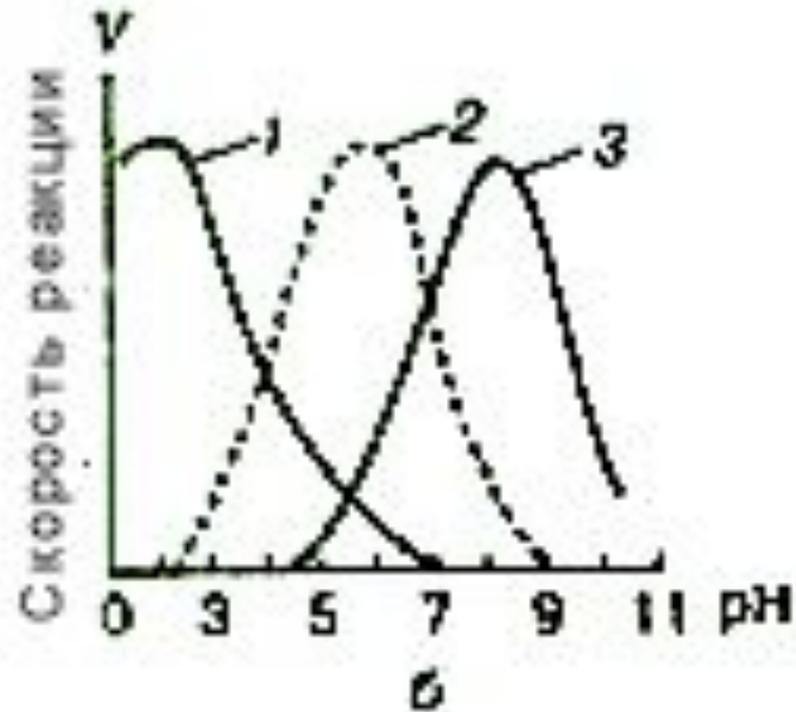
- **реакции** синтеза сложных веществ из простых: похожи на лиазы, но с затратой АТФ. Синтез связей С-С.

(к практическим занятиям – все 6 классов с основными подклассами и примерами реакций, подробно см. в практикуме по БХ для ЛФ)

# СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ

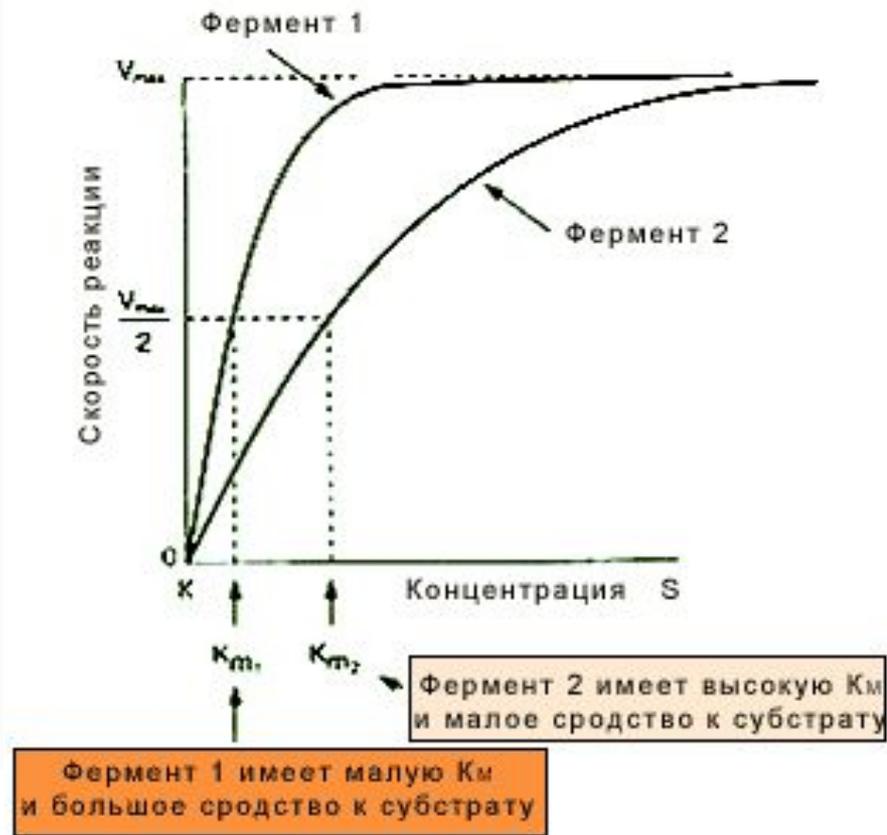
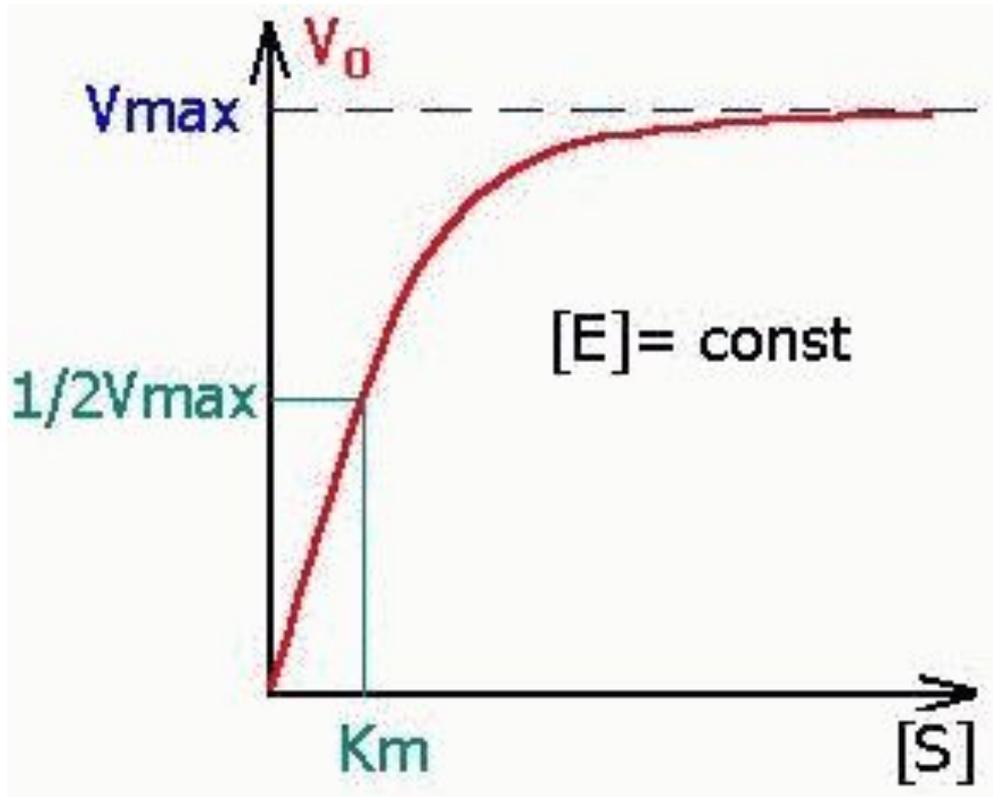


1. Термолабильность. Температурный оптимум



## 2. Зависимость активности фермента от значения pH среды

изменение pH меняет заряд молекулы белка, её конформацию, влияет на степень ионизации субстрата, ES-комплекса, продуктов реакции  
 pH пепсина=1,5; pH аргиназы=9,7



### 3. Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата $[S]$

$K_m$  - константа Михаэлиса

*Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата может быть описана уравнением:*

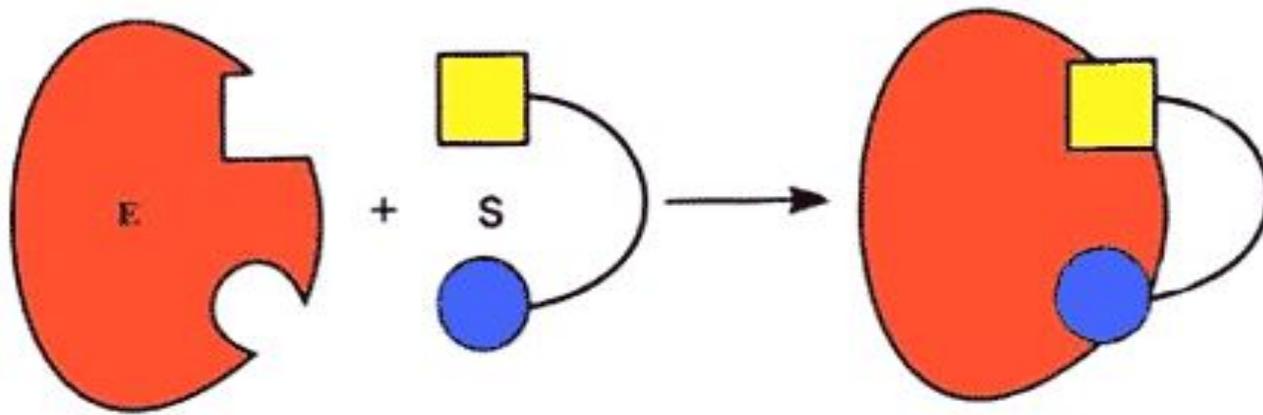
$$V = \frac{V_{\max}}{1 + \frac{K_m}{S}},$$

- $V$  - скорость ферментативной реакции,
- $V_{\max}$  - максимальная скорость реакции при бесконечно большой концентрации субстрата,
- $S$  - концентрация субстрата в моль/л,
- **$K_m$  - константа Михаэлиса** (соответствует концентрации субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной и служит мерой химического сродства между ферментом и субстратом, мерой их способности образовывать фермент-субстратный комплекс).

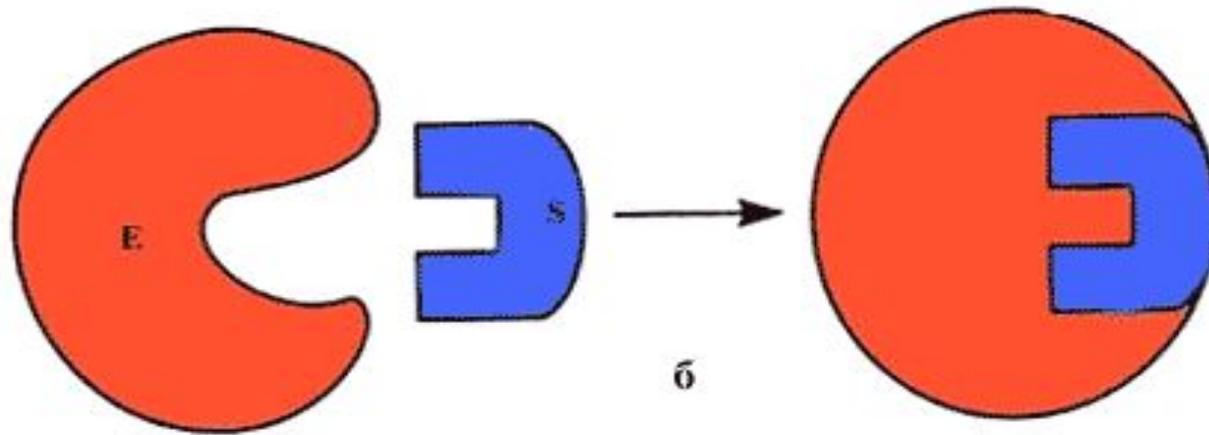
## 4. Специфичность фермента

Основана на строгой комплементарности структуры субстрата и активного центра

- **Абсолютная** катализ определенного типа реакции с превращением единственного субстрата (сахараза - гидролиз сахарозы на глюкозу и фруктозу, уреаза – гидролиз мочевины)
- **Стереоспецифичность** (цис- или транс-изомеры, D- или L-аминокислоты)
- **Относительная (групповая)** катализ превращений группы близких по свойствам субстратов: определённая связь или группа пепсин ускоряет гидролиз пептидных связей циклических аминокислот в любых белках



а



б

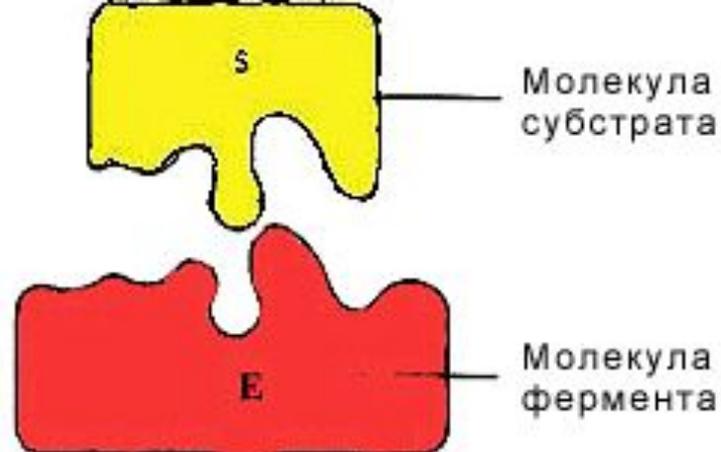
## Модели взаимодействия E с S:

а) модель "жесткой матрицы" Э.Фишера

б) модель "перчатка-рука" Д.Кошланда

в) гипотеза ТОПОХИМИЧЕСКОГО соответствия

- 1. Статическая гипотеза Э. Фишера 1894 г.** – фермент подходит к субстрату, как **"ключ к замку"**. Абсолютная специфичность действия фермента предопределяется строгим соответствием геометрической структуры активного центра и **S**
- 2. Д. Кошланд в 50-е годы XX века: гипотеза об индуцированном соответствии субстрата и фермента.** Соответствие структуры **S** и активного центра создается в момент взаимодействия с якорным участком (допускается гибкость активного центра фермента). Выражается формулой **"перчатка - рука"**. При этом в субстрате уже деформируются некоторые валентные связи, и он подготавливается к дальнейшему каталитическому видоизменению, а фермент меняет конформацию. Гипотеза объясняет активирование и ингибирование действия ферментов и регуляцию их активности при воздействии различных факторов
- 3. В настоящее время гипотеза Кошланда вытесняется гипотезой топохимического соответствия.** Сохраняются основные положения гипотезы об индуцированном соответствии субстрата и фермента, но специфичность действия фермента объясняется в первую очередь узнаванием части **S** которая не изменяется при катализе. Между этой частью **S** и субстратными участками активного центра фермента возникают многочисленные точечные гидрофобные взаимодействия и водородные связи

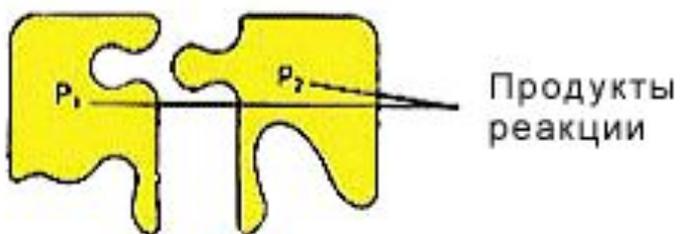


I. Активация фермента

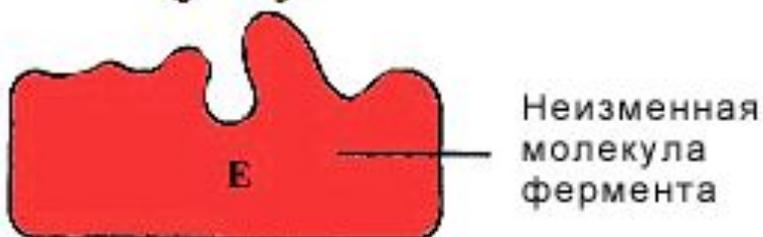
II. Узнавание ферментом своего субстрата



III. Образование неактивного фермент-субстратного комплекса с помощью слабых водородных связей между субстратом и аминокислотами контактных участков



IV. Образование активного фермент-субстратного комплекса за счет каталитического участка



V. Образование продуктов реакции.

# Механизмы катализа

Известно 6 видов катализа

- 1) кислотно-основный
- 2) ковалентный
- 3) с участием ионов металлов
- 4) электростатический
- 5) связанный с эффектами ориентации и сближения
- 6) основанный на формировании предпочтительного переходного состояния фермент-субстратного комплекса

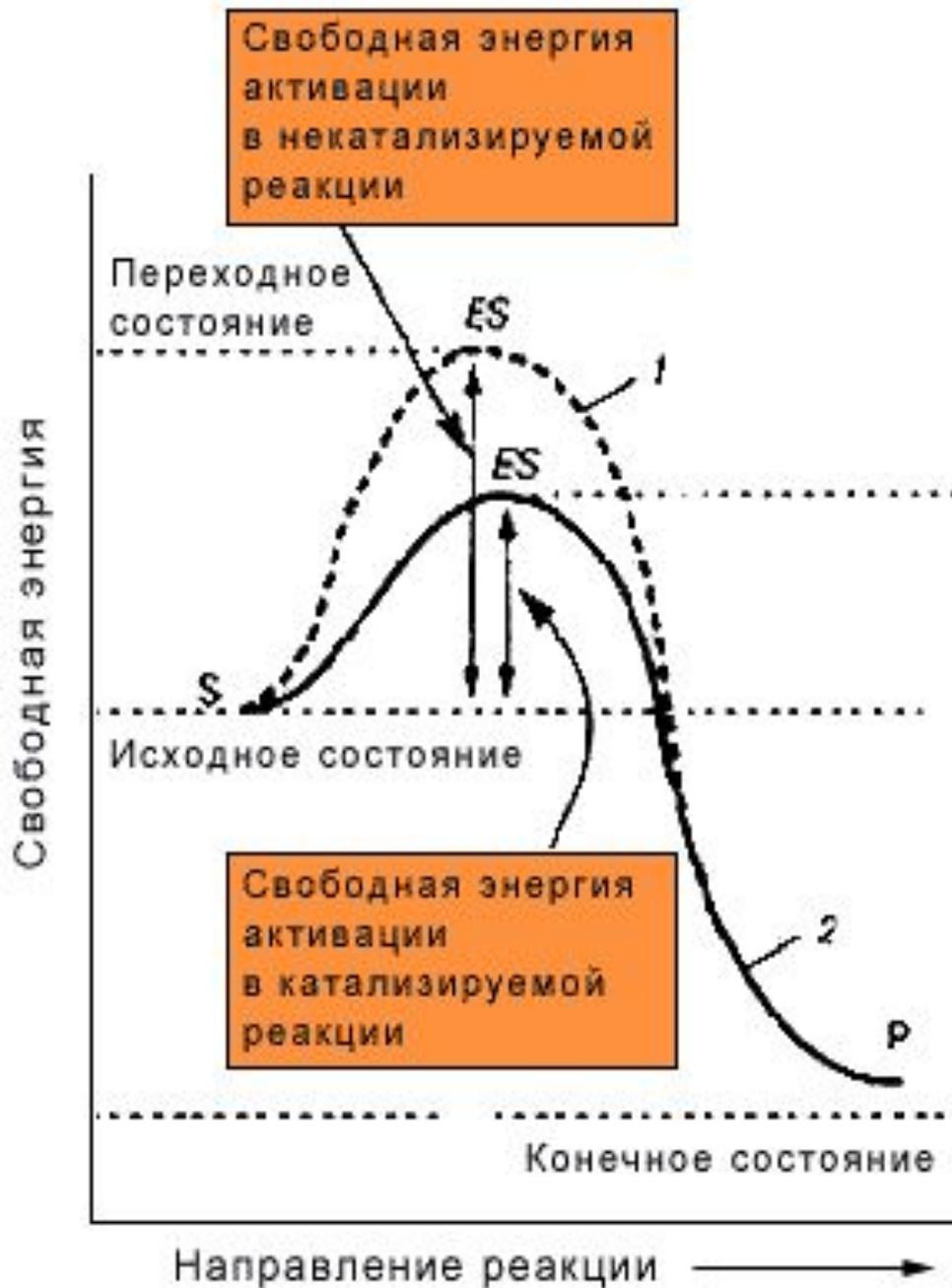
# Примеры механизмов катализа

- **1. Кислотно-основный катализ** – в активном центре фермента находятся группы специфических аминокислотных остатков, которые являются хорошими донорами или акцепторами протонов. Такие группы – мощные катализаторы органических реакций.
  - Доноры:  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_3^+$ ,  $-\text{SH}$   
Акцепторы:  $-\text{COO}^-$ ,  $-\text{NH}_2$ ,  $-\text{S}^-$
- **2. Ковалентный катализ** – ферменты реагируют со своими субстратами, образуя очень нестабильные, ковалентно связанные, фермент-субстратные комплексы, из которых в ходе последовательных реакций образуются продукты (пируват–тиаминДФ в 1-й реакции ПДГ-комплекса)

# Кинетика – учение о скорости химических реакций организма и факторах, влияющих на неё

- **Скорость реакции** – изменение концентрации реагирующих веществ, происходящее в единицу времени.  
**Ферменты (как катализаторы) с точки зрения термодинамики ускоряют химические реакции за счёт снижения энергии активации.**
- **Энергия активации** - количество энергии, необходимое грамм-молекуле реагирующего вещества для преодоления энергетического барьера (считают в кДж/моль).
- **Энергетический барьер** создают межмолекулярные силы отталкивания и внутримолекулярные силы сцепления (прочность химических связей).  
Особенно много энергии нужно для разрыва **ковалентных** связей, преобладающих в молекулах органических веществ.

# КИНЕТИКА ФЕРМЕНТАТИВНОГО КАТАЛИЗА



**фермент**  
**субстрат**  
**продукт**



E-S быстро  
E-P медленно

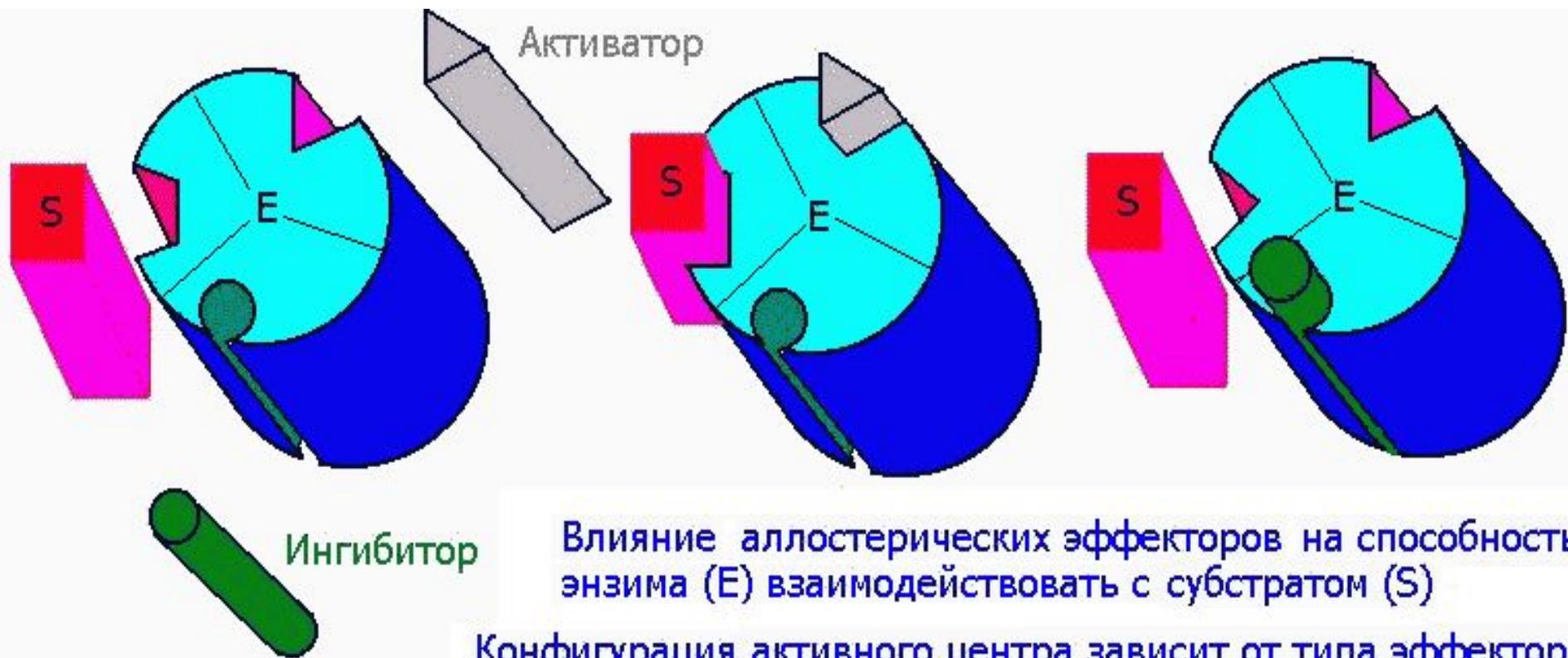
# Регуляция активности ферментов

- I. **эфффекторами**: а) активаторы  
б) ингибиторы
- II. в том числе **аллостерические механизмы**
- III. **концентрацией субстрата [S]**
- IV. с помощью **белок-белковых взаимодействий**
  - тип А: присоединение регуляторных белков
  - тип Б: ассоциация-диссоциация протомеров
- V. **ковалентная модификация**:
  - а) ограниченный протеолиз
  - б) присоединение/отсоединение фрагментов
- VI. **Компартментализация** в клетке, организме

# аллостерическая регуляция

**allos** - другой, чужой, **steros** – пространство, структура

- **АЛЛОСТЕРИЧЕСКИЙ ЦЕНТР** – пространственно отделённый от активного центра участок молекулы фермента, через который **регулируется каталитическая активность**
- Влияя на аллостерический центр, **эффектор** меняет третичную структуру фермента, поэтому **меняется и конфигурация активного центра.**
- Если при этом присоединение субстрата облегчается, то эффектор – **активатор**, становится невозможным, то – **ингибитор**
- В качестве такого эффектора-регулятора чаще всего выступает продукт данной реакции или одной из последующих реакций.



Влияние аллостерических эффекторов на способность энзима (E) взаимодействовать с субстратом (S)

Конфигурация активного центра зависит от типа эффектора

## Аллостерических центров у фермента может быть несколько – одинаковых или разных

Ферменты с четвертичной структурой состоят из четного количества СУБЪЕДИНИЦ. Часто одни субъединицы – КАТАЛИТИЧЕСКИЕ, другие – РЕГУЛЯТОРНЫЕ

# Активаторы

**ферменты** переходят в активную форму под влиянием **активаторов**. Например,

- **Ионы.**

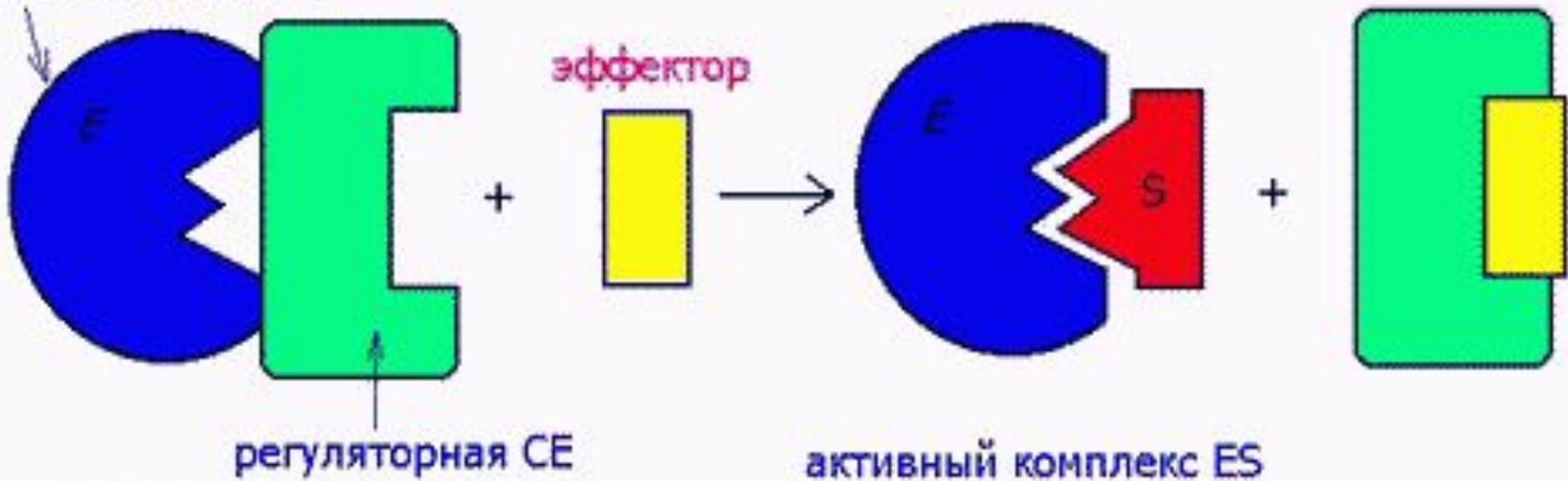
Ионы хлора – активаторы амилазы (фермент гидролизует крахмал)

- .Пепсин образуется из неактивного пепсиногена под влиянием высокой концентрации водородных ионов

- **Гормоны.**

Инсулин увеличивает активность инсулинового рецептора (это рецептор-фермент, который активирует ряд белков и ферментов: например, гексокиназы, превращающей свободную глюкозу в фосфорный эфир – глюкозофосфат)

каталитическая СЕ



*неактивный фермент*

**Протеинкиназы** состоят из 2-х субъединиц - каталитической и регуляторной. **Эффектор (активатор)** воздействует на регуляторную, и в результате диссоциации субъединиц обнажается активный центр каталитической

# Ингибиторы

- **Необратимые** связываются ковалентно
- **Обратимые** связываются нековалентно

## Ингибирование бывает:

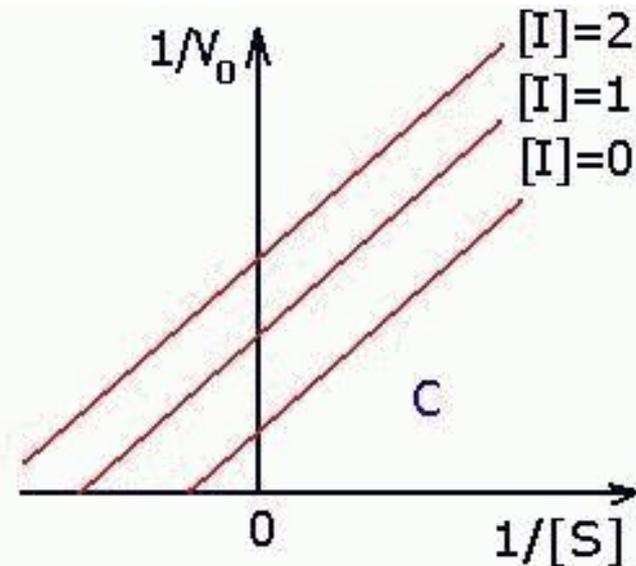
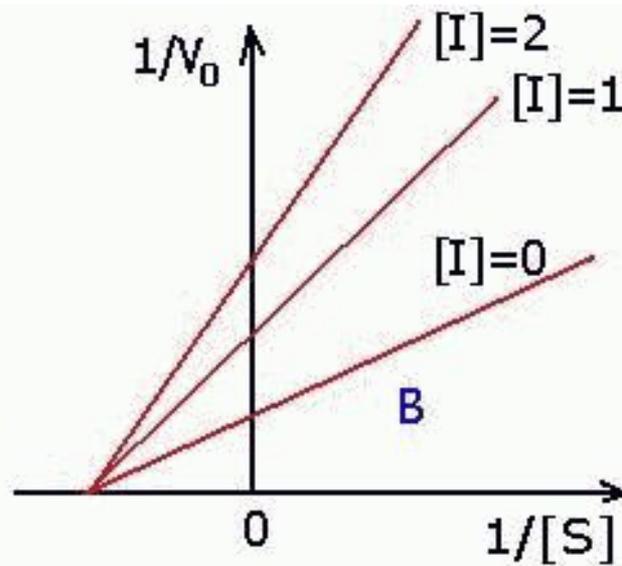
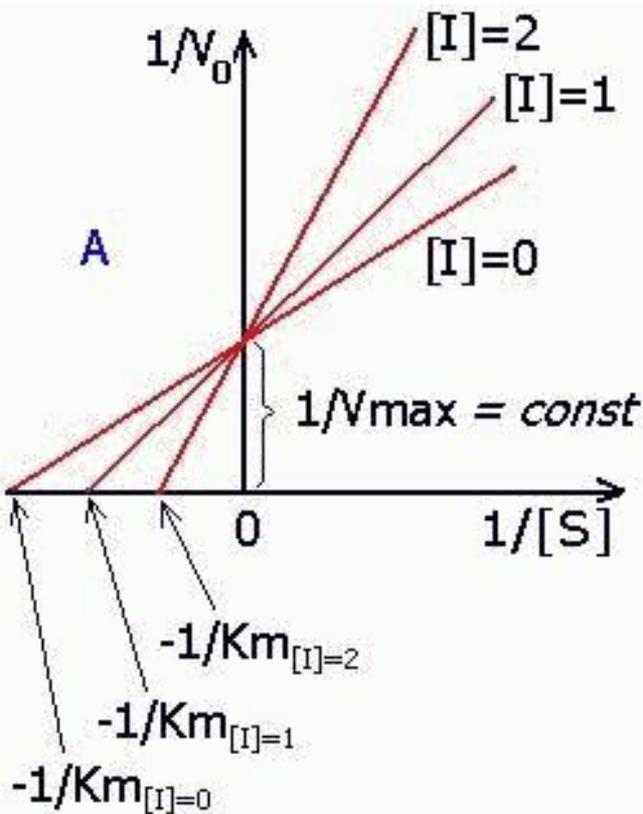
**Конкурентное** – ингибитор по структуре похож на субстрат и связывается **С АКТИВНЫМ ЦЕНТРОМ**. Это ингибирование снимается избытком субстрата

**Неконкурентное** – ингибиторы необратимо/обратимо взаимодействуют **ВНЕ АКТИВНОГО ЦЕНТРА**, при этом меняются конформация активного центра и сродство фермента к S



**Бесконкурентное** – ингибитор необратимо связывается только **с ES-КОМПЛЕКСОМ:**





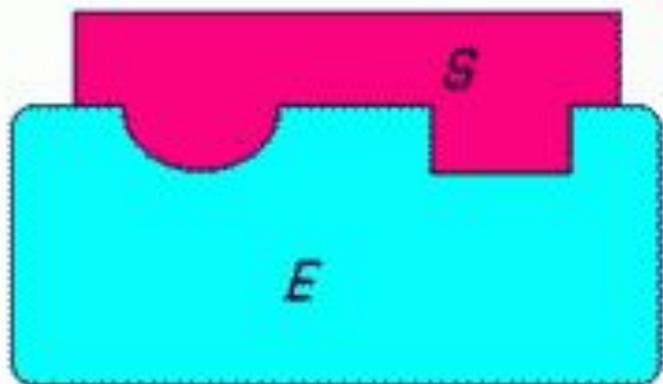
А- конкурентное ингибирование  
 В- неконкурентное ингибирование  
 С- бесконкурентное ингибирование

двойные обратные координаты Лайнуивера-Берка ( $1/V_0 - 1/[S]$ )

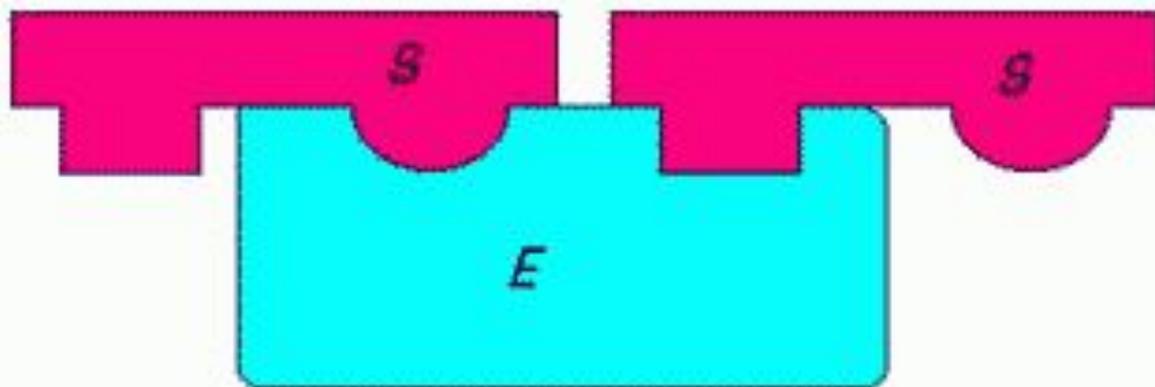
## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИПА ИНГИБИРОВАНИЯ

**КОНКУРЕНТНЫЙ** ингибитор увеличивает  $K_m$ , не меняет  $V_{max}$   
**НЕКОНКУРЕНТНЫЙ** ингибитор не меняет  $K_m$ , снижает  $V_{max}$   
**БЕСКОНКУРЕНТНЫЙ** ингибитор одинаково снижает  $K_m$  и  $V_{max}$

# Ингибирование избытком субстрата в результате блокирования активного центра



нормальное связывание, превращение возможно



аномальное связывание, ни один из субстратов не превращается в продукт

# КООПЕРАТИВНЫЙ ЭФФЕКТ

Характерен для ферментов, имеющих две и более субъединиц

- Присоединение **субстрата или эффектора** к одной субъединице облегчает последующие присоединения к оставшимся субъединицам.
  - Кооперативность при переносе кислорода молекулами гемоглобина
  - Кооперативность мультиферментных комплексов (ПДГ-комплекс)
- **Кооперативность биокатализа** – главное отличие ферментов от неорганических катализаторов. Именно поэтому интенсивность биокатализа в десятки, сотни и тысячи раз выше мощности неорганических катализаторов

# Регуляция по механизму ковалентной модификации

- **ОГРАНИЧЕННЫЙ ПРОТЕОЛИЗ**  
(частичный точечный протеолиз)

Автокатализ протеолитических ферментов пищеварения (пепсин, трипсин). Они выделяются в ЖКТ в виде зимогенов (проферменты – пепсиноген, трипсиноген). При отщеплении от зимогена части пептидной молекулы меняется конформация и формируется активный центр

- **ПРИСОЕДИНЕНИЕ ФРАГМЕНТА К ФЕРМЕНТУ**  
с образованием ковалентных связей – фосфорилирование, сульфатирование и др. **(ИЛИ ОТСОЕДИНЕНИЕ ФРАГМЕНТА)**

# Регуляция ферментов за счёт их компартментализации

- **Компартментализация** – локализация ферментов и их субстратов в одном компартменте клетки (одной органелле) – в эндоплазматическом ретикулуме, митохондриях, лизосомах, пероксисомах
- Например,  $\beta$ -окисление жирных кислот протекает в митохондриях, синтез белка идёт в рибосомах

# ферментативный спектр органов и тканей

- **внутриклеточные** - действуют в тех же клетках, где синтезируются
- **внеклеточные** - выходят из клеток
- **конститутивные** - постоянно присутствуют в клетках
- **индуцибельные** - их биосинтез активируют разные агенты в разных ситуациях (например, при поступлении токсинов, лекарств, развитии воспаления ...)

**1. ИЗОФЕРМЕНТЫ** - отличаются по структуре ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -субъединицы), но выполняют одну и ту же функцию. Изоферменты могут различаться по каталитической активности, несмотря на катализ одной и той же реакции.

**Изоферменты генетически детерминированы :**

- лактатдегидрогеназа: 5 форм

- алкогольдегидрогеназа

- ацетальдегиддегидрогеназа клеток печени: 2 формы - цитоплазматическая (малоактивная, с высокой  $K_m$ ) и митохондриальная (активная, с малым значением  $K_m$ ).

Отсутствие по генетическим причинам у коренного населения Юго-Восточной Азии митохондриальной формы – это биохимическая причина непереносимости алкоголя. В этом случае превращение образовавшегося из этанола ацетальдегида осуществляет малоактивный фермент цитоплазмы.

**2. МНОЖЕСТВЕННЫЕ ФОРМЫ ФЕРМЕНТА** возникают в результате посттрансляционной модификации

# Принципы определения активности ферментов

- **Активность фермента (удельная)** – скорость накопления продукта или скорость убыли субстрата в пересчете на количество материала, содержащего фермент.
  - 1,0 г пепсина расщепляет 50 кг яичного белка в час.  
Активность: 50 кг/час/г фермента.
  - 1,6 г амилазы расщепляет 175 кг крахмала в час.  
Активность: 109,4 кг/час/г фермента.
- **Создание стандартных условий**, чтобы можно было сравнивать результаты активности ферментов, полученные в разных лабораториях:
  - 1)  **$t=25^{\circ}\text{C}$ ,**
  - 2) **оптимальное для данного фермента значение pH,**
  - 3) **избыток субстрата**, чтобы работали все имеющиеся молекулы фермента

# Единицы активности

- **Е (стандартные единицы)** - количество фермента, которое превращает 1 микромоль субстрата за 1 минуту
- **КАТАЛ (система СИ)** - количество фермента, которое превращает субстрат со скоростью 1 моль/сек

$$1 \text{ КАТАЛ} = 60\,000\,000 \text{ Е}$$

# Энзимодиагностика заболеваний

## 1) При энзимодиагностике болезней оценивают выход ферментов из поврежденных структур клеток и тканей

- **АсАТ** локализован больше в митохондриях – повреждение сердца (инфаркт миокарда), **АлАТ** в цитоплазме – повреждение печени (гепатит)
- Молекулы **ЛДГ** состоят из 4 субъединиц двух типов: Н (heart), М (muscle), которые отличаются деталями первичной и третичной структур. В зависимости от соотношения Н и М в четвертичной структуре известно 5 изоформ: ЛДГ<sub>1</sub> (4Н), ЛДГ<sub>2</sub> (3Н1М), ЛДГ<sub>3</sub> (2Н2М), ЛДГ<sub>4</sub> (1Н3М), ЛДГ<sub>5</sub> (4М)
- В разных органах ЛДГ представлена разными изоформами: ЛДГ<sub>1</sub> – в сердце, ЛДГ<sub>5</sub> – в мышцах. Такую **органоспецифичность** изоферментов используют для **дифференциальной диагностики** заболеваний (например, инфаркт миокарда или миопатия скелетных мышц)
- При инфаркте миокарда в крови повышены: соотношение активностей изоферментов ЛДГ<sub>1</sub> и ЛДГ<sub>2</sub>, активность изоэнзимов **КФК** (КФК<sub>2</sub> и КФК<sub>3</sub>)

## 2) Ферменты используют как химические реагенты при качественном и количественном определении веществ в крови, моче, ликворе....

(глюкозооксидазный метод обнаружения сахара в крови, ферментативный способ определения количества холестерина в крови, иммуноферментный анализ и другие)

# Энзимотерапия

**ферменты и регуляторы их активности (ингибиторы, активаторы) могут быть средствами заместительной и функциональной терапии**

- - **ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫЕ ФЕРМЕНТЫ** - Панзинорм, Ацидин-пепсин, Фестал, Химопсин и др. (болезни ЖКТ)
- - **СТРЕПТОКИНАЗА** - активизирует плазминоген и образование плазмينا, что приводит к растворению фиброзных тромбов в сосудах (болезни ССС)
- - **АСПАРАГИНАЗА** – (внутривенно) снижает содержание аспарагина и замедляет рост раковых клеток при лейкемии
- - Лекарственные **препараты на основе калликреинов** (ферментов кининовой системы) используют для снижения артериального давления
- - **РНКаза, ДНКаза, гиалуронидаза, коллагеназа, эластаза** отдельно и смеси – для обработки ран, ожогов, очагов воспаления, устранения киллоидных рубцов, гематом, отёка

# Применение ИНГИБИТОРОВ ФЕРМЕНТОВ

- блокадой АЦЕТАЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ в стационарах лечат хронический алкоголизм
- сульфаниламидные препараты (БИСЕПТОЛ, его аналоги) блокируют ферменты синтеза фолиевой кислоты у бактерий
- ИНГИБИТОРЫ ПРОТЕИНАЗ – используют в хирургии, в терапии острых панкреатитов, язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, при лечении артритов

# недостатки в применении ферментативных препаратов

- Проявление антигенных свойств
  - Ненаправленное проявление агрессивных свойств
  - Трудность доставки к поражённым органам, тканям
- Решение проблемы направленного транспорта – создание лекарств на основе иммобилизованных ферментов. **Методы:** липосомы, выполняющие роль микроконтейнеров, к внешней поверхности которых прикреплены адресные белковые молекулы (например антитела против специфических компонентов больного органа)

# Энзимопатии первичные

**Энзимопатии – заболевания, вызванные врождёнными дефектами ферментов**

- недостаточность или полное отсутствие отдельных ферментов
- избыточность действия того или иного фермента
- Нарушения метаболизма углеводов, гликопротеинов (дефицит сахаразы, галактоземия, гликогенозы, различные мукополисахаридозы)
- Нарушения метаболизма АК (фенилкетонурия)
- Нарушения обмена липидов (дефицит липазы; нет E для расщепления жиров – целиакия → поражение слизистой, дистрофия, много жира в кале) сфинголипидов (болезнь Гоше)
- Нарушения обмена азотистых оснований (подагра)
- Нарушения обмена порфиринов (порфирии)

# Энзимопатии вторичные

**возникают как следствие основного заболевания, не связанного с патологией данного фермента**

- **Приобретённые энзимопатии** появляются:
  - в результате хирургических вмешательств,
  - в ходе инфекционных заболеваний,
  - при токсических воздействиях (с пищей, через кожу и лёгкие поступают тяжёлые металлы, пестициды, окислы N, радиация ...),
  - при алиментарной недостаточности (дефицит незаменимых факторов питания, витаминов, минералов – Zn, Mg, Ca...) дистрофия, нарушения, связанные с пищеварением, дыханием, работой ССС