

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«ИРКУТСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра химии и биохимии

А. И. Сулова, В. И. Бахтаирова

ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ БИОХИМИИ. ФЕРМЕНТЫ

Учебное пособие для иностранных студентов

Иркутск
ИГМУ
2014

УДК577.15.(075.8)
ББК 28.072я73
С90

Рекомендовано Факультетским методическим советом фармацевтического факультета ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России в качестве учебного пособия для иностранных студентов, обучающихся на всех факультетах (протокол № 6 от 11.04.2014 .)

Авторы:

- А. И. Сулова** – канд. биол. наук, доцент кафедры химии и биохимии ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России,
В. И. Бахтаирова – зав. кафедрой химии и биохимии, канд. мед. наук, доцент ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России

Рецензенты:

- В.А. Талалаева** – доцент кафедры нормальной физиологии, к.м.н. ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России
М. И. Винокурова – канд. пед. наук, доцент кафедры иностранных языков с курсом латинского языка и русского, как иностранного ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России

Сулова, А. И. Бахтаирова В. И.

С 90 Основные понятия биохимии. Ферменты: учебное пособие для иностранных студентов / А. И. Сулова, В. И. Бахтаирова; ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, Кафедра химии и биохимии. – Иркутск: ИГМУ, 2014. – 41с.

Учебное пособие «Основные понятия биохимии. Ферменты»: предназначено для самостоятельной работы иностранных студентов, обучающихся на всех факультетах как учебный материал, способствующий полно усвоить разделы биохимии.

УДК577.15.(075.8), 2014
ББК 28.072я73, 2014

© Сулова А. И., Бахтаирова В. И., 2014
© ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрава России, 2014

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений	4
1. Биохимия: разделы, задачи, методы, понятия	5
2. Биохимические особенности живых организмов	6
3. Ферменты	9
3.1 Свойства ферментов как белков	11
3.2 Классификация ферментов	13
3.3 Строение ферментов	15
3.3.1. Структура активного центра	15
3.4. Механизмы действия ферментов	17
3.5. Изоферменты и их медицинское значение	18
3.6. Регуляция активности ферментов	19
3.7. Механизмы регуляции активности отдельных ферментов	21
3.8. Регуляция ферментативных цепей, Ключевые ферменты	24
3.9. Внутриклеточная ауторегуляция, ее виды и значение	24
4. Ферменты в медицине	26
4.1. Роль ферментов в патогенезе	26
4.2. Энзимодиагностика	27
4.3. Энзимотерапия	28
Тестовые задания	30
Эталоны ответов к тестовым заданиям	36
Контрольные вопросы	37
Эталоны ответов к контрольным вопросам	39
Рекомендуемая литература	.41

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АлАТ	—	Аланинаминотрансфераза
АМФ	—	Аденозинмонофосфат
цАМФ	—	Циклический АМФ
АсАТ	—	Аспартатаминотрансфераза
АТФ	—	Аденозинтрифосфат
АХ	—	Ацетилхолин
АЦ	—	Аденилилциклаза
БОВ	—	Боевые отравляющие вещества
ГМФ	—	Гуанозинмонофосфат
цГМФ	—	Циклический ГМФ
Глу	—	Глутамат
Глн	—	Глутамин
ГТФ	—	Гуанозинтрифосфат
ГЦ	—	Гуанилилциклаза
ДНК	—	Дезоксирибонуклеиновая кислота
ЙТ	—	Йодтиронины
ИФ ₃	—	Инозитолтрифосфат
КЩР	—	Кислотно-щелочное равновесие
ЛДГ	—	Лактатдегидрогеназа
НАДФ	—	Никотинамидадениндинуклеотидфосфат
НДФ	—	Нуклеозиддифосфат
НК	—	Нуклеиновые кислоты
НМФ	—	Нуклеозидмонофосфат
НТФ	—	Нуклеозидтрифосфат
ПАБК	—	Парааминобензойная кислота
ПК	—	Протеинкиназа
РНК	—	Рибонуклеиновая кислота
ССС	—	Сердечно-сосудистая система
ТМФ	—	Тимидинмонофосфат
ТТГ	—	Тиреотропный гормон
ТФ	—	Транскрипционный фактор
У	—	Урацил
УМФ	—	Уридинмонофосфат
УТФ	—	Уридинтрифосфат
ФАД	—	Флавинадениндинуклеотид
ФГАДГ	—	Фосфоглицеральдегиддегидрогеназа
ФМН	—	Флавинмоноклеотид
ФОС	—	Фосфоорганические соединения
ФРК	—	Факторы роста клеток
ХС	—	Холестерин
ЭПР	—	Эндоплазматический ретикулум
ЯМР	—	Ядерно-магнитный резонанс

1. БИОХИМИЯ: ОПРЕДЕЛЕНИЕ, ОСНОВНЫЕ РАЗДЕЛЫ И ИХ ЗАДАЧИ, МЕТОДЫ, ПОНЯТИЯ

Биохимия – это наука о химической стороне жизни. Биохимия изучает молекулы, реакции и процессы, протекающие в живых организмах. Официально признана самостоятельной наукой в 1897 г. В этом году немецкий учёный Бюхнер установил, что брожение является химическим процессом. С тех пор биохимия интенсивно развивается. В 1953 году открыта вторичная структура ДНК, и объём новой информации в области матричных синтезов и их регуляции нарастает огромными темпами. Расшифрованы геномы многих живых организмов, в том числе и человека. Используются биотехнологические способы получения лекарств. Медицина и фармация в связи с этим переходят на новый уровень.

Биохимия включает следующие разделы:

1) *Статическая биохимия* – изучает органические молекулы и их свойства.

2) *Динамическая биохимия* – изучает пути метаболизма органических молекул. 3) *Функциональная биохимия* – изучает связь между структурой и функцией клеток, тканей и органов. Функциональная биохимия на молекулярном уровне изучает процессы, происходящие в нервной, сердечно-сосудистой, пищеварительной и других системах. Раньше этими вопросами занималась физиологическая химия.

3) *Прикладная биохимия* – это, например:

А) *клиническая биохимия* – изучает биохимические основы патогенеза, диагностики и лечения заболеваний (наследственных, атеросклероза, пептической язвы, сахарного диабета).

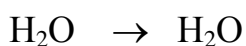
Б) *фармацевтическая биохимия* – изучает биохимические аспекты воздействия лекарств на организм и воздействие организма на лекарства.

Биохимия как экспериментальная наука использует физические и химические методы (центрифугирование, электрофорез, разные виды хроматографии, ЭПР, ЯМР, рентгеноструктурный анализ и др.).

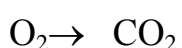
Основные понятия биохимии обусловлены биохимическими особенностями живых организмов.

2. БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ.

1. *Живой организм – это открытая система с мембранами, ферментами, макроэргами.* Открытая система означает возможность обмениваться с внешней средой веществами и энергией.



Пища \rightarrow живые организмы \rightarrow метаболиты



Мембраны – это структуры, которые, во-первых, отделяют клетку от окружающей среды, а во-вторых, разделяют клетку на отсеки – компартменты, или клеточные органеллы (ядро, митохондрии, рибосомы и др.). Все они выполняют специализированные биохимические функции. *Ферменты* – биокатализаторы белковой природы всех реакций метаболизма. Метаболизм – это совокупность двух процессов: катаболизма и анаболизма. В процессе катаболизма субстраты разрушаются и образуются метаболиты. При этом восстанавливаются коферменты: $\text{НАД}^+ \rightarrow \text{НАДН}$, $\text{НАДФ}^+ \rightarrow \text{НАДФН}$. Далее промежуточные метаболиты либо разрушаются до CO_2 и H_2O с выделением энергии АТФ, либо участвуют в анаболизме. Анаболические реакции происходят с затратами энергии ($\text{АТФ} \rightarrow \text{АДФ}$) и с использованием атомов водорода ($\text{НАДФН} \rightarrow \text{НАДФ}^+$).

Макроэрги – высокоэнергетические соединения, например: АТФ, ГТФ, ЦТФ, УТФ, креатинфосфат и др. Макроэрги являются одной из конвертируемых форм энергии у живых организмов.

2. *Устойчивое неравновесие, высокая структурная организация.* Эта особенность живых организмов обеспечивает гомеостаз. Гомеостаз – поддержание внутренней среды в состоянии максимально близком к норме. Например, человек имеет постоянные температуру, уровень глюкозы и других компонентов крови, ионные градиенты и т.д. Установление равновесия с окружающей средой означает смерть. Высокая структурная организация живых организмов (упорядоченность) необходимы для их роста и выживания. Неживая материя, предоставленная самой себе, постепенно разрушается, переходит в неупорядоченное состояние, при этом устанавливается равновесие с окружающей средой.

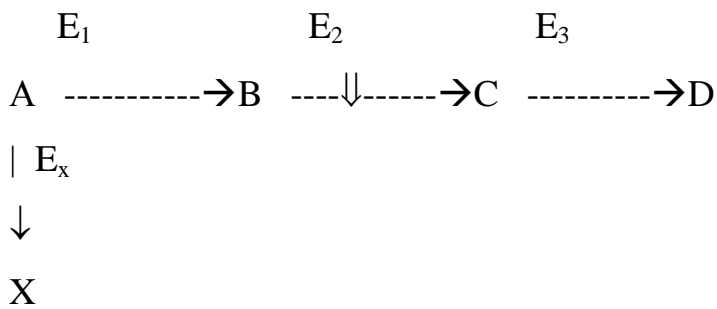
3. *Эффективные трансформация и использование энергии.* Живые организмы способны извлекать энергию из внешней среды: фототрофы – энергию солнечного света, гетеротрофы – энергию органических веществ. Эту энергию живые организмы трансформируют (преобразуют) в удобную для себя форму (АТФ).

4. *Полимерные макромолекулы.* В основе строения живых организмов лежит сочетание полимерных и сложных молекул: белков, нуклеиновых кислот, углеводов и некоторых липидов. В организме человека органических веществ меньше – 40%, а неорганических – 60% (55% – вода, 5% – соли). Главные биоэлементы – С, N, O, H, P, S.

5. *Самовоспроизведение.* Живые организмы воспроизводят себе подобных (“яблоко от яблони недалеко падает”). Это происходит по молекулярной схеме:

транскрипция		трансляция
ДНК	-----→	РНК -----→ Белок

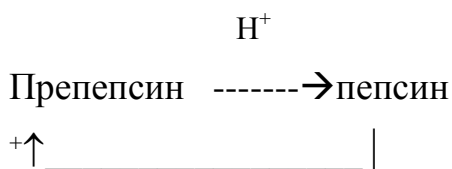
Если в этой схеме происходят нарушения (мутации), возникают наследственные заболевания. Если белок является ферментом, развивается ферментный метаболический блок.



При отсутствии или недостаточности фермента возникают нарушения какого-то биохимического процесса. В результате возникает дефицит метаболитов за местом блока, избыток метаболитов перед блоком и избыток метаболитов, возникающих в результате усиления альтернативного метаболического пути (пример – фенилкетонурия).

При классической фенилкетонурии мутация фенилаланингидроксилазы приводит к избытку фенилаланина, недостатку гормонов катехоламинов, иодтиронинов и, следовательно, к нарушению умственного и физического развития.

6. *Саморегуляция.* Живые организмы не способны поддерживать высокую структурную организацию, рост, самовоспроизведение и любые функции без эффективной саморегуляции. Её обеспечивают прямые и обратные связи. Прямая связь – это поступление регуляторного сигнала от одного участника к другому. Обратная связь – это сигнал в обратном направлении. Обратные связи бывают положительные и отрицательные. Через положительную – скорость какого-то процесса увеличивается, а через отрицательную снижается. Пример положительной обратной связи – активация пищеварительных ферментов:



Пример отрицательной обратной связи: конечный продукт в цепи реакций прекращает свой синтез (нуклеотиды, гормоны).

7. *Соподчиненность уровней организации.* Сложные организмы имеют несколько уровней структурной организации: молекулярный, субклеточный,

клеточный, тканевой, органный, организменный, биоценозный, социальный уровни. У человека на каждом уровне имеются свои группы заболеваний. Примеры: на молекулярном уровне – энзимопатии, на субклеточном – лизосомные, митохондриальные болезни, на клеточном – злокачественное перерождение, болезни крови, на тканевом – коллагенозы, на органном – гастрит, гепатит, на уровне организма – сахарный диабет, на уровне биоценозов – эндемический зуб, на социальном уровне – авитаминозы.

3. ФЕРМЕНТЫ

Ферменты, или энзимы это биокатализаторы белковой природы. Fermentum (лат.) – закваска. Enzyme (греч.) – в дрожжах. Белковая природа ферментов доказана в 1922 году. В 90-е годы открыты рибозимы – РНК биокатализаторы.

Ферменты так же, как и неорганические катализаторы:

1. *Ускоряют только возможные реакции.* В присутствии катализатора реакция с высокой энергией активации изаменяется на реакцию с низкой энергией активации. В отсутствие ферментов реакции происходят, но очень медленно. Например, в организме человека за сутки распадается до CO_2 и H_2O 0,5 кг углеводов. Без ферментов при тех же условиях потребовалось бы 10 тыс. лет.

2. *Ферменты не изменяют направления реакции.* Например, Глн гидролизуется до Глу и аммиака – реакция необратима и сопровождается выделением энергии. Для обратной реакции – синтеза Глн требуется источник энергии (АТФ) и другой фермент (глутаминсинтетаза).

глутаминаза

Глн -----→Глу + NH_3 + энергия

глутаминсинтетаза

Глу + NH_3 -----→Глн

АТФ → АДФ + P_H

3. *Ферменты не изменяют положение равновесия в обратимых реакциях.* Если фермент ускоряет прямую реакцию в 10^8 раз, то и обратную реакцию он должен ускорять в 10^8 раз.

4. *Ферменты не расходуются при реакциях.* Так же как и неорганические катализаторы, они только снижают энергетический барьер реакции.

Ферменты как катализаторы существенно отличаются от неорганических катализаторов.

1. *Огромная активность (10^5 - 10^{17}).* По сравнению с неорганическими катализаторами они эффективнее и присутствуют в очень малых количествах. При анализах их невозможно выделить из биоматериала. Активность фермента определяют по накоплению продукта реакции или по исчезновению субстрата.

2. *Ускорение в мягких условиях (37° , pH 7, 1 атм).* Любые денатурирующие факторы снижают скорость реакции.

3. *Специфичность – абсолютная или относительная.* Это возможность катализировать только определённые реакции. Фермент с абсолютной специфичностью может связываться только с единственным субстратом (аргиназа с аргинином, лактаза с лактозой). Известны ферменты, обладающие стереоспецифичностью – фумаратгидратаза не действует на транс-изомер фумарата – малеиновую кислоту. Ферменты с относительной (широкой субстратной) специфичностью могут связываться с несколькими сходными по структуре субстратами. Например, панкреатическая липаза может гидролизовать любые пищевые жиры.

4. *Широта действия ферментов в целом.* В природе имеется огромное разнообразие химических реакций: реакции распада, синтеза, изомеризации, окисления, восстановления и т.д.

5. *Регулируемость.* Каталитическая эффективность одного и того же количества фермента может быть разной. Фермент может находиться в активной или неактивной форме, поэтому иногда меньшее количество фермента вызывает более высокую скорость реакции.

3.1. СВОЙСТВА ФЕРМЕНТОВ КАК БЕЛКОВ

Белковая природа ферментов доказана многими их свойствами.

1. $M = 10^4 - 10^6$ Да. Ферменты имеют такую же молекулярную массу как все белки и такую же структурную организацию.

2. Колоколообразная зависимость скорости реакции от t° . У теплокровных оптимальная температура для большинства ферментов $37^\circ - 40^\circ$. Скорость реакции снижается как при повышении, так и при снижении температуры. Исключения: миокиназа сохраняет активность при нагревании до 100° , АТФаза в митохондриях активнее при 0° . Зависимость от температуры должна учитываться в медицине и фармации. Хранение крови, белковых лекарственных препаратов, органов для пересадки должно производиться при низких температурах. Искусственную гипотермию применяют при некоторых длительных операциях и при инсульте. При низкой температуре происходит снижение скорости реакций и увеличивается время жизни тканей. Повышение температуры при лихорадочных состояниях приводит к расточительному использованию эндогенных субстратов. Кроме того, наиболее термолабильные ферменты могут повреждаться. Смертельной является температура выше $43,3^\circ$. В истории медицины известны только единичные случаи более высокой температуры у больных. Во время первой мировой войны в госпитале был больной в сознании с температурой $43,4^\circ$. В то же время известно, что повышение температуры до 38° – это защитная реакция организма, и применять жаропонижающие лекарства в таком случае не рекомендуется.

3. Колоколообразная зависимость скорости реакции от pH . У млекопитающих большая часть ферментов имеет оптимум $pH = 7,4$. Это pH крови и межклеточной жидкости. Значение буферных систем организма в том, что они поддерживают pH для оптимальной активности ферментов. При изменении pH скорость реакций снижается. Например, для человека несовместимы с жизнью ацидоз – pH плазмы ниже 6,8, алкалоз – pH выше 8. В лабораторной диагностике, в экспериментальной работе при определении

ферментов всегда готовят буферные растворы. Известно, что пепсин имеет оптимум $pH = 1,5-2,5$, поэтому в качестве лекарства его используют с HCl (ацидин-пепсин). Растворы кислот и щелочей применяют в качестве дезинфицирующих средств, т.е. изменение pH убивает микробы.

4. *Денатурируемость тяжёлыми металлами, растворителями, излучениями.* Все факторы денатурации приводят к потере биологической активности. Как и любой белок, фермент может быть активным только в третичной или четвертичной структуре.

5. *Обратимое высаливание.* Этот процесс очень важен для выделения ферментов из гомогенатов тканей. На практике это используется при получении ферментов для экспериментальной работы, или для получения ферментов с целью использования в медицине как лекарств, реагентов и т.д.

6. *Узнавание лигандов (специфичность, регулируемость).* Лигандами называются любые вещества, которые связываются с активными центрами белков. Лигандами для ферментов являются: субстраты, кофакторы (небелковая часть фермента), регуляторы активности.

7. *Скорость ферментативной реакции зависит от концентрации субстрата* (рис. 1).

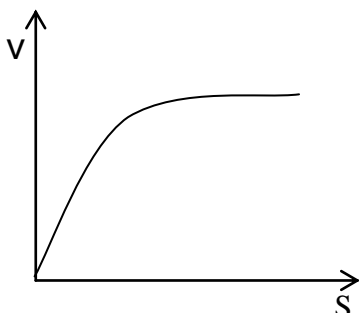


Рис. 1 Зависимость скорости ферментативной реакции от концентрации субстрата

При низких концентрациях субстрата вероятность столкновения с молекулой фермента мала и образование продукта будет происходить очень медленно. С увеличением концентрации субстрата вероятность столкновения возрастает, скорость реакции увеличивается. Когда все активные центры молекул фермента заполняются субстратом, скорость реакции становится постоянной (максимальной). Концентрация субстрата, при которой достигается

максимальная скорость, называется *насыщающей*. Концентрация субстрата, при которой скорость реакции равна половине максимальной, называется константой Михаэлиса (K_m). K_m характеризует сродство фермента к субстрату, то есть способность фермента связывать субстрат. Чем меньше K_m , тем выше сродство.

8. Зависимость скорости реакции от концентрации фермента (рис. 2).

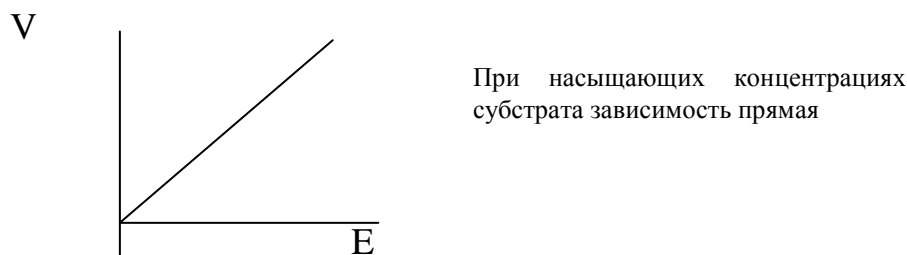


Рис. 2 Зависимость скорости реакции от концентрации фермента

Определение активности фермента

Активность ферментов определяют

- по скорости убывания субстрата;
- по скорости образования продукта.

которое катализирует превращение 1 мкмоль вещества в 1 минуту.

$$\text{Удельная активность} = \frac{\text{мкмоль}}{\text{мин} \times \text{мг белка}}$$

3.2. КЛАССИФИКАЦИЯ ФЕРМЕНТОВ

Количество ферментов составляет несколько тысяч, поэтому ещё в 1961 году принята международная классификация ферментов. В 1972 году предложено каждый фермент идентифицировать четырёхзначным шифром. Например, лактатдегидрогеназа (ЛДГ) – 1.1.1.27. В настоящее время на практике чаще используется рабочее название фермента, а при необходимости научное. Рабочее название ферментов имеет суффикс «аза», присоединенный к названию субстрата, например, липаза, сахараза. Этот суффикс может быть также присоединен к названию химического превращения

определенного субстрата, например, лактатдегидрогеназа. Однако в употреблении сохранилось небольшое количество тривиальных, исторически закрепленных названий ферментов, которые не дают представления ни о субстрате, ни о типе химического превращения, например, трипсин, пепсин.

Согласно систематической номенклатуре все ферменты делятся на 6 классов в зависимости от типа катализируемой химической реакции. В каждом классе есть многочисленные подклассы и подподклассы. Каждый класс имеет порядковый номер, строго за ним закрепленный.

1. класс – оксидоредуктазы. Катализируют различные окислительно-восстановительные реакции. Сюда входят подклассы дегидрогеназ (отщепляющих атомы водорода), редуктаз (присоединяющих атомы водорода), оксигеназ (внедряющих кислород в субстрат) и др.

2. класс – трансферазы. Катализируют перенос функциональных групп от одного субстрата на другой. Сюда относят аминотрансферазы (переносят аминогруппу), метилтрансферазы (метильную группу), киназы (переносят остаток фосфорной кислоты от АТФ).

3. класс – гидролазы. Катализируют реакции гидролиза (расщепления ковалентной связи с присоединением молекулы воды по месту разрыва). Сюда относят эстеразы, гликозидазы, пептидазы.

4. класс – лиазы. Отщепляют от субстратов негидролитическим путем определенную группу, например, декарбоксилазы, альдолазы.

5. класс – изомеразы. Катализируют различные внутримолекулярные превращения (изомеразы, мутазы – в том случае, когда изомеризация состоит во внутримолекулярном переносе какой-либо группы).

6. класс – лигазы (синтетазы). Катализируют реакции присоединения друг к другу двух молекул с образованием ковалентной связи, этот процесс сопряжен с затратой энергии АТФ (РНК-полимераза).

3.3. СТРОЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ

Ферменты могут быть простыми белками (рибонуклеаза), они состоят только из белковой части. Большинство ферментов – это сложные белки, которые состоят из белковой части *апофермента* и небелковой *кофактора*. По химической природе кофакторы могут быть неорганическими (металлы) или органическими (*коферменты*). Коферменты – это органические вещества, в состав которых часто входят витамины или их производные (таблица 1). Комплекс апофермента с кофактором называется *холофермент*. Если кофактор с апоферментом связан прочной ковалентной связью, его называют *простетической группой*. Коферментами являются НАД, НАДФ, КоА. Простетические группы это, например, ФАД, ФМН, биотин, гем. Роль кофакторов в катализе очень разнообразна. В целом они, как правило, переносчики каких-либо химических групп.

3.3.1. СТРУКТУРА АКТИВНОГО ЦЕНТРА

Активный каталитический центр фермента – это центр связывания с субстратом. Он формируется в третичной структуре из функциональных групп 5-10 аминокислот. Связываясь с этим центром, субстрат претерпевает химические превращения, и образуется продукт реакции. Процесс катализа протекает в 2 этапа. На первом этапе происходит образование фермент-субстратного комплекса: 1. $E (enzyme) + S (substrate) \leftrightarrow ES$.

На втором этапе происходит образование продукта и высвобождение фермента: 2. $ES \leftrightarrow E + P (product)$. В активный центр фермента могут входить ионы металлов или коферменты. Табл.1 Специфичность взаимодействия фермента со своим субстратом объясняли две гипотезы. Вначале это была гипотеза Фишера. Согласно ей активный центр фермента комплементарен – соответствует и химически и стерически субстрату как “ключ замку”. Активный центр рассматривался как стабильная, жёстко детерминированная структура модель

«жесткой матрицы». Позднее Кошленд предложил другую гипотезу, по которой каталитический активный центр не является заранее подогнанным под стерическую и химическую структуру субстрата. Согласно этой гипотезе субстрат, связываясь с активным центром, индуцирует изменение его конформации, молекула субстрата тоже меняет конформацию.

Таблица 1

Коферменты

	Кофермент	Витамин	Основная функция
1	Тиаминпирофосфат	B ₁ – тиамин	Декарбоксилирование α-кетокислот
2	НАД – никотинамид-адениндинуклеотид	РР – никотинат	Перенос Н
3	НАДФ – НАД-фосфат	–//–	–//–
4	ФМН - флаavinмононуклеотид	B ₂ – рибофлавин	–//–
	Кофермент	Витамин	Основная функция
5	ФАД – флавинадениндинуклеотид	–//–	–//–
6	КоQ (убихинон)	—	–//–
7	Липоевая кислота	—	–//–
8	Пиридоксальфосфат	B ₆ – пиридоксин	Перенос NH ₂ , декарбоксилирование
9	Биотин	Н – биотин	Присоединение CO ₂
10	Тетрагидрофолат	Фолиевая кислота	Перенос C ₁
11	КоА – кофермент ацилирования	Пантотеновая кислота	Перенос ацилов
12	Кобаламины	B ₁₂ – кобаламины	Перенос C ₁ , изомеризация
13	ГЕМ	—	Перенос электронов
14	Нафтогидрохиноны	К – нафтогидрохиноны	γ-карбоксилирование глутамата

В результате каталитический центр приобретает соответствие субстрату и стерически и химически и, таким образом, обеспечивается более высокая эффективность катализатора. Эта гипотеза индуцированного соответствия нашла экспериментальное подтверждение.

3.4. МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ ФЕРМЕНТОВ

Молекулярные механизмы действия ферментов условно можно разделить на несколько этапов. Самое главное, что в результате одного или нескольких механизмов происходит замена реакции на другую реакцию с более низкой энергией активации.

1. Сближение и ориентация. Фермент осуществляет своё каталитическое действие, только находясь в прямом контакте с субстратом, одним или несколькими. При этом фермент обеспечивает пространственное расположение одного или двух субстратов так, чтобы это было выгодно для каталитически активных групп. Упорядоченное расположение приводит к снижению энергии активации. По этому механизму обычно действуют лигазы-синтетазы.

2. Напряжение и деформация. Это теория "дыбы". Присоединение фермента к субстрату меняет конформацию субстрата, как бы растягивает, деформирует субстрат. Чем больше длина межатомной связи, тем меньше энергия её разрыва. Места растяжения легче атакуются молекулами воды. Этот механизм хорошо объясняет действие гидролаз, лиаз, некоторых трансфераз.

3. Общий кислотно-основной катализ. В активном центре фермента всегда имеются функциональные группы аминокислот, являющиеся либо донорами протонов (кислоты), либо акцепторами протонов (основания). Доноры H^+ : $COOH$, SH , NH_3^+ . Акцепторы H^+ : NH_2 , COO^- и др. Таким образом, в ходе катализа фермент проявляет свойства и кислоты и основания, что невозможно для обычных катализаторов. Кислотно-основной катализ характерен для гидролаз, лиаз, изомераз.

4.Ковалентный катализ. Имеет место у ферментов, которые образуют ковалентные связи между каталитическими группами активного центра и субстратами. В каталитические центры таких ферментов входят функциональные группы с положительным зарядом –*электрофилы* (ионы металлов, NH_3^+), или функциональные группы с отрицательным зарядом – *нуклеофилы* (Гис, Арг, Лиз). По этому механизму работают отдельные ферменты из разных классов: химотрипсин (гидролазы), фосфоглюкомутаза (изомеразы), фосфоглицеральдегиддегидрогеназа (оксидоредуктазы).

5.Металло-ионный катализ. Каждый четвертый фермент является металлоферментом. Роль металлов в катализе различна. Ионы металлов могут образовать комплексы с субстратами и увеличивать их стабильность (киназы – Mg^{2+} - АТФ). Металлы могут служить «мостиком» между ферментом и субстратом $\text{E} - \text{Me} - \text{S}$. Такие ферменты называют «металлоэнзимы», например, пируваткиназа – Mg^{2+} - фосфоенолпируват. Иногда металлы необходимы для стабилизации третичной или четвертичной структуры фермента, например, Zn^{2+} для алкогольдегидрогеназы. Ионы металлов могут непосредственно участвовать в катализе. Это металлы с переменной валентностью, например, $\text{Fe}^{2+} - \text{e} \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{e} \rightarrow \text{Fe}^{2+}$ в цитохромах. Ионы металлов выступают в роли активаторов ферментов, например, Ca^{2+} - активатор очень многих ферментов.

3.5. ИЗОФЕРМЕНТЫ И ИХ МЕДИЦИНСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

Изоферменты – это ферменты, катализирующие одну и ту же реакцию, но различающиеся по первичной структуре белка. Изоферменты всегда являются олигомерными белками и состоят из негомологичных протомеров. Эти протомеры кодируются разными генами. Причем та или иная ткань преимущественно синтезирует определенные виды протомеров. В результате определенной комбинации формируются ферменты с различной структурой – изоферменты. Они различаются по молекулярной массе, заряду, кинетике (V_{max} и K_{M}), иммунологическим и другим свойствам. Давно открыты и хорошо изучены изоферменты лактатдегидрогеназы (ЛДГ). Молекула ЛДГ состоит из

4-х протомеров, 2-х разных типов: М (Muscle - мышца) и Н (Heart - сердце). Комбинация этих субъединиц образует 5 изоферментов ЛДГ:

НННН	НННМ	ННММ	НМММ	ММММ
ЛДГ ₁	ЛДГ ₂	ЛДГ ₃	ЛДГ ₄	ЛДГ ₅

Изоферменты ЛДГ различаются по электрофоретической подвижности. Это позволило установить их тканевую принадлежность. ЛДГ₁ имеет самую высокую активность в сердечной мышце и почках, ЛДГ₅ – в печени и скелетных мышцах, другие изоформы активны в других органах.

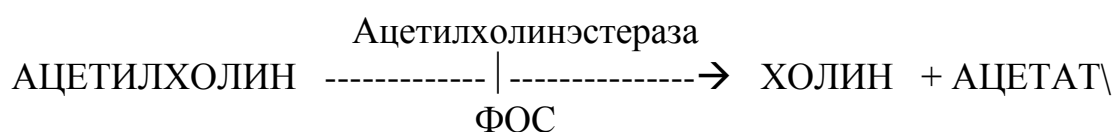
Медицинское значение. Активность ЛДГ в плазме крови повышается при острых поражениях сердца, печени, почек и др. органов, а также при различных анемиях. Диагностическое значение имеет определение изоферментов, так как только они являются органоспецифичными. Например, при инфаркте миокарда в крови резко возрастает ЛДГ₁, при гепатитах – ЛДГ₅, при опухолях, остром лейкозе ЛДГ_{2,3}.

3.6. РЕГУЛЯЦИЯ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТОВ

Активаторы и ингибиторы в физиологических условиях это регуляторы активности ферментов. В роли активаторов могут быть H^+ - активаторы пепсина, катионы металлов, например, Mg^{2+} является активатором очень многих ферментов в обмене углеводов, в биосинтезе белка и др. Активаторами ферментов могут быть анионы, например, Cl^- активирует α -амилазу. Активаторами ферментов могут быть белки, например, белок кальмодулин – активатор некоторых протеинкиназ.

Ингибиторами могут быть эндогенные вещества – регуляторы активности и экзогенные вещества – лекарства, яды, токсины бактерий и т.д. Ингибиторы делятся на необратимые и обратимые. Необратимые ингибиторы образуют с ферментом прочную ковалентную связь и подавляют его активность на всё время жизни фермента. Обратимые ингибиторы присоединены к ферментам более слабыми не ковалентными связями и действуют кратковременно.

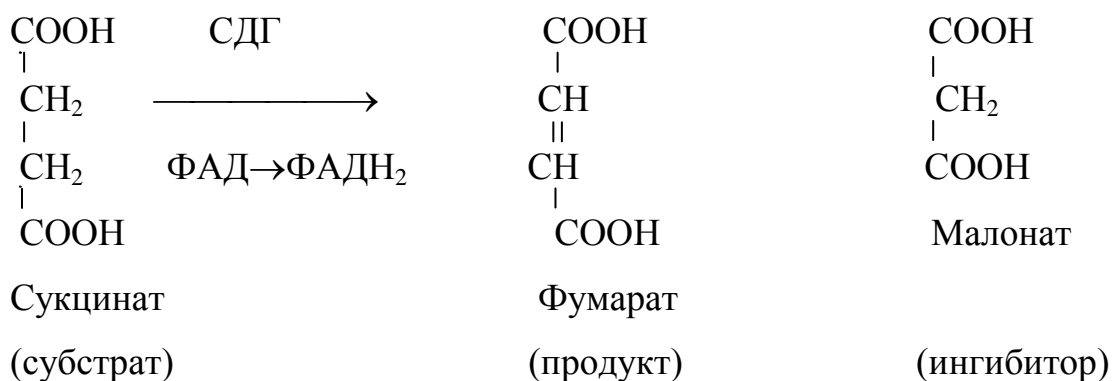
Факторы денатурации не являются ингибиторами, хотя и подавляют действие ферментов. Ингибиторы – специфические для определенной группы ферментов вещества. Например, цианиды – это необратимые ингибиторы ферментов, имеющих в своём составе Fe^{3+} (цитохромоксидаза). Иодорганические соединения ингибируют ферменты, содержащие -SH группы в активном центре (фосфоглицеральдегиддегидрогеназа). ФОС (фосфорорганические соединения) необратимо ингибируют ферменты, содержащие в активном центре -ОН группу серина. К таким ферментам относится ацетилхолинэстераза. Этот фермент катализирует реакцию:



Если фермент заингибирован и эта реакция не происходит, ацетилхолин (АХ) накапливается. АХ – это возбуждающий медиатор, он вызывает эффект перевозбуждения, например, судороги, спазм дыхательных мышц. В быту ФОСы это инсектициды, а также БОВ нервно-паралитического действия (зарин). В медицине используются лекарства, являющиеся необратимыми ингибиторами. Например, аспирин – необратимый ингибитор ферментов циклооксигеназ. Обратимые ингибиторы подразделяются на неконкурентные и конкурентные. Неконкурентные ингибиторы связываются с ферментами не в активном субстратном центре, а в другом месте. Неконкурентные ингибиторы могут связываться либо с ферментом, либо с фермент-субстратным комплексом. Этот тип ингибирования приводит к повышению K_M – так как через конформационные изменения уменьшает сродство фермента к субстрату. Неконкурентное ингибирование приводит к снижению V_{\max} .

Обратимые конкурентные ингибиторы связываются с субстратным центром. Они конкурируют с субстратом за связывание с этим центром. Конкуренция с субстратом очень часто обусловлена структурным сходством ингибитора с субстратом. Классическим примером ингибирования такого типа является ингибирование фермента сукцинатдегидрогеназы малоновой кислотой. Малоновая кислота – структурный аналог сукцината, имея две

карбоксильные группы, связывается с активным центром сукцинатдегидрогеназы. Однако отщепление двух атомов водорода невозможно, следовательно, реакция замедляется. Конкурентные ингибиторы увеличивают только K_M и не меняют V_{max} . Конкурентное ингибирование можно либо полностью устранить, либо ослабить, повысив концентрацию субстрата



По механизму конкурентного ингибирования оказывают своё лечебное действие многие лекарства. Например, антибактериальное действие сульфаниламидных препаратов основано на подавлении синтеза фолиевой кислоты у бактерий. Фолиевая кислота (тетрагидрофолат) необходима для синтеза нуклеиновых кислот. Бактерии её синтезируют, используя ГТФ, ПАБК (парааминобензойная кислота), глутамат. Сульфаниламидные препараты являются структурными аналогами ПАБК и конкурентными ингибиторами ферментов синтеза фолиевой кислоты. Кроме того, сульфаниламиды могут использоваться как псевдосубстраты, и синтезируется соединение похожее на фолиевую кислоту, но не выполняющее её функции.

Функции фолиевой кислоты, точнее её коферментной формы тетрагидрофолата – перенос одноуглеродных групп при синтезе нуклеотидов и нуклеиновых кислот. Без фолиевой кислоты прекращается деление и рост бактерий.

3.7. МЕХАНИЗМЫ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ОТДЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ

Регуляция каталитической активности отдельных ферментов это высокоэффективный и быстрый способ регуляции метаболизма. Такая

регуляция осуществляется с помощью нескольких механизмов. Их можно разделить на физические и химические. Физические механизмы происходят без образования или разрушения ковалентных связей. Наоборот химические механизмы регуляции активности ферментов осуществляются с образованием или разрушением ковалентных связей. Можно выделить три основных **физических** механизма: изостерический, аллостерический, регуляция через «белок-белок» взаимодействия.

Изостерический механизм. Регулятор связывается с тем же активным центром, что и субстрат. Например, металлы.

Аллостерический механизм. Аллостерические (ключевые) ферменты имеют кроме каталитического активного центра, с которым связывается субстрат, аллостерический центр, с которым связываются регуляторы – аллостерические эффекторы. Аллостерическими эффекторами являются субстраты, метаболиты, коферменты (НАД⁺ и НАДН), макроэрги (АТФ и АДФ).

Аллостерические регуляторы, связываются с аллостерическим центром, в результате меняется конформация фермента, и через конформационные изменения меняется сродство активного центра к субстрату. Если это аллостерический активатор, активность фермента увеличивается, если ингибитор – снижается.

Регуляция «белок-белок». Возможны два механизма: 1) регуляция через внутримолекулярные взаимодействия олигомерных белков и 2) регуляция через межмолекулярные взаимодействия. Регуляция через внутримолекулярные взаимодействия может происходить без изменения олигомерности. Например, без изменения олигомерности происходит связывание кислорода с гемоглобином. Гемоглобин активен только в виде тетрамера из 4-х протомеров. При этом в результате взаимного влияния протомеров друг на друга гемоглобин способен связать кислорода не в 4 раза больше по сравнению с миоглобином, который состоит из одной полипептидной цепи, а в 400 раз. Такое явление называется *положительная кооперативность* олигомерных белков и мультиферментных комплексов.

Регуляция с изменением олигомерности происходит путём либо ассоциации, либо диссоциации протомеров. Например, фермент протеинкиназа А в ассоциированной форме тетрамера неактивен. После присоединения к регуляторным протомерам второго посредника цАМФ происходит диссоциация на два димера и активация фермента. Это пример *отрицательной кооперативности* олигомерных белков и мультиферментных комплексов. Процесс обратим, когда цАМФ разрушается, димеры вновь объединяются и фермент снова неактивен. Регуляция через межмолекулярные взаимодействия происходит с помощью специальных белковых ингибиторов, например, в плазме. Их функция предотвращение несвоевременного разрушения белков. Так, α_1 -антипептидаза предотвращает гидролиз белков пептидазами разрушенных клеток, пептидазами кининовой системы; антитромбины предотвращают тромбообразование вне очага повреждения.

Химические механизмы: 1) химическая модификация и 2) ограниченный протеолиз. Химическая модификация это присоединение или отщепление какой-либо химической группы. Самая быстрая и наиболее часто встречаемая химическая модификация – присоединение остатков фосфата или их отщепление ферментами протеинкиназами или протеинфосфатазами. Протеинкиназы переносят фосфат от АТФ к белку. Протеинфосфатазы отщепляют неорганический фосфат от белка. При этом существуют ферменты, которые в результате фосфорилирования активируются (киназа фосфорилазы), и ферменты, которые в результате фосфорилирования ингибируются (гликогенсинтаза).

Ограниченный протеолиз это отщепление строго определенного количества аминокислот в строго определенном месте. Например, неактивный претрипсин превращается в активный трипсин путем отщепления гексапептида с N-конца белковой молекулы. Путем ограниченного протеолиза активируются пептидазы ЖКТ, пептидазы фибринолиза и т.д.

3.8. РЕГУЛЯЦИЯ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ ЦЕПЕЙ

КЛЮЧЕВЫЕ ФЕРМЕНТЫ

Все метаболические пути в клетке организованы либо в виде цепей (гликолиз, глюконеогенез) либо в виде циклов (цикл Кребса). В каждой цепи или цикле всегда имеются один или несколько регуляторных ферментов. Такие ферменты часто называют ключевыми, потому что именно они определяют общую скорость метаболического пути. Ключевые ферменты по сравнению с неключевыми имеют большую молекулярную массу, всегда четвертичную структуру, несколько аллостерических центров. Ключевые ферменты катализируют необратимые реакции.

Очень часто ключевой фермент катализирует первую реакцию метаболического пути. При этом в некоторых процессах конечный продукт метаболического пути является ингибитором первого фермента. Регуляция по такому типу называется ингибированием по принципу отрицательной обратной связи – ретроингибирование.

Второй вариант ключевого фермента – лимитирующий фермент. В каждой мультиферментной системе есть фермент с самой низкой активностью. Такие ферменты практически мгновенно реагируют на действие регулятора.

Третий вариант ключевых ферментов – ферменты на развилках метаболических путей. Такие ферменты конкурируют за один субстрат, и с помощью регуляции активируется нужный в этот момент фермент.

3.9. ВНУТРИКЛЕТОЧНАЯ АУТОРЕГУЛЯЦИЯ ЕЁ ВИДЫ И ЗНАЧЕНИЕ

У высших организмов имеется межклеточная регуляция – гормональная и внутриклеточная ауторегуляция. Выделяют 4 механизма внутриклеточной ауторегуляции.

I. *Мембранный (компартиментализация)* обеспечивает:

- разделение субстратов и ферментов и возможность протекания в разных отсеках (компартаментах) противоположных процессов. Например, окисление жирных кислот происходит в матриксе митохондрий, а их синтез в цитозоле.
- Избирательную (регулируемую) проницаемость для субстратов, метаболитов, макроэргов, коферментов. Например, часть реакций синтеза мочевины, синтеза глюкозы происходит в митохондриях, а другая часть в цитозоле.
- Независимую регуляцию противоположных процессов. Например, инсулин ускоряет синтез гликогена и замедляет распад гликогена.
- На мембранах могут находиться иммобилизованные ферменты и полиферментные комплексы, имеющие преимущества перед отдельными ферментами.

II. Сопряжение: 1. Положительное. 2. Конкуренция

Положительное сопряжение возможно через субстраты и продукты реакции. Так в метаболических цепях и циклах продукт первого фермента является субстратом для следующего. Например, при синтезе гликогена глюкозо-6-фосфат – продукт действия гексокиназы является субстратом для следующего фермента – фосфоглюкомутазы. От скорости предыдущей реакции зависит скорость следующей. Положительное сопряжение возможно через коферменты. Например, в процессе гликолиза через один кофермент (НАД) сопряжены два фермента ФГАДГ (фосфоглицеральдегиддегидрогеназа) и ЛДГ (лактатдегидрогеназа).

Положительное сопряжение и конкуренция на уровне макроэргов: при голоде, заболеваниях АТФ поддерживает функции более жизненно важных органов (мозга) за счет менее важных (скелетных мышц). Конкуренция всегда имеет место на разветвлениях метаболических путей.

III. Изменение активности ферментов

1. Изостерическое
2. Аллостерическое
3. Взаимодействие белок – белок
4. Химическая модификация

5. Ограниченный протеолиз

IV. Изменение концентрации ферментов

1. Изменение синтеза (индукция, репрессия)
2. Изменение распада
3. Индукция – увеличение синтеза фермента, например, субстратами (пища), гормонами (анаболические стероиды), лекарствами. Поэтому нельзя ребенку прикорм давать сразу в большом количестве, или давать много пищи при выходе из голодания. Индукция ферментов, участвующих в метаболизме лекарств вызывает «привыкание» к ним. Репрессия – уменьшение синтеза фермента, например, метаболитами, гормонами, лекарствами.

Изменение распада фермента, то есть регуляция времени жизни фермента, показана, например, для аргиназы – фермента цикла мочевины. У вегетарианцев время жизни фермента больше, чем у тех, кто получает белки животного происхождения.

4. ФЕРМЕНТЫ В МЕДИЦИНЕ И ФАРМАЦИИ

4.1. РОЛЬ ФЕРМЕНТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ

Ферменты используют для изучения патогенеза заболеваний. Заболевания, связанные с повреждением ферментов, называют энзимопатии: **наследственные(первичные) и приобретенные (вторичные)**. Первичные энзимопатии возникают в результате мутаций в ДНК, при которых возникает дефицит или полное отсутствие фермента. Например, дефект фенилаланингидроксилазы приводит к фенилкетонурии, дефект галактозо-1-фосфатуридилтрансферазы вызывает галактоземию, дефицит лактазы – непереносимость лактозы. Лизосомные болезни накопления (гликогенозы, липидозы) возникают при дефектах ферментов катаболизма гликогена, сфингомиелина, ганглиозидов. Гемофилия В вызвана отсутствием протеиназы (фактор IX) в системе свертывания крови.

Приобретенные энзимопатии возникают при хронических заболеваниях. Например, гастрит у студентов приводит к недостаточности ферментов в желудке. Хронический панкреатит, гепатит, энтерит приводят к недостаточности ферментов ЖКТ. Геморрагии – подкожные или внутренние кровоизлияния при К-авитаминозе возникают из-за нарушения карбоксилирования проферментов (II, VII, IX, X факторов) в системе свертывания крови. При атеросклерозе возникает недостаточность сосудистой липопротеинлипазы. Считается, что при любом заболевании возникает та или иная вторичная энзимопатия.

Патологическая активация ферментов. Заболевания могут возникать в результате патологической активации ферментов. Острый панкреатит развивается в результате активации ферментов кининовой системы плазмы трипсином из поврежденных участков поджелудочной железы. Почечная гипертония возникает при патологической активации ренина.

4.2. ЭНЗИМОДИАГНОСТИКА

Ферменты применяют для диагностики заболеваний. Их можно определять в плазме крови, клетках крови, моче, слюне и т. д. Чаще всего определяют активность ферментов в плазме. Ферменты плазмы делят на функциональные и нефункциональные.

Функциональные: это ферменты, синтезирующиеся в печени и поступающие в плазму в виде проферментов. К ним относятся, например, ферменты систем свертывания крови, фибринолиза, кининов, холинэстераза.

Нефункциональные – поступают в плазму при воспалении и некрозе. Гиперферментемия это только диагностический тест. В диагностике полезны органоспецифичные ферменты. Это ферменты активные только в одном органе. Например, в печени максимально активны ЛДГ₅, АлАТ>АсАТ; в миокарде – ЛДГ₁, АсАТ>АлАТ, КК; в поджелудочной железе - α-амилаза, липаза; в предстательной железе – кислая фосфатаза. Другой аспект использования

ферментов в диагностике это применение их в качестве реагентов для определения глюкозы, холестерина, мочевины, лактата. Использование ферментов увеличивает чувствительность и специфичность биохимического метода.

4.3. ЭНЗИМОТЕРАПИЯ

Применение ферментов в медицине предложено еще И.П. Павловым для лечения больных с пониженной секрецией желудочного сока и недостаточностью пепсина. В настоящее время в качестве заместительной энзимотерапии широко используются смеси пищеварительных ферментов (фестал, мезим, панзинорм). Уже давно применяют ферменты (трипсин, химотрипсин и др.) для лечения гнойных ран, трофических язв в форме повязок и аппликаций. ДНКазы, РНКазы применяют для лечения вирусных и злокачественных заболеваний. Коллагеназа, эластаза, гиалуронидаза (лидаза) используются для рассасывания рубцов и лечения суставов. Парентеральное применение ферментов затруднено в связи с их белковой природой. Они либо гидролизуются протеазами крови, либо блокируются антителами. Однако при некоторых заболеваниях применяются достаточно эффективно, например, для рассасывания тромбов (стрептодеказа), для лечения некоторых форм лейкозов (аспарагиназа). Для предотвращения тромбоза, больным с ишемической болезнью сердца назначают тканевой активатор плазминогена. Перспективны иммобилизованные ферменты, которые более стабильны, обладают более длительным действием, меньшей аллергенностью. Чаще всего растворимые иммобилизованные ферменты получают путем ассоциации с декстраном. Другой подход – микрокапсулирование и включение в липосомы. В этом случае ферменты защищены от действия протеаз.

Кроме ферментов в терапии применяют коферменты. Например: коэнзим А при мышечной дистрофии, пиридоксальфосфат при судорожных состояниях

из-за недостатка тормозных медиаторов, тиаминпирофосфат (кокарбоксилаза) при недостаточности коронарного кровообращения.

Очень широко в медицинской практике в качестве лекарств применяют ингибиторы ферментов. Ингибиторы синтеза холестерина для лечения атеросклероза, ингибиторы пептидаз для лечения панкреатита, эмфиземы легких; аллопуринол – ингибитор ксантиноксидазы для лечения подагры.

Стандартизация и контроль качества ферментов как лекарств оценивают по их каталитической активности. Это связано с тем, что фармакологический эффект обусловлен именно биологической активностью препарата, а не обязательно его концентрацией. Для аналитических целей применяют ферментные электроды. Это комбинация электрохимических датчиков и иммобилизованных ферментов. Для контроля содержания пенициллина в средах применяют электрод с ферментом пенициллизой. Аналогичные ферментные электроды применяют для определения мочевины, аминокислот.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выбрать один правильный ответ

1. В ПРИСУТСТВИИ ФЕРМЕНТА ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ БАРЬЕР РЕАКЦИИ

- 1) снижается
- 2) повышается
- 3) не меняется

2. УЧАСТОК МОЛЕКУЛЫ ФЕРМЕНТА, ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЙ ЕГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С СУБСТРАТОМ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) кофермент
- 2) простетическая группа
- 3) апофермент
- 4) активный центр
- 5) аллостерический центр

3. В ПЕРЕНОСЕ ВОДОРОДА УЧАСТВУЕТ КОФЕРМЕНТ

- 1) НАД⁺
- 2) ТПФ
- 3) ТГФКН
- 4) КоА

4. АБСОЛЮТНОЙ СПЕЦИФИЧНОСТЬЮ ОБЛАДАЕТ ФЕРМЕНТ:

- 1) липаза
- 2) лактаза
- 3) трипсин

5. ИЗОФЕРМЕНТ ЛДГ₁ ПРЕДСТАВЛЕН СОЧЕТАНИЕМ СУБЪЕДИНИЦ

- 1) НННН
- 2) НННМ
- 3) ННММ
- 4) НМММ
- 5) ММММ

6. АКТИВНОСТЬ ПЕПСИНА ЖЕЛУДОЧНОГО СОКА ПРИ РН =5

- 1) повышена
- 2) снижена
- 3) в норме
- 4) отсутствует

7. ВЕЛИЧИНА КОНСТАНТЫ МИХАЭЛИСА ХАРАКТЕРИЗУЕТ

- 1) зависимость от температуры
- 2) зависимость от рН

3) сродство фермента и субстрата.

8. АКТИВАЦИЯ ПРОТЕИНКИНАЗЫ А ПРОИСХОДИТ ЗА СЧЕТ МЕХАНИЗМА РЕГУЛЯЦИИ

- 1) изостерический
- 2) аллостерический
- 3) белок-белок с изменением олигомерности
- 4) химическая модификация
- 5) ограниченный протеолиз

9. ФОС ЯВЛЯЮТСЯ ИНГИБИТОРАМИ ФЕРМЕНТОВ, ИМЕЮЩИХ В АКТИВНОМ ЦЕНТРЕ

- 1) SH группу цистеина
- 2) OH группу серина
- 3) Fe^{3+}

10. АКТИВАЦИЯ ПРЕПЕПСИНА И ПРЕТРИПСИНА ПРОИСХОДИТ ПУТЁМ

- 1) ограниченного протеолиза
- 2) фосфорилирования протеинкиназами
- 3) дефосфорилирования фосфатазами

11. ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ КОЛИЧЕСТВО СУБСТРАТА ПРИ КОНКУРЕНТНОМ ТИПЕ ИНГИБИРОВАНИЯ СКОРОСТЬ РЕАКЦИИ

- 1) не меняет
- 2) увеличивает
- 3) снижает

12. КЛЮЧЕВЫМИ (РЕГУЛЯТОРНЫМИ) ФЕРМЕНТАМ В ЦЕПИ РЕАКЦИЙ МОГУТ БЫТЬ

- 1) первые
- 2) вторые
- 3) самые быстрые

13. ПРИ НАРУШЕНИИ СИНТЕЗА ТИРОЗИНА ИЗ ФЕНИЛАЛАНИНА РАЗВИВАЕТСЯ ЗАБОЛЕВАНИЕ:

- 1) острый панкреатит
- 2) фенилкетонурия
- 3) серповидно-клеточная анемия

14. ПРИ ИНФАРКТЕ МИОКАРДА В КРОВИ ПОВЫШАЕТСЯ АКТИВНОСТЬ

- 1) ЛДГ₁
- 2) ЛДГ₂
- 3) ЛДГ₃
- 4) ЛДГ₄
- 5) ЛДГ₅

15. ДЛЯ ОБРАБОТКИ ГНОЙНЫХ РАН ПРИМЕНЯЕТСЯ ФЕРМЕНТ

- 1) трипсин
- 2) сукцинатдегидрогеназа
- 3) амилаза
- 4) лактаза

16. ПРИ ОТРАВЛЕНИИ ЦИАНИДАМИ ТОРМОЗИТСЯ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА

- 1) липазы
- 2) амилазы
- 3) трипсина
- 4) цитохромоксидазы

17. УЧАСТОК МОЛЕКУЛЫ ФЕРМЕНТА, ПРИ СВЯЗЫВАНИИ С КОТОРЫМ ОПРЕДЕЛЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗМЕНЯЕТСЯ АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТА НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) кофермент
- 2) простетическая группа
- 3) аллостерический центр
- 4) каталитический центр

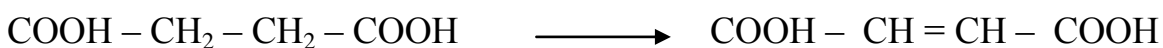
18. НЕБЕЛКОВАЯ ЧАСТЬ ФЕРМЕНТА, СОЕДИНЕННАЯ ПРОЧНОЙ КОВАЛЕНТНОЙ СВЯЗЬЮ С БЕЛКОВОЙ НАЗЫВАЕТСЯ:

- 1) апофермент
- 2) простетическая группа
- 3) кофермент
- 4) кофактор

19. СУЛЬФАНИЛАМИДНЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ПРЕПАРАТЫ ЭТО КОНКУРЕНТНЫЕ ИНГИБИТОРЫ СИНТЕЗА БАКТЕРИЯМИ ВИТАМИНА

- 1) тиамин (В₁)
- 2) рибофлавин (В₂)
- 3) фолиевой кислоты
- 4) никотинамида (РР)

20. ФЕРМЕНТ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЙ РЕАКЦИЮ ОТНОСИТСЯ К КЛАССУ



- 1) оксидоредуктазы
- 2) трансферазы
- 3) гидролазы
- 4) лиазы
- 5) изомеразы
- 6) лигазы (синтетазы)

21. К ФИЗИЧЕСКИМ МЕХАНИЗМАМ РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТА ОТНОСЯТ

- 1) изостерический
- 2) химическая модификация
- 3) ограниченный протеолиз
- 4) ацетилирование

22. ФЕРМЕНТ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЙ РЕАКЦИЮ РАЗРЫВА СВЯЗИ С УЧАСТИЕМ МОЛЕКУЛЫ ВОДЫ, ОТНОСИТСЯ К КЛАССУ

- 1) оксидоредуктазы
- 2) трансферазы
- 3) гидролазы
- 4) лиазы
- 5) изомеразы
- 6) лигазы (синтетазы)

23. ДЛЯ ОСОБЕННОСТЕЙ ЖИВЫХ ОРГАНИЗМОВ ХАРАКТЕРНО

- 1) неустойчивое равновесие с окружающей средой
- 2) соподчиненность уровней организации
- 3) закрытая система с мембранами, ферментами и макроэргами
- 4) отсутствие самовоспроизведения и саморегуляции

24. ДЛЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ НЕОБХОДИМЫ

- 1) моонуклеотиды
- 2) макроэрги и восстановленные коферменты
- 3) окисленные коферменты
- 4) аденозин

25. «ЭНЕРГОСТАНЦИЯМИ» КЛЕТКИ ЯВЛЯЮТСЯ ЕЁ ОРГАНЕЛЛЫ

- 1) рибосомы
- 2) ядро
- 3) митохондрии
- 4) лизосомы

26. ФУНКЦИЮ СИНТЕЗА БЕЛКА ВЫПОЛНЯЮТ ОРГАНЕЛЛЫ КЛЕТКИ

- 1) митохондрии
- 2) лизосомы
- 3) гиалоплазма
- 4) рибосомы

27. КОНКУРЕНТНЫЕ ИНГИБИТОРЫ ФЕРМЕНТОВ ОЧЕНЬ ЧАСТО ЯВЛЯЮТСЯ СТРУКТУРНЫМИ АНАЛОГАМИ

- 1) субстратов
- 2) конечных метаболитов
- 3) коферментов

4) простетических групп

28. КОФЕРМЕНТЫ – ЭТО

- 1) группа ферментов с одинаковой активностью
- 2) ферменты одного цикла
- 3) низкомолекулярные органические вещества (часто производные водорастворимых витаминов), необходимые для работы ферментов

29. ЗНАЧЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ МЕДИЦИНЫ ЗАКЛЮЧАЕТСЯ В

- 1) их участия в патогенезе заболевания
- 2) неиспользовании их в диагностике
- 3) невозможности применения ферментов и их ингибиторов как лекарств
- 4) участия их в сплайсинге

30. ФЕРМЕНТЫ ПО ХИМИЧЕСКОЙ ПРИРОДЕ – ЭТО

- 1) углеводы
- 2) липиды
- 3) белки
- 4) ДНК

31. ФЕРМЕНТЫ – ЭТО:

- 1) катализаторы
- 2) витамины
- 3) регуляторы
- 4) рецепторы

32. ФЕРМЕНТЫ И НЕОРГАНИЧЕСКИЕ КАТАЛИЗАТОРЫ

- 1) не изменяются в процессе реакции
- 2) катализируют термодинамически невозможные реакции
- 3) сдвигают положение равновесия обратимых реакций
- 4) снижают энергию активации
- 5) обладают специфичностью

33. ФЕРМЕНТЫ ОТЛИЧАЮТСЯ ОТ НЕОРГАНИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ ТЕМ, ЧТО

- 1) действуют в жестких условиях
- 2) специфичны
- 3) не регулируются
- 4) снижают энергию активации

34. ФЕРМЕНТЫ, КАТАЛИЗИРУЮЩИЕ ОДНУ И ТУ ЖЕ РЕАКЦИЮ, НО ОТЛИЧАЮЩИЕСЯ ПО СОСТАВУ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИМ СВОЙСТВАМ, НАЗЫВАЮТСЯ

- 1) изоферментами

- 2) сопряженными ферментами
- 3) конкурирующими ферментами
- 4) лимитирующими ферментами

35. ПРОСТОЙ ФЕРМЕНТ СОСТОИТ ИЗ

- 1) аминокислот
- 2) аминокислот и ионов металлов
- 3) аминокислот и витаминов
- 4) аминокислот и липидов

36. СЛОЖНЫЙ ФЕРМЕНТ СОСТОИТ ИЗ

- 1) аминокислот
- 2) аминокислот и кофактора
- 3) глюкозы и ионов металлов
- 4) нуклеотидов

37. У ПРОСТЫХ ФЕРМЕНТОВ В СОСТАВ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ВХОДЯТ

- 1) нуклеиновые кислоты
- 2) ионы металлов
- 3) аминокислоты
- 4) углеводы

38. У СЛОЖНЫХ ФЕРМЕНТОВ ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ АКТИВНОГО ЦЕНТРА ПРЕДСТАВЛЕН

- 1) только аминокислотами;
- 2) аминокислотами и кофактором;
- 3) аминокислотами и углеводами;
- 4) фосфолипидами

39. КЛАССОВ ФЕРМЕНТОВ СУЩЕСТВУЕТ

- 1) 5
- 2) 4
- 3) 8
- 4) 6

40. ПЕРВЫЙ КЛАСС ФЕРМЕНТОВ НАЗЫВАЕТСЯ

- 1) трансферазы
- 2) гидролазы
- 3) оксидоредуктазы
- 4) лиазы

ЭТАЛОНЫ ОТВЕТОВ

1-7	2-4	3-1	4-2	5-1	6-2	7-3	8-4	9-2	10-1
11-3	12-3	13-2	14-2	15-1	16-4	17-3	18-2	19-3	20-1
21-1	22-3	23-2	24-2	25-3	26-4	27-1	28-3	29-1	30-3
31-1	32-1	33-2	34-1	35-1	36-2	37-3	38-2	39-4	40-3

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. В каких условиях лучше хранить орган, приготовленный для пересадки: в термостате, при комнатной температуре, в холодильнике? Почему?
2. Ферменты, метаболизирующие ксенобиотики, отличаются широкой субстратной специфичностью. Можно ли на этом основании считать, что они недостаточно совершенные ферменты?
3. Общая активность фосфатазы фруктозо-1,6-бисфосфата в гомогенатах печени двух крыс найдена одинаковой – 14 единиц на 1 г печени. Можно ли утверждать, что в 1 г печени обеих крыс содержится одинаковое количество молекул фермента?
4. Дайте современную биохимическую формулировку пословицам: «Яблоко от яблони недалеко падает» и «Если трясут яблоню, то с неё падают яблоки, а не груши».
5. При остром панкреатите у больных в крови резко увеличивается активность панкреатических ферментов. У больного взята кровь для определения активности панкреатической амилазы. Где следует хранить кровь до начала исследования и почему?
6. Почему не бывает лихорадки с температурой 70° С?
7. Ферменты, участвующие в переваривании белков в желудке и кишечнике, отличаются довольно широкой субстратной специфичностью. Можно ли на этом основании считать, что они недостаточно совершенные ферменты?
8. ЛДГ-- тетрамер из двух типов субъединиц М и Н. Сколько существует изоферментов ЛДГ? Почему определение изоферментов надёжнее в диагностике, чем определение суммарной активности ЛДГ?
9. По контракту Вы работаете в Африке. Можно ли до отвала накормить изголодавшегося ребенка?
10. Один из ингибиторов ферментов назначают 3 раза в сутки, другой - 1 раз в неделю. Почему?

11. У новорожденного в результате мутации отсутствует фермент лактаза, расщепляющий лактозу. Каковы проявления болезни? Как кормить ребёнка?
12. Одним из методов лечения при отравлении метанолом (приём внутрь 30 мл метанола может привести к смерти) является назначение этанола либо внутрь, либо внутривенно. Объясните, почему такое лечение является эффективным?
13. Для лечения длительно не заживающих ран используют мази, в состав которых входят трипсин, гиалуронидаза и другие ферменты. На чем основано их лечебное действие?

ОТВЕТЫ НА КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Орган, приготовленный для пересадки, надо хранить в холодильнике, так как при этом лучше сохраняются нативные свойства (не активируются лизосомы, не разрушаются полимеры, не размножаются бактерии). Точнее – все это замедляется.
2. Нет, это не недостаток, а важное достоинство ферментов. Они могут метаболизировать очень многие ксенобиотики (ксенобиотики – чужеродные для организма вещества, в том числе большинство лекарств).
3. Нельзя, так как активность фермента зависит не только от количества молекул, активность ферментов регулируется. Большее количество молекул ингибированного фермента может иметь меньшую суммарную активность, чем меньшее количество высокоактивного фермента.
4. Эти пословицы отражают эмпирические наблюдения народа, что наследственные свойства передаются из поколения в поколение. На биохимическом языке это означает: ДНК→РНК→белок. Живым организмам присуще самовоспроизведение.
5. Хранить кровь до начала исследования следует в холодильнике. При низкой температуре протеазы крови будут неактивны и α -амилаза не будет разрушена.
6. При повышении температуры выше 40°C многие ферменты начинают терять активность. При 70°C почти все белки, в том числе и ферменты, денатурируются.
7. Нет, это их важное достоинство: человек может переварить любую белковую пищу, в том числе и совершенно непривычную.
8. Существует 5 изоферментов ЛДГ: ЛДГ₁ – НННН, ЛДГ₂ – НННМ, ЛДГ₃ – ННММ, ЛДГ₄ – НМММ, ЛДГ₅ – ММММ. В энзимодиагностике применяют тканеспецифичные ферменты, т.е. активные в каком-либо одном органе. ЛДГ не тканеспецифичный фермент, но его изоформы являются более

специфичными. Например, в сердечной мышце наиболее активна ЛДГ₁, а в скелетных мышцах и в печени – ЛДГ₅.

9. Нельзя. У голодающего репрессированы ферменты ЖКТ и в этих условиях не переваренная и полупереваренная пища вредны. Всасывание полипептидов может вызвать аллергические реакции от зуда и сыпи до коллапса. Выводить из голодания нужно путём постепенного увеличения пищи (субстрата), чтобы индуцировать ферменты, т.е. так же как вводят прикорм младенцу.

10. Несколько раз в день назначают обратимые ингибиторы, т.к. они действуют часы. Один раз в неделю можно назначать необратимые ингибиторы (время их действия зависит от времени жизни белка).

11. Проявления: а/накопление не переваренной лактозы, в результате она сбрасывается в толстой кишке, что вызывает понос; б/ снижение всасывания углеводов приводит к нарушению питания – гипотрофии. Ребёнка следует кормить молочными смесями без лактозы, углеводы включать в рацион в виде глюкозы или фруктозы. Можно давать фермент лактазу как лекарственный препарат.

12. Токсичность метанола обусловлена формальдегидом, который образуется при действии алкогольдегидрогеназы. Этанол конкурентно связывается с активным центром алкогольдегидрогеназы, образуется ацетальдегид, который менее токсичен.

13. Лечебное действие мазей с добавлением трипсина и других ферментов основано на ферментативном разложении погибших клеток в гнойных ранах. В результате происходит очищение ран и уменьшение воспаления.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

Обязательная

1. Биохимия: учебник под ред. Е.С. Северина, - М, ГЭОТАР- Медиа. 2009.– 768с.
2. Березов Т.Г Биологическая химия: учебник. /Т.Г. Березов, В.Ф. Коровкин. М.: Медицина. 2007. – 704 с.
3. Николаев А.Я. Биологическая химия: учебник / А.Я. Николаев. – Москва, 2004 .– 565 с.

Дополнительная

1. Северин Е. С. Биохимия с упражнениями и задачами : учебник / Е.С. Северин. – ГЭОТАР – Медиа, 2010. – 384 с. + (CD-ROM)
2. Кольман Я., Рём К.Г Наглядная биохимия /Я. Кольман, К.Г. Рем – М.: Мир, 2001. – 378 с.
3. Эллиот В., Эллиот Д. Биохимия и молекулярная биология: учебное пособие под ред. А.И. Арчакова - изд-во НИИ Биомедицинской химии РАМН – Москва, 2000. – 372 с.

Учебное издание

Суслова Антонина Ильинична

Бахтаирова Вера Ильинична

ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ БИОХИМИИ. ФЕРМЕНТЫ

Учебное пособие для иностранных студентов