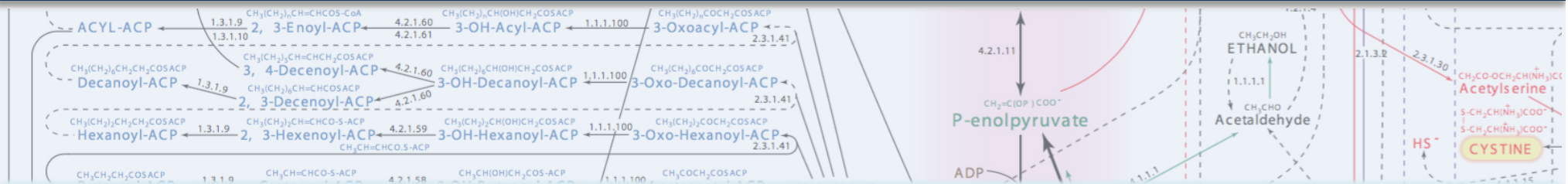


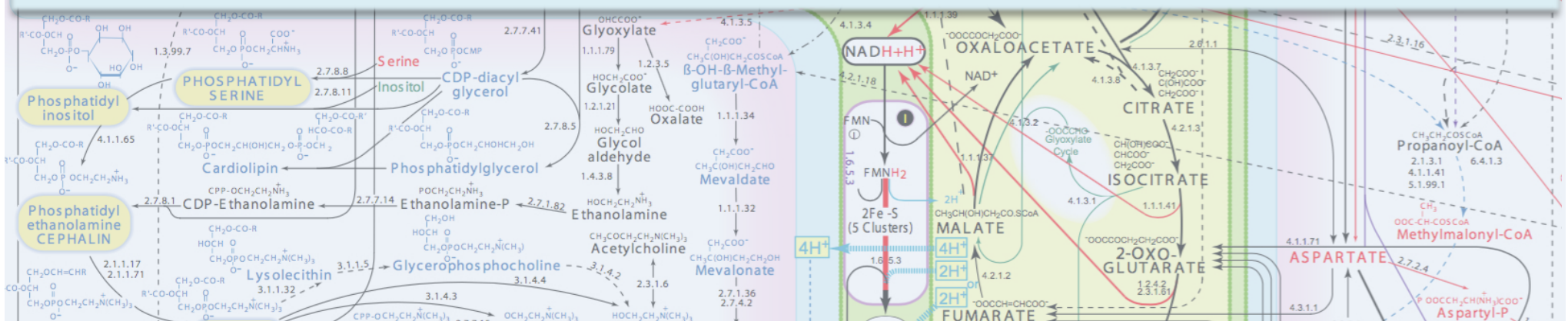
МЕДИЦИНСКАЯ БИОХИМИЯ

Курс лекций кафедры фундаментальной медицины и биологии ВолгГМУ для направления подготовки: 06.03.01 «Биология», профиль Биохимия (уровень бакалавриата)



ЛЕКЦИЯ №1:

«Медицинская энзимология».



Применение ферментов в медицине

Медицинская энзимология – раздел медицинской (клинической) биохимии, включающий следующие основные направления:

- | | |
|----------------------------|---|
| • Энзимопатология | изучение роли ферментов в развитии (патогенезе) заболеваний - энзимопатий; |
| • Энзимодиагностика | использование ферментов как биомаркёров в лабораторной диагностике заболеваний; |
| • Энзимотерапия | использование ферментов как лекарственных препаратов в лечении заболеваний. |

Энзимопатии

Энзимопатии - нарушения функционирования ферментов в клетке, ведущие к развитию заболеваний, либо патогенетически сопровождающие их течение.

первичные (врожденные, наследственные)

генетически обусловленные нарушения биосинтеза какого-либо фермента

вторичные
(приобретенные)

- токсические;
- алиментарные;
- нейрогуморальные;

Энзимопатии

Причины **первичных** энзимопатий:

- точечные мутации гена, кодирующего фермент.
- наличие ингибитора или отсутствие активатора при синтезе фермента.
- генетические дефекты синтеза кофермента.
- нарушение процессинга (**фолдинга**) белка.

Энзимопатии

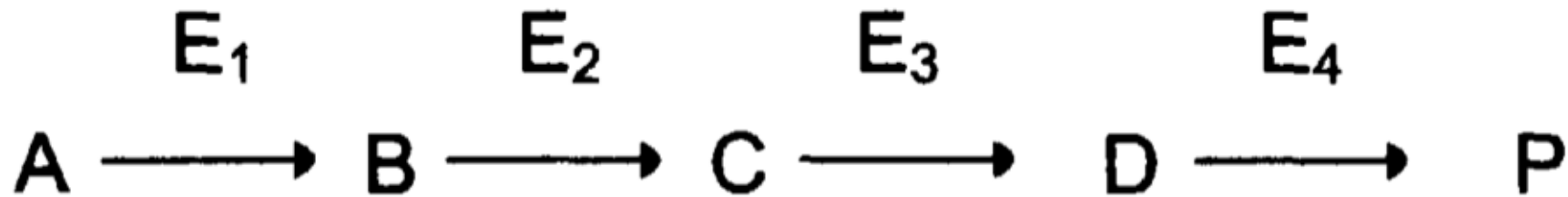
Причины **вторичных** энзимопатий:

- **нарушения энергообеспечения** (уменьшение синтеза АТФ);
- **недостаток аминокислот** (белковое голодание);
- **отсутствие или недостаток кофермента:** витаминов, микроэлементов, нарушение ресорбции витаминов в ЖКТ (**все причины гиповитаминозов**);
- **клеточная деструкция** разного генеза;
- **гипо- или гиперфункция** эндокринных желез;
- **резкое изменение условий среды**, в которой работает фермент (ацидоз или алкалоз).

Энзимопатии

Схемы патогенеза первичных энзимопатий

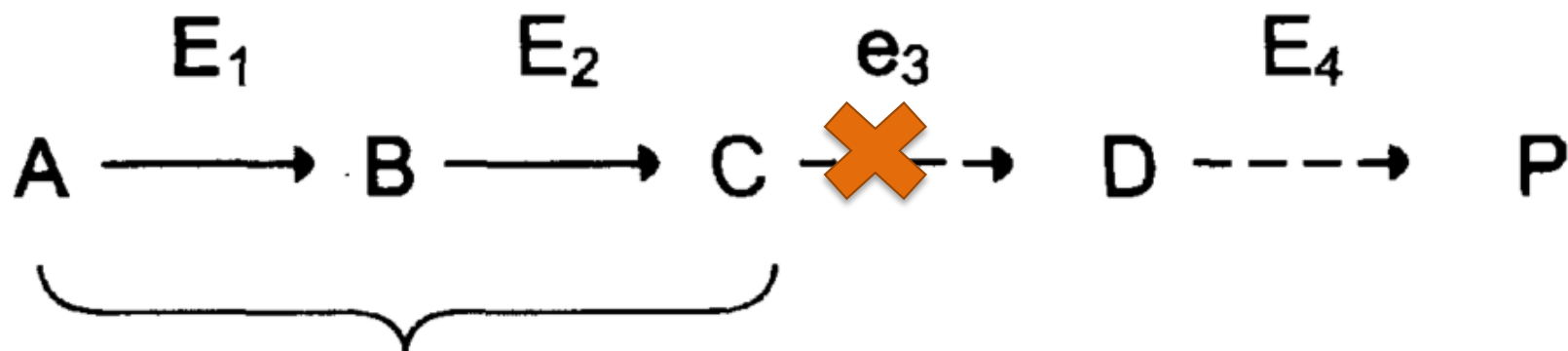
Метаболический путь в норме



Энзимопатии

Схемы патогенеза первичных энзимопатий

Накопление субстратов-предшественников

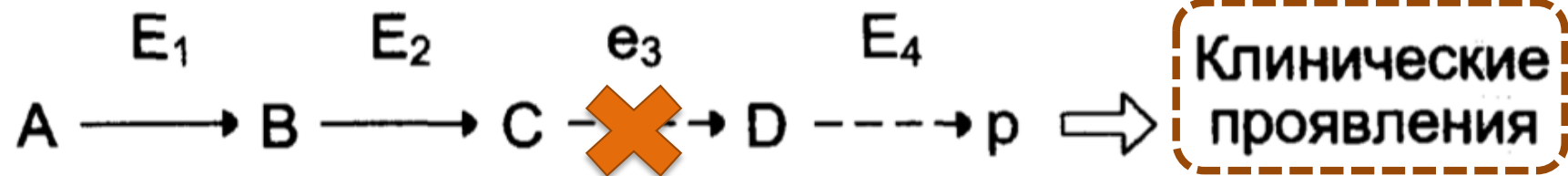


Клинические проявления

Энзимопатии

Схемы патогенеза первичных энзимопатий

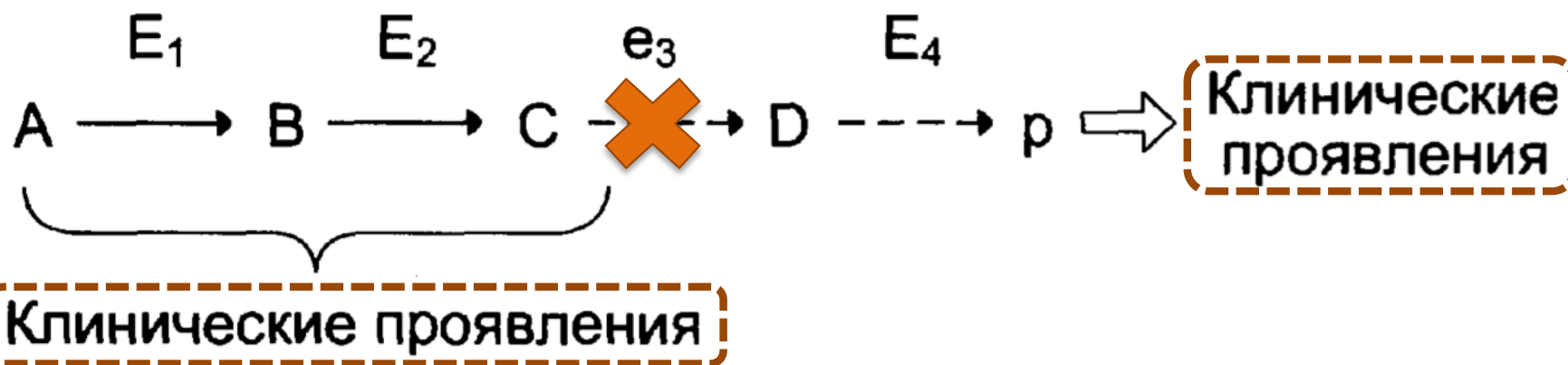
Нарушение образования конечных продуктов



Энзимопатии

Схемы патогенеза первичных энзимопатий

Комбинированный патогенез



Энзимодиагностика

Плазма и сыворотка крови – основной биоматериал для клинико-диагностического исследования активности ферментов.

Гипоферментемия

- генетически детерминированные нарушения синтеза;
- ингибирование;
- ускоренный распад / экскреция;

Дисферментемия

- появление в крови органоспецифических ферментов;

Гиперферментемия

- некроз / лизис клеток;
- клеточная пролиферация;
- индукция синтеза / активация.

Энзимодиагностика

Основные принципы использования ферментов в целях диагностики:

- при повреждении клеток в крови или других биологических жидкостях (например, в моче) увеличивается концентрация внутриклеточных ферментов повреждённых клеток;
- количество высвобождаемого фермента достаточно для его обнаружения;
- активность ферментов в биологических жидкостях, обнаруживаемых при повреждении клеток, стабильна в течение достаточно длительного времени и отличается от нормальных значений;
- ряд ферментов имеет преимущественную или абсолютную локализацию в определённых органах (органоспецифичность);
- существуют различия во внутриклеточной локализации ряда ферментов.

Энзимодиагностика

Основные ограничения использования ферментов в качестве биомаркёров заболеваний

- **Повышение активности ферментов** может носить неспецифический характер.
- Степень **повышение активности органоспецифических ферментов** может **не отражать** тяжести патологического процесса.
- **Для многих ферментов характерна значительная внутрипопуляционная вариабельность** активности (широкий диапазон референтных значений).

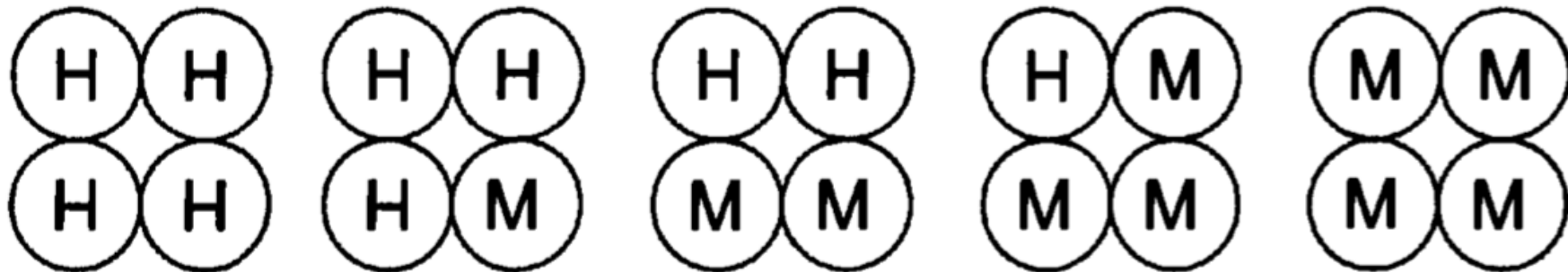
Особенности энзимодиагностики

Пути повышения диагностической значимости лабораторного исследования активности ферментов:

- одновременное определение активности нескольких ферментов;
- определение активности спектра изоферментов;
- определение активности ферментов в динамике;
- сопоставление данных энзимодиагностики с другими лабораторными анализами и клинической картиной заболевания.

Особенности энзимодиагностики

Органоспецифичность изоферментов лактатдегидрогеназы



ЛДГ₁

ЛДГ₂

ЛДГ₃

ЛДГ₄

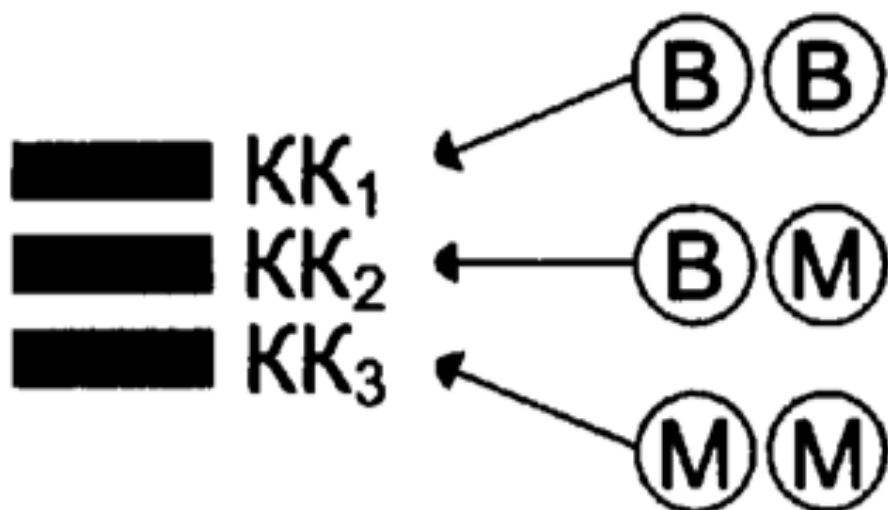
ЛДГ₅

сердце и почки

печень и мышцы

Особенности энзимодиагностики

Органоспецифичность изоферментов креатинфосфокиназы



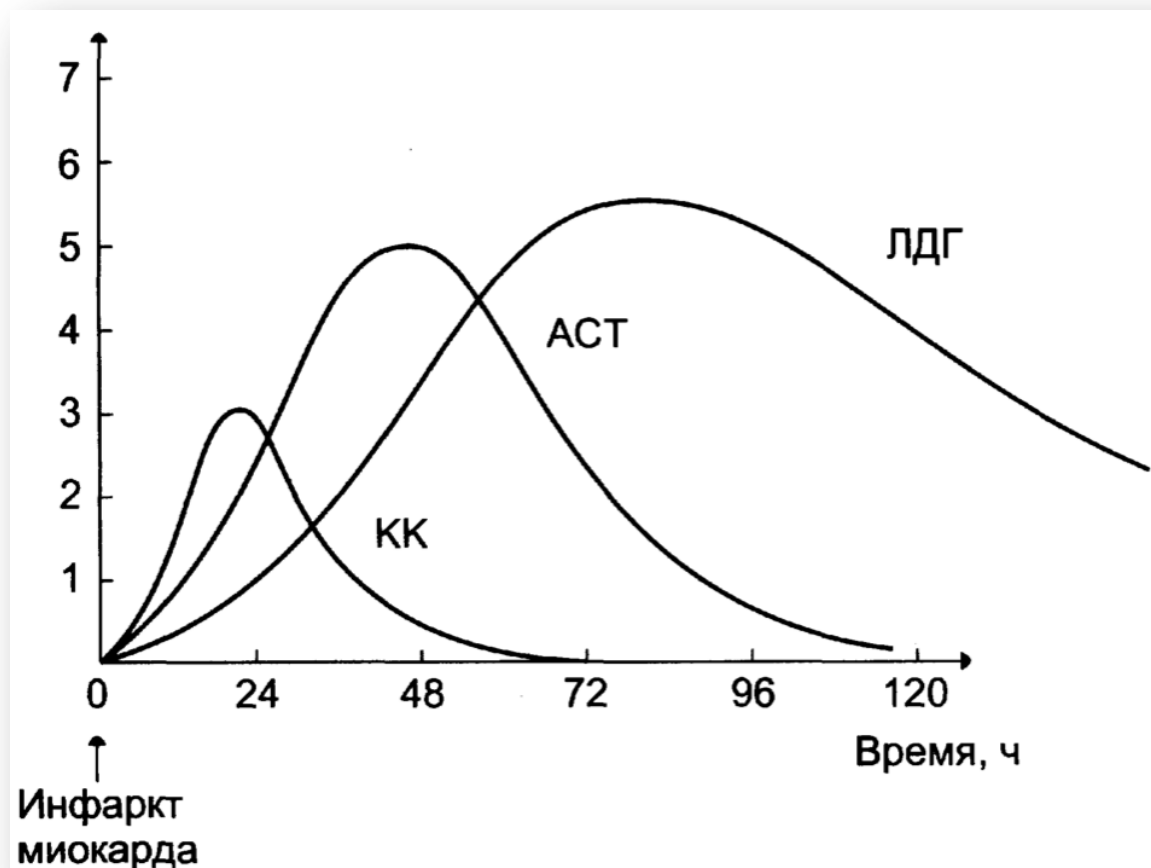
ГОЛОВНОЙ МОЗГ

сердце

МЫШЦЫ

Особенности энзимодиагностики

Динамика изменения активности ферментов при инфаркте миокарда



Энзимотерапия

Основные направления:

- **заместительная терапия**

использование ферментов в случае их недостаточности

- **комплексная терапия**

применение ферментов в сочетании с другой терапией

Энзимотерапия

Заместительная терапия ферментными препаратами

Пепсин

- гастриты (воспалительные заболевания желудка) со сниженной секреторной функцией;

Трипсин, Химотрипсин, Амилаза, Липаза

- дефицит панкреатических ферментов при воспалительных заболеваниях поджелудочной железы.

Энзимотерапия

Комплексная терапия ферментными препаратами

Трипсин

Химотрипсин

- местное воздействие при обработке гнойных ран с целью расщепления белков погибших клеток;
- расщепление вязких секретов при воспалительных заболеваниях дыхательных путей

Фибринолизин

Стрептокиназа

Урокиназа

- растворение фибриновых тромбов при нарушениях свёртывающей системы крови

Энзимотерапия

Комплексная терапия ферментными препаратами

- **Гиалуронидаза**
(расщеление гиалуроновой кислоты)

рассасывание спаек и рубцов после ожогов и операций;

- **РНКаза**
(рибонуклеаза);
- **ДНКаза**
(дезоксирибонуклеаза)

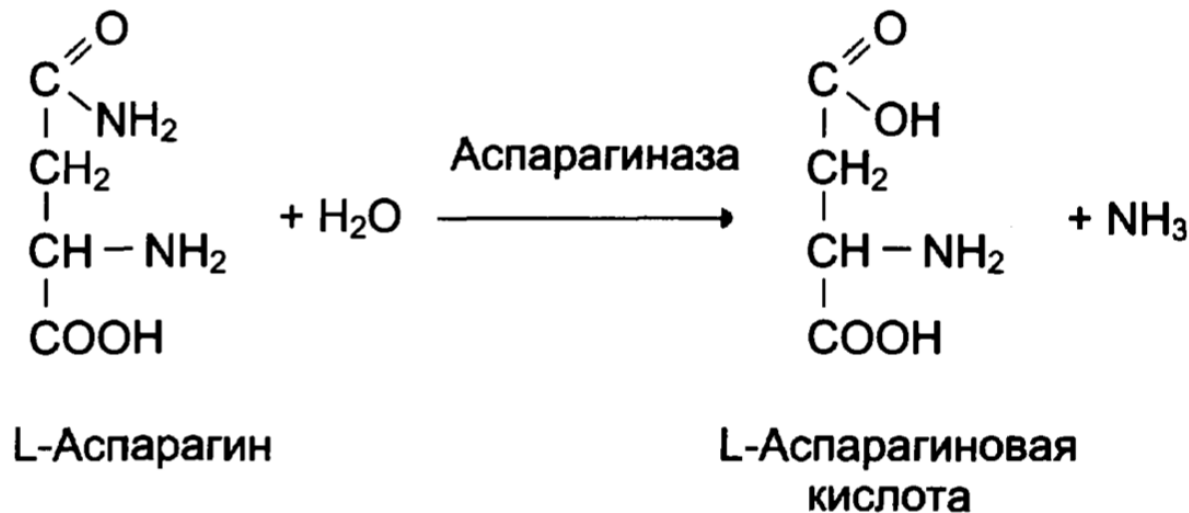
лечение аденовирусных конъюнктивитов, герпетических кератитов;

Энзимотерапия

Комплексная терапия ферментными препаратами

- **L-аспарагиназа**
(разрушение
аминокислоты
аспарагина в крови)

ограничение поступления
аминокислоты аспарагина в
опухолевые клетки при
онкологических заболеваниях
крови



Энзимотерапия

Ограничения применения ферментов для терапии заболеваний

- **риск иммуногенности (возникновения аллергических реакций);**
- **трудности доставки к пораженным органам и тканям (мишеням);**
- **нестабильность;**
- **короткий период полураспада.**

Ферменты – диагностические реактивы

Преимущества ферментативных методов исследования:

- высокая точность;
- специфичность (в силу специфичности используемых ферментов);
- чувствительность;
- простота проведения анализа;
- сокращение времени исследования.

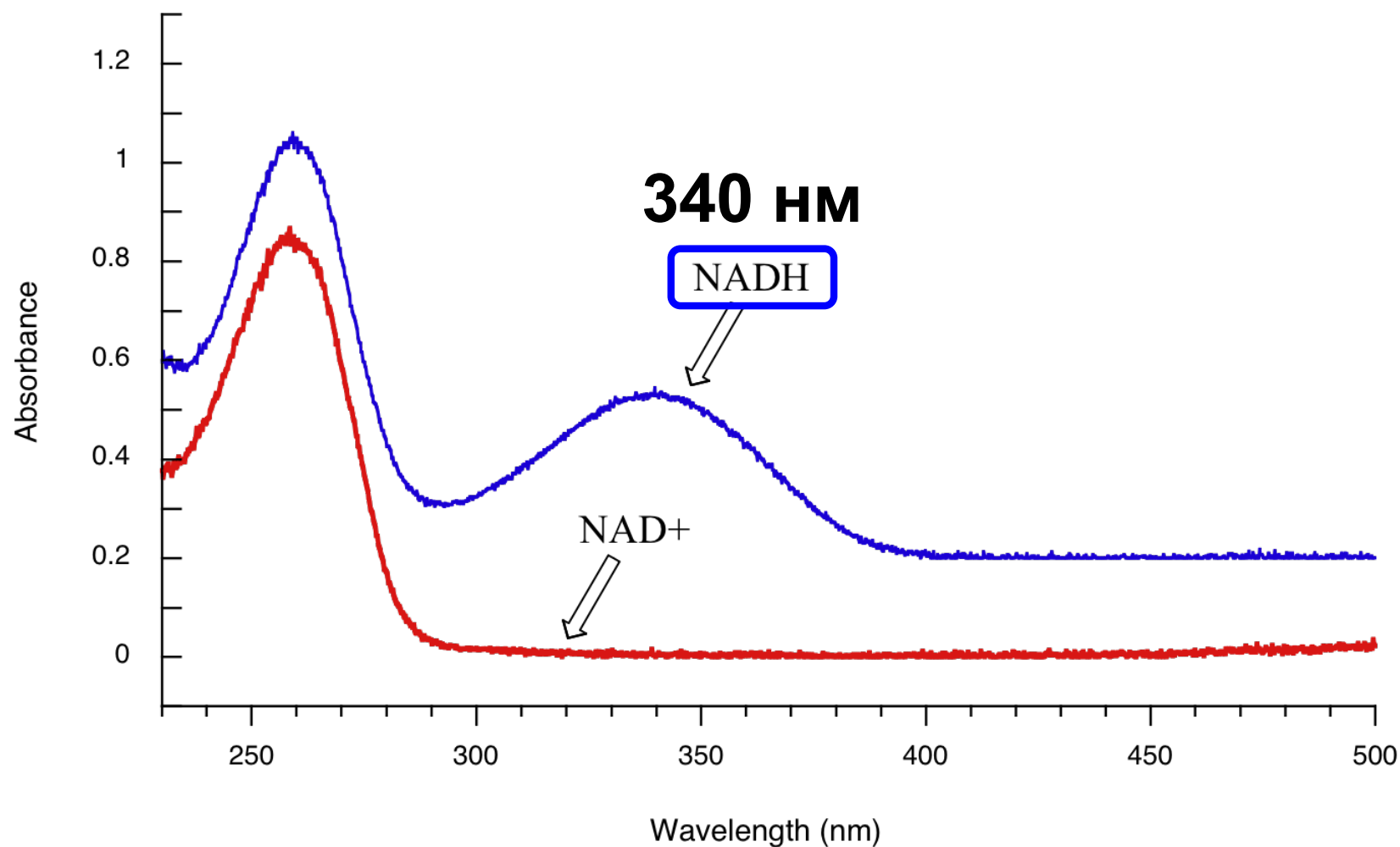
Ферменты – диагностические реактивы

Ферменты могут использоваться в качестве специфических реактивов для определения ряда веществ:

Глюкозооксидаза	количественное определение глюкозы в моче и крови;
Уреаза	количественное определение мочевины в моче и крови;
Дегидрогеназы	обнаружение соответствующих субстратов этих ферментов (пирувата, лактата, этилового спирта и др).

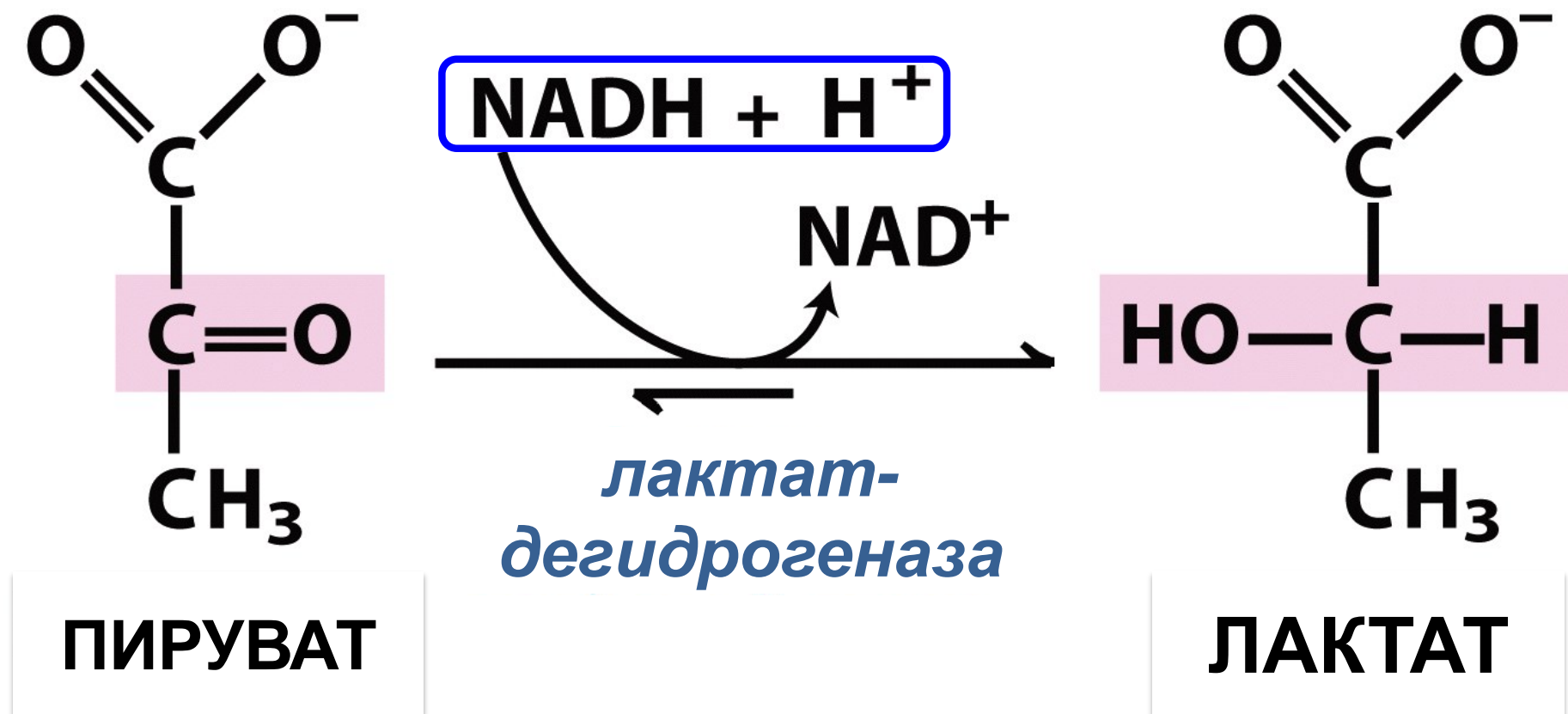
Ферменты – диагностические реактивы

Оптический тест Варбурга: принцип



Ферменты – диагностические реактивы

Оптический тест Варбурга: пример использования



Ферменты – диагностические реактивы

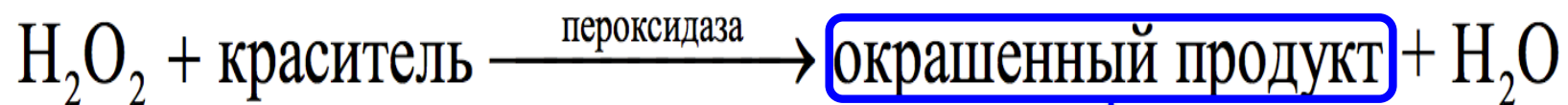
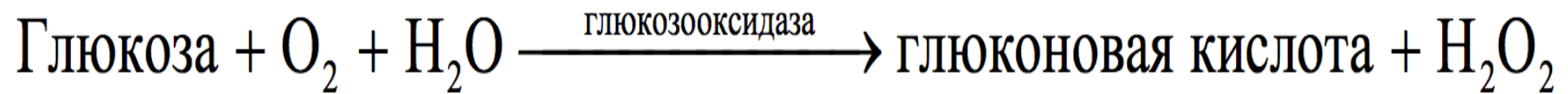
Оптический тест Варбурга: пример использования



Ферменты – диагностические реактивы

Определение глюкозы:

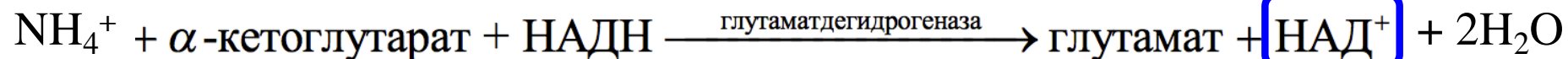
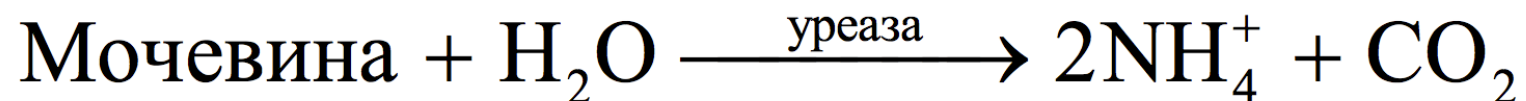
сопряженная система глюкозооксидаза + пероксидаза



Измерение оптической плотности

Ферменты – диагностические реактивы

Определение мочевины (уреазный тест):



**Измерение снижения
оптической плотности**

Ферменты – диагностические реактивы

Ферментные реагенты в клинической лаборатории применяют только в форме готовых наборов реактивов промышленного изготовления:

- для проведения ферментативной реакции в жидкой среде;
- как реактивы в иммуноферментных методах (лигандных технологиях) – ИФА;
- как иммобилизованные на носителях ферменты для проведения ферментативной реакции в растворах электрохимическими методами (биосенсоры);