

# Enzymy

RNDr. Bohuslava Trnková  
ÚKBLD 1.LF UK

- z řeckého "zymé" - kvasnice
- specifické katalyzátory chemických reakcí v živých organismech
- i v nejjednodušší buňce více než 3000 enzymů, druhová specifita
- bílkovinné makromolekuly, většinou složené - kofaktor (přenos atomů, skupin, elektronů aj.)  
pevně vázaný = prostetická skupina
- zvyšují rychlost reakce oběma směry, neovlivňují složení rovnovážné směsi (směr je dán energetickými a koncentračními poměry)

# Mechanismus enzymové katalýzy

Enzymy jsou:

- **vysoce účinné** (přeměna až  $5 \cdot 10^4$  molekul substrátu za 1 s)
- **značně specifické:**

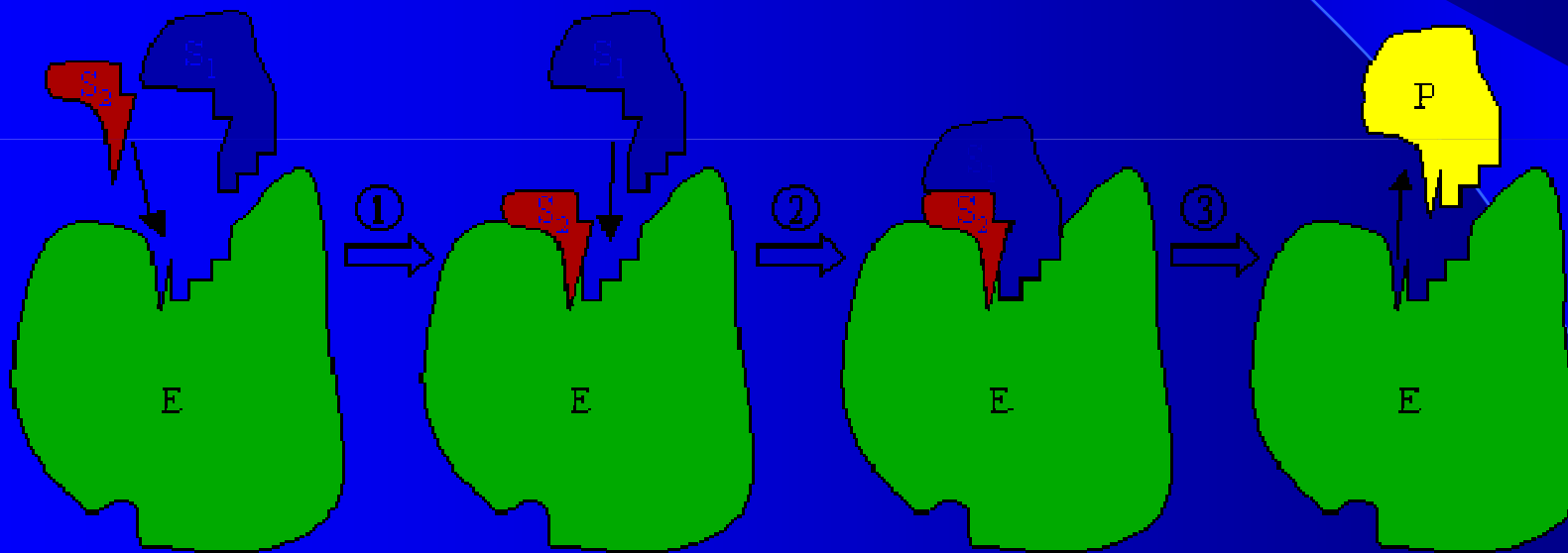
**Substrátová specifita:**



**Reakční specifita**

alkalické fosfatasy, kyselé fosfatasy – odštěpují fosfátovou skupinu z různých sloučenin

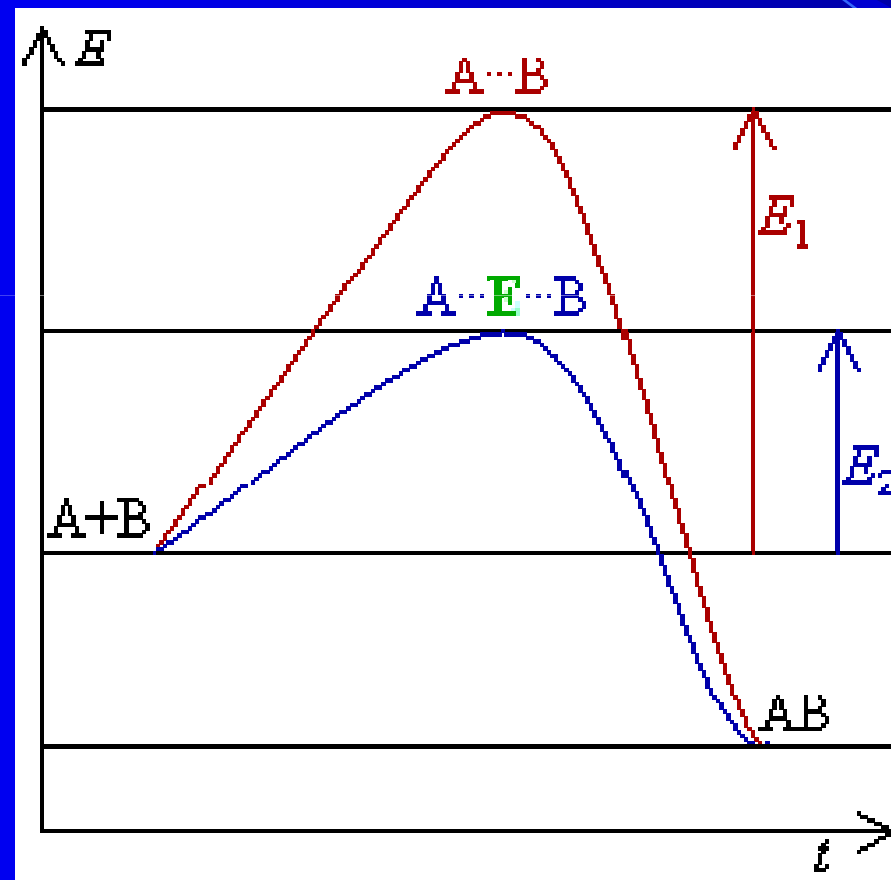
# Průběh reakce katalysované enzymem: syntesa produktu ze 2 substrátů



- pracují za **mírných podmínek** (teplota 20 - 40°C, tlak 0,1 MPa, pH kolem 7)
- účinek lze snadno **regulovat**, často na několika úrovních
- **působí snížení energetické bariéry**, reakce probíhá uvnitř **aktivního centra**, efekt přiblížení (vazba 2 substrátů těsně k sobě), **specifické prostředí aktivního centra** (ztráta hydratačního obalu, vyšší koncentrace substrátu ( až  $10^5$ x), reaktivnější skupiny), **efekt orientace substrátu** (snížení aktivační energie)

- složitá struktura - citlivá na řadu vlivů (denaturace)
- jsou stále odbourávány a syntetizovány

# Snížení aktivační energie chemické reakce při katalyze enzymem



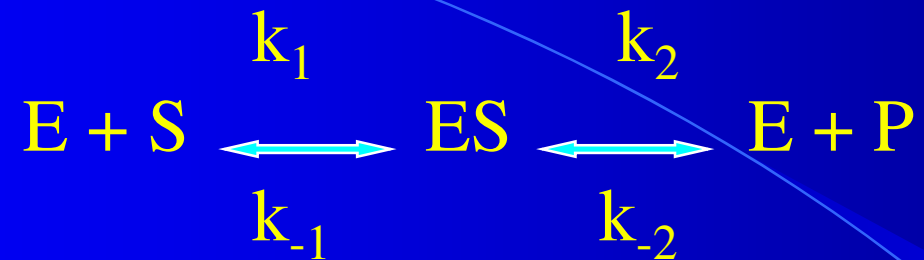
# Kinetika enzymových reakcí

Rychlost závisí na :

- koncentraci substrátu a množství enzymu
- fyzikálně-chemických vlastnostech prostředí
- přítomnosti efektorů



# Vliv koncentrace substrátu a množství enzymu

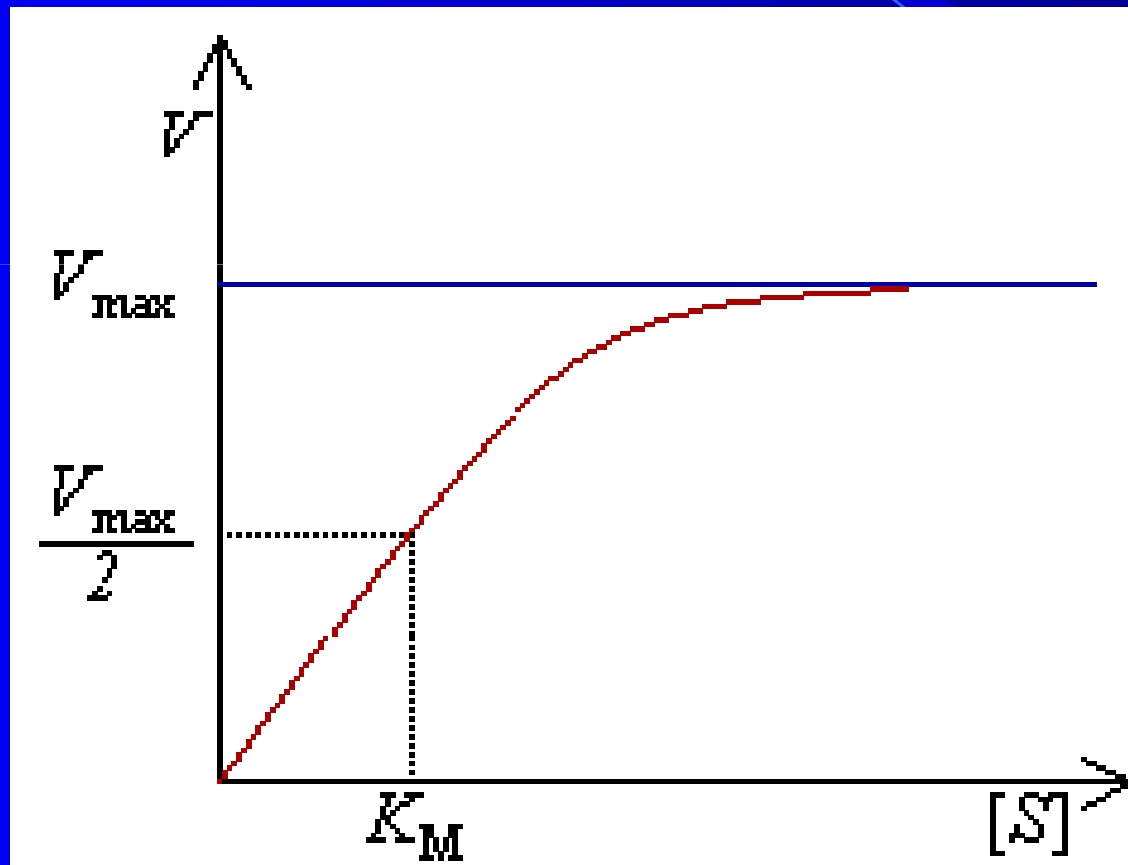


## $K_M$ Michaelisova konstanta

- nezávislá na  $[E]$ ,
- závisí na: prostředí (pH, t, efektory), substrátu, charakterizuje katalytické vlastnosti enzymu vzhledem k příslušnému substrátu, je úměrná disociační konstantě komplexu ES, čím nižší je  $K_M$ , tím vyšší je afinita enzymu k danému substrátu

Hodnoty  $K_M$  :  $10^{-1}$  -  $10^{-6}$  mol/l

# Graf závislosti reakční rychlosti na koncentraci substrátu při konstantní koncentraci enzymu



## Fyzikálně-chemické vlastnosti prostředí:

- pH (ALP, ACP, trávicí enzymy –  
žaludek x slinivka, pepsin pH 1,5-2,0, trypsin 8-11)
- teplota rychlost vzrůstá s teplotou, při vyšší teplotě  
může dojít k denaturaci bílkovinné části  
→ **optimální teplota enzymu (optimum 37<sup>0</sup> C)**
- oxidoredukční stav organismu (součást aktivního  
centra jsou skupiny -SH nebo -S-S-, iontový náboj  
bílkoviny)

## Efektory

- přirozené (metabolity, koenzymy),
- nepřirozené (léčiva, jedy)

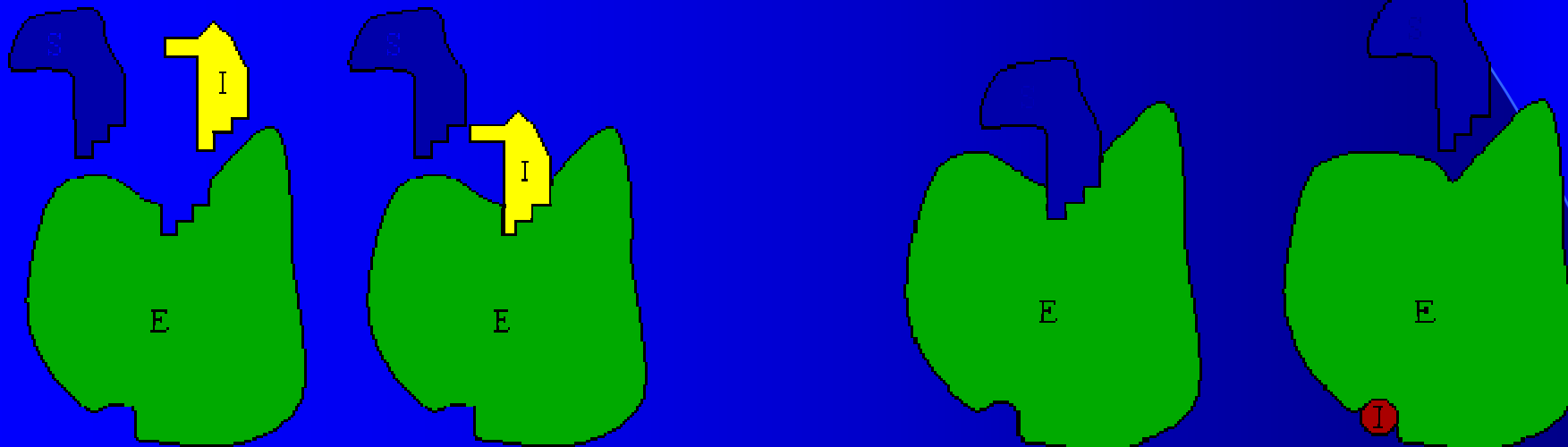
pozitivní = aktivátory (ionty kovů, organické látky, váží se vratně na molekulu)

snižující = inhibitory (látky nejrůznější povahy, polypeptidy-trypsin, srážení krve, léky)

## Vliv efektorů (aktivátory nebo inhibitory)

Molekula inhibitoru je podobná molekule substrátu, nadbytek substrátu může inhibitor vytěsnit

Molekula inhibitoru se váže na jiné místo na enzymu, změní se struktura aktivního centra



## Měření enzymatické aktivity:

měří se reakční rychlost příslušných reakcí

množství přeměněného substrátu je limitováno koncentrací enzymu, ev. jeho katalytickou aktivitou - reakce nultého řádu

### jednotky stanovení:

**IU** - množství enzymu, katalyzující přeměnu 1 molu substrátu při standardních podmínkách.

**-katal (SI) - rychlost přeměny substrátu = množství katalyzátoru, které přemění za stand. podmínek za 1 s 1 mol substrátu** ( $\mu\text{kat} = 10^{-6} \text{ kat}$ ,  $\text{nkat} = 10^{-9} \text{ kat}$ ),

$1 \text{ IU} = 16,67 \text{ nkat}$ ,  $1 \text{ kat} = 6.107 \text{ IU}$

**koncentrace katalytické aktivity - kat/l**

*Pozor: hmotnostní koncentrace enzymu =  $\mu\text{g/l}$*

# ROZDĚLENÍ A NÁZVOSLOVÍ

1961 - systémové rozdělení s názvy podle substrátu a typu reakce

1. oxidoreduktasy - mezimolekulové oxidačně redukční přeměny (**dehydrogenasy**)
2. transferasy - přenos skupin v aktivované formě (**AST, DNA-, RNA -polymerasy**)
3. hydrolasy - hydrolytické štěpení vazeb (**proteasy**)
4. lyasy - nehydrolytické štěpení (**aldolasa**)
5. izomerasy - vnitromolekulové přesuny (izomery)
6. ligasy - katalýza vzniku energeticky náročných vazeb (**syntetasy** - spotřeba ATP)

Jméno každého enzymu - E.C. + čtyřmístné kódy

## Výskyt enzymů v organismu

v jednotlivých tkáních odlišný obsah (specifické – pepsin x široce distribuované - LD), orgánová specifita, buněčná lokalizace (mitochondrie, jádro, cyt. retikulum)

- za patologických stavů → změna permeability buněčné membrány → vyplavení enzymů do krve → vyšší koncentrace

(zánět → cytoplazmatické enzymy, zánik b. → i strukturálně vázané enzymy)

- zvýšená produkce enzymů

- v moči - enzymy s malou molekulou i za fyziolog. stavu (AMS)



# Význam enzymů v medicíně

- **Diagnostická funkce** - měření katalytické koncentrace enzymů v krevní plazmě:
  - **sekreční enzymy** - dodávány z orgánů, aby plnily fyziol.funkce, aktivita klesá při poškození orgánu
  - **e. intracelulární** - aktivita mnohonásobně vzroste při poškození orgánu, rozlišení postižení pomocí izoenzymů
- **Chemická funkce** - stanovení různých analytů (specifičtější, citlivější, rychlejší, jednodušší)
- **Léčiva** - trávicí e., hydrolasy (čištění nekrotických ran, rozpouštění trombů )

# Izoenzymy

stejná katalytická aktivita je projevem více než 1 typu molekuly enzymu (liší se pořadí AA v bílkovinné části)

- orgánově specifické, u všech lidí (LD), odbourávají se různě rychle
- diagnostický význam
  - zvýšená aktivita izoenzymu z určité tkáně při zvýšené celkové katalytické koncentraci (rozlišení zdroje, potvrzení diagnózy)
  - patologické změny ve složení izoenzymů při nezvýšené celkové katalytické koncentraci (vliv léčby)

Rozlišení: elektroforeticky, imunochemicky

## Alaninaminotransferasa -ALT, L-alanin:2-oxoglutarátaminotransferasa EC 2.6.1.2

- přenos aminoskupiny z AA
- nachází se ve všech orgánech, zejména v jaterní tkáni, lokalizována v cytoplazmě, poločas přeměny průměrně 2 dny, do oběhu i při malém poškození buněčné membrány
- zvýšená katalytická koncentrace je první známkou akutní hepatitidy
- zvýšení i při chronickém poškození, cirhóze, obstrukčním ikteru

## Aspartátaminotransferasa -AST, L-aspartát:2-oxoglutarátaminotransferasa EC 2.6.1.1

- přenos aminoskupiny z AA
- vnitrobuněčný enzym - především v srdečním svalu, v játrech a kosterním svalstvu, poločas katabolizmu 12-24 hod.,
- lokalizován v cytoplazmě (65%) a vázaný v mitochondriích (35% - pro jaterní b.).
- zvýšení katalytické koncentrace = nekróza buňky  
→ zvýšení i při infarktu myokardu (4-8 hod. po atace), myokarditidách, onemocněních kosterního svalstva (zhmoždění svalu), při chorobách jater

## Gamaglutamyltransferasa-GMT,

D-glutamin:glutamyltransferasa EC2.3.2.2

- přenos gamaglutamylového zbytku
- vyskytuje se v membránách buněk s vysokou sekreční nebo absorpční schopností (epitel žlučového systému, jaterní kanalikuly, proximální tubuly, b.střevního kartáčového lemu),
- patologické zvýšení - u hepatobiliárních onemocnění (játra, žlučové cesty, pankreat), obstrukce žluč. cest, chronické hepatitidy, toxická poškození jater, cirhóza, při alkoholickém poškození jater

## Alfa-amylasa, AMS

Alfa-1,4-glukan-4-glukanohydrolasa EC 3.2.1.1

- produkován ve slinivce (pankreatický izoenzym), slinných žlázách, vylučuje se i potem (izoenzymy)
- štěpí vazby  $\alpha$ -D-1-4 vazby sacharidů, zahajuje štěpení polysacharidů v ústní dutině
- aktivuje se Cl, Br a J ionty, nutná přítomnost iontů  $Ca^{2+}$  (antikoagulans - heparin)
- akutní a chronické pankreatitidy, vyšetření v moči prodlužuje záchytnost akutní pankreatitidy (7-10 dní), makroamylasémie (zvýšení v séru, v moči normální)

## Kreatinkináza – CK, ATP:kreatin N-fosfotransferasa EC 2.7.3.2

- lokalizován v cytoplazmě a mitochondriích
- katalyzuje štěpení kreatinfosfátu na kreatin a ATP, účastní se přenosu ATP z mitochondrií do myofibril, hlavní enzym svalového metabolismu
- většina aktivity pochází z kosterního svalstva
- 3 izoenzymy
- dif.dg a sledování terapie onemocnění srdce, při zánětlivých a degenerativních onemocněních svalů (intramuskul.injekce, svalová námaha, křeče, po žihadle)

## izoenzymy CK MB

molekula se skládá ze 2 podjednotek (M , B )

→ 3 izoenzymy MM - svalový, BB - mozkový,  
MB - myokardiální

zvýšení při infarktu myokardu - za 4-6 hod.

stanovení váhové hmotnosti -  $\mu\text{g}$



## Alkalická fosfatasa, ALP

Orthofosfát-monoester-fosfohydrolasa, EC 3.1.3.1.,  
pH optimum 10

- katalyzuje hydrolýzu org.esterů kys.fosforečné
- vyskytuje se v játrech, kostech, střevní a placentární tkáni, v menší míře ve žlučovodech, proximálním tubulu ledviny, v mléčné žláze při laktaci, poločas rozpadu 3-7 dní
- 4 izoenzymy (jaterní, střevní, kostní, placentární)

## ALP

- zvýšení při chorobách jater a žlučových cest, hepatitidách, obstrukcích žlučových cest, metastázách do jater, mononukleózy)
- zvýšení kostního izoenzymu - zvýšená aktivita osteoblastů (rachitida, metastázy do kostí, osteosarkom, tvorba svalku po zlomenině).  
U dětí hodnoty vysoké až vyšší - závisí na věku

## Kyselá fosfatasa, ACP

Orthofosfát-monoester-fosfohydrolasa, EC 3.1.3.2,  
kyselé optimum, pH 4,5 - 6,0)

- vyskytuje se v prostatě, kostech, játrech, erytrocytech, trombocytech (při srážení krve), v moči
- citlivý enzym, sérum je nutné okamžitě oddělit od krvinek a okyselit na pH=5
- několik izoenzymů, diagnosticky nejvýznamnější prostatický izoenzym (90 %)
- charakterizuje aktivitu osteoklastů (osteoklastické metastázy), rozpad kostní hmoty

## Laktátdehydrogenasa - LD

L-laktát:NAD<sup>+</sup>oxidoreduktasa EC 1.1.1.27

- vyskytuje se ve všech tkáních, ledviny, srdce, svaly, pankreas, játra, plíce
- molekula tvořena 4 podjednotkami, 2 typy (H, M) = **5 izoenzymů** (LD1-HHHH, LD2 - HHHM, ...LD5 -MMMM) poločas LD1 4,7 dne, LD5 10 hod. v srdci LD1 více než 45% celk.LD, v játrech LD5 více než 45% celk.LD
- stanovení izoenzymů - elektroforeticky
- jaterní onemocnění, nespecifický marker nádorového onemocnění, infarktu myokardu

## **Lipasa, LPS** - triacylglycerol- acylhydrolasa EC

### 3.1.1.3

- katalyzuje postupnou **hydrolýzu** triacylglycerolů na glycerol a mastné kyseliny
- v buňkách **pankreatu**, mukózní vrstvě tenkého střeva, endoteliích cév, buňkách tukové tkáně,
- klinicky významné - hodnoty **izoenzymu** – **pankreatické lipasy** (lépe než AMS)