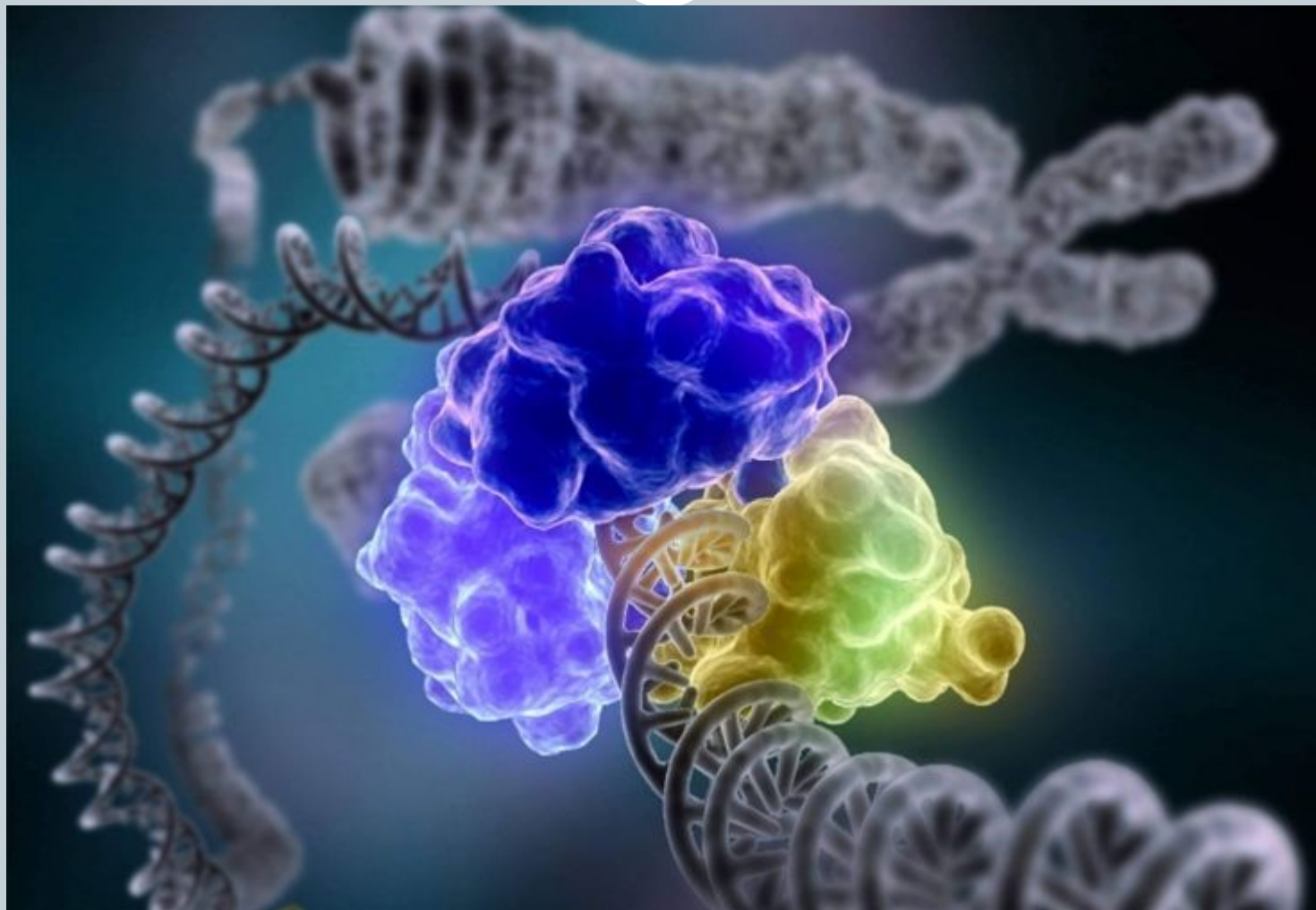


ФЕРМЕНТЫ СЫВОРОТКИ и ПЛАЗМЫ



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

Ферменты сыворотки



Секреторные ферменты

- синтезируясь 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

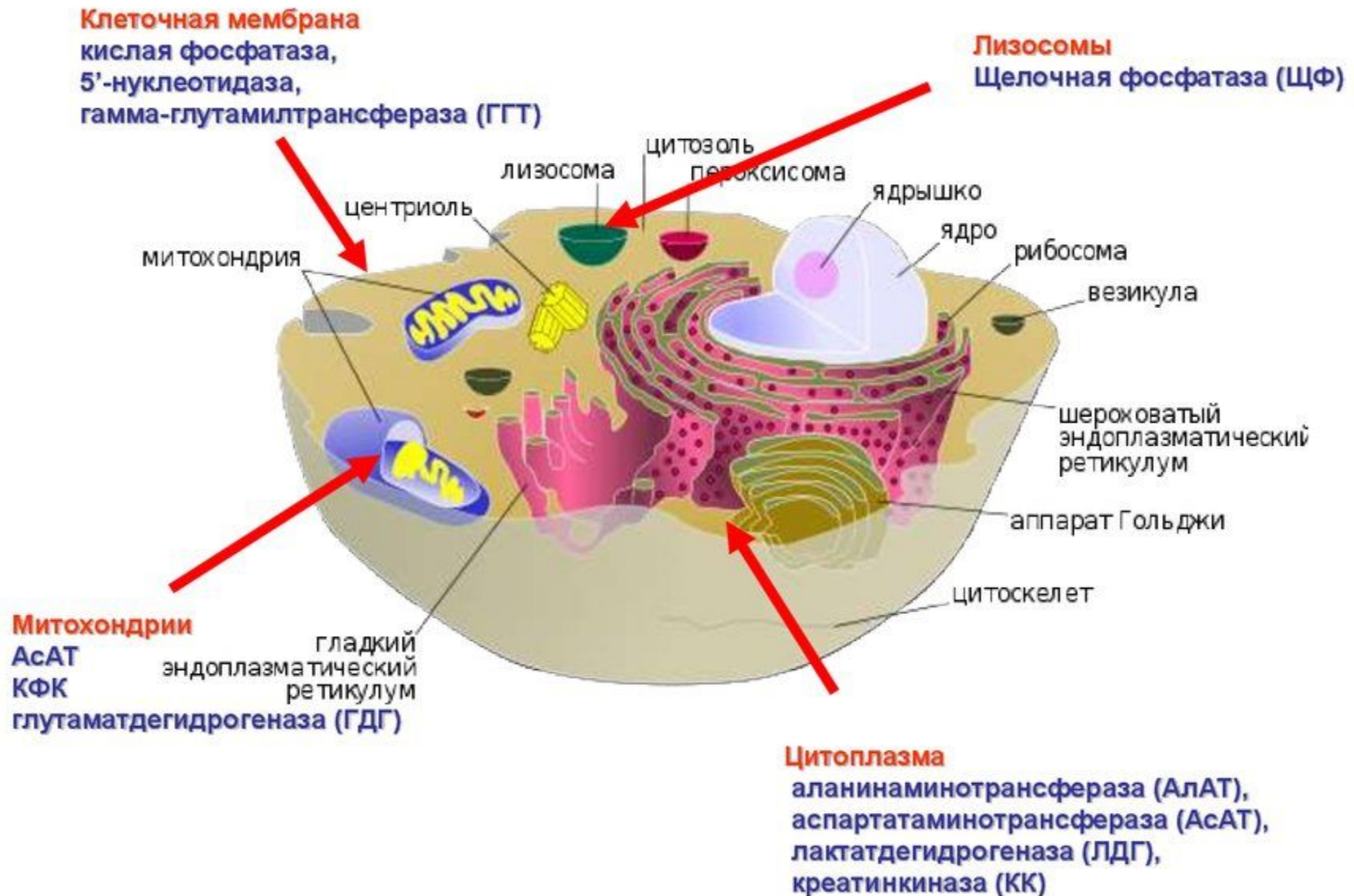
- попадают в кровь из тканей, где они выполняют определенные внутриклеточные функции;
- большая часть индикаторных ферментов в сыворотке крови определяется в норме лишь в следовых количествах;
- при поражении тех или иных тканей ферменты из клеток «вымываются» в кровь; их активность в сыворотке резко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



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-аспартат: 2-оксоглутаратаминотрансфера- за, КФ 2.6.1.1)

Кетоглутарат + L-аспартат $\leftrightarrow$ 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.

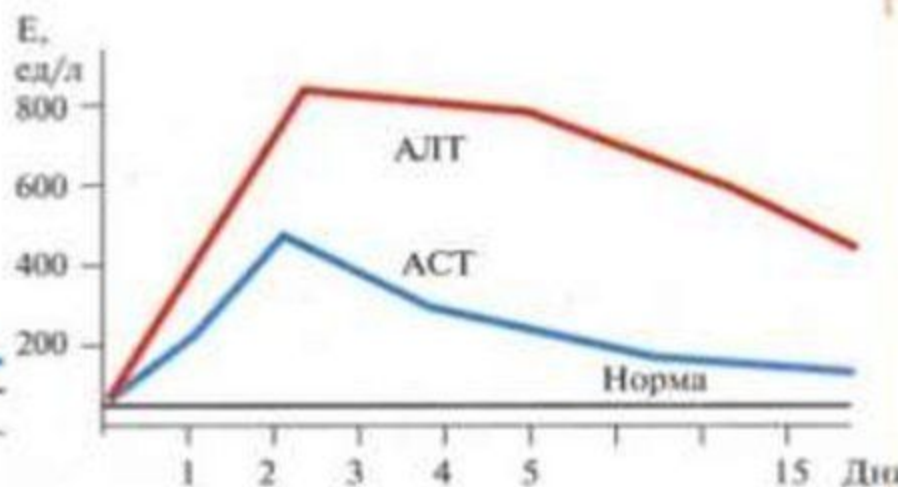
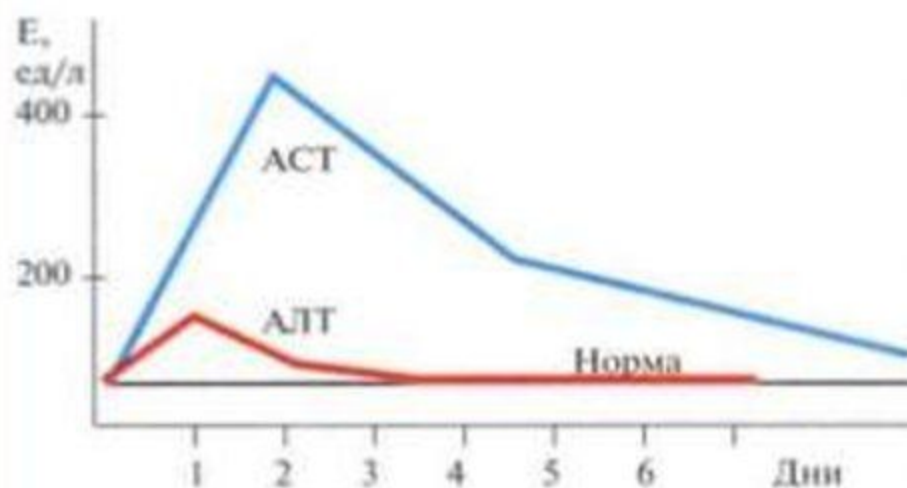
Причины повышения активности в крови:

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-а-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 гиперاميлаземи 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



- $\frac{AM \cdot KPC \cdot 100}{KPM \cdot AC}$

- где:
- AM – амилаза мочи
- AC – амилаза сыворотки
- KPM – креатинин в моче
- KPC – 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-BB (КК-1) – мозговой,
 - КК-MB (КК-2) – сердечный
 - КК-MM (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



- 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 pH щелочной фосфатазы лежит в щелочной среде (pH 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!

