

THE APPLICATIONS OF  
ENZYMES IN MEDICINE

T. T. BEREZOV

*The basic functions of enzymes (biological catalyzes) in living organisms are outlined. The key role of enzymes in the regulation of the rates of chemical reactions is described. Special attention is paid to medical enzymology, in particular, to the role of enzymes in the development of pathological processes and the usage of enzymes for the diagnosis of widespread human diseases.*

**В статье кратко изложены основные функции ферментов (биологических катализаторов) в живых организмах, отмечена ключевая роль ферментов в регуляции скорости химических реакций в организме. Рассмотрены проблемы медицинской энзимологии, в частности роль ферментов в механизме развития патологического процесса и применение ферментов в клинике для диагностики некоторых распространенных заболеваний человека.**

© Березов Т. Т., 1996

ПРИМЕНЕНИЕ ФЕРМЕНТОВ  
В МЕДИЦИНЕ

Т. Т. БЕРЕЗОВ

Российский Университет дружбы народов

Успехи современной биохимии в выяснении фундаментальной природы жизни и молекулярных основ патологии, включая наследственные болезни человека, а также в определении структуры и функции белков и нуклеиновых кислот в значительной степени обусловлены широким внедрением в биохимию достижений физики, химии и математики. Этот союз с точными науками позволил не только разработать методологические подходы для более глубокого изучения строения и функций индивидуальных химических компонентов живой материи на молекулярном уровне, но и способствовал развитию новых направлений в биохимии, включая молекулярную биологию, биоорганическую химию и энзимологию.

Учение о ферментах – энзимология – превратилось в самостоятельно и интенсивно развивающуюся область знания. Российские ученые (академики В.А. Энгельгардт, А.Е. Браунштейн, С.Р. Мардашев, И.В. Березин и др.) внесли крупный вклад в мировую науку в области изучения структуры и функций ферментов, механизмов энзиматического катализа и регуляции активности и синтеза ферментов; это способствовало существенному улучшению методов диагностики, лечения и профилактики заболеваний человека.

Прежде чем касаться медицинских проблем энзимологии, кратко перечислим основные функции ферментов не только в организме человека и животных, но и в отдельной живой клетке. Основной и, может быть, главной функцией ферментов является их способность резко повышать (в десятки и сотни миллиардов раз) скорость химических реакций, то есть ферменты выполняют роль катализаторов огромного числа химических реакций, осуществляемых ежесекундно во всех живых системах. Более того, ферменты являются регуляторами скорости химических реакций, строго контролируя процессы синтеза и распада индивидуальных химических компонентов клетки и всего организма в целом. Благодаря этому свойству ферментов живые системы сохраняют постоянство внутренней среды (так называемый гомеостаз); они отличаются от современных крупных промышленных производств не мощностью или даже не грузоподъемностью, а высокой эффективностью, экономичностью, рациональностью и ювелирной точностью результатов в микропространстве клетки (никаких побочных

продуктов, никаких отходов, загрязняющих окружающую среду).

Ферменты выполняют важные защитные функции, обезвреживая как экзогенные (поступающие из внешней среды), так и эндогенные (образующиеся в самом организме) токсические вещества; последние подвергаются под действием ферментов различным реакциям окисления, восстановления и, наконец, распада на продукты, теряющие свои токсические свойства. Эта область исследования получила название ксенобиохимии.

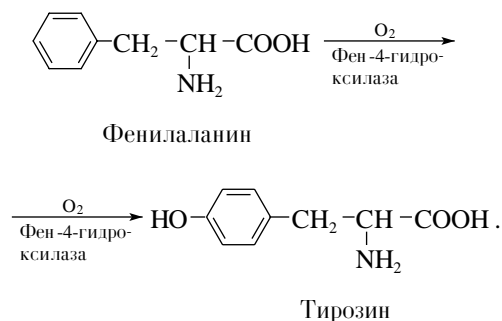
Ферменты используются, кроме того, в качестве инструментов для осуществления тонкого химического органического синтеза в легкой, пищевой, микробиологической и фармацевтической промышленности (производство кормового белка, гормонов, антибиотиков и других лекарственных препаратов и L-аминокислот), а также в генноинженерных исследованиях и биотехнологии.

Касаясь медицинских проблем учения о ферментах, следует прежде всего подчеркнуть, что одно из перспективных направлений исследования ферментов — медицинская энзимология — явилось логическим развитием общего биологического учения о ферментах. К настоящему времени получены убедительные доказательства, что современная биология и медицина говорят на языке энзимологии и что возможности применения ферментов в медицине теоретически безграничны [1, 2]. В частности, четко определились три основных направления исследований в области медицинской энзимологии: энзимопатология, энзимодиагностика и энзимотерапия. По этим проблемам созываются национальные и международные конференции, симпозиумы и конгрессы, издаются научные журналы (например, “Вопросы медицинской химии”), публикуются ежегодные сборники (*Advances in Clinical Enzymology, Annual Reports in Medical Chemistry*) и т.д. Отметим также, что в каждой из указанных областей медицинской энзимологии имеются не только собственные цели и конкретные задачи, но и особые методологические подходы и методические приемы. Ниже будут кратко изложены наши представления о первом направлении медицинской энзимологии, в частности энзимопатологии, и более подробно об использовании ферментов для диагностики органических и функциональных поражений организма и отдельных органов при патологии.

Область исследования энзимопатологии, хотя и включает название патологии (учение о причинах и механизмах развития болезней), на самом деле является теоретической, фундаментальной частью медицинской энзимологии. Она призвана изучать молекулярные основы развития патологического процесса, основанные на данных нарушениях механизмов регуляции активности или синтеза индивидуального фермента, или группы ферментов. Ферменты выполняют не только уникальные ката-

литические функции, но и, обладая выраженной органотропностью и высокой специфичностью действия, могут быть использованы в качестве самых тонких и избирательных инструментов для направленного воздействия на патологический процесс. Как известно, из более чем двух тысяч наследственных болезней человека молекулярный механизм развития выяснен только у двух — трех десятков. Чаще всего развитие болезни непосредственно связано с наследственной недостаточностью или полным отсутствием синтеза одного-единственного фермента в организме больного.

Типичным примером подобной связи болезни с отсутствием синтеза в печени специфического фермента является фенилпировиноградная олигофрения — наследственное заболевание, приводящее в раннем детстве к гибели ребенка или к развитию тяжелой умственной отсталости. Молекулярный дефект болезни заключается в блокировании превращения незаменимой аминокислоты фенилаланина (Фен) в тирозин (Тир) в соответствии с уравнением



Оказалось, что фермент, катализирующий данную реакцию, — Фен-4-гидроксилаза, точнее Фен-4-монооксигеназа, — не синтезируется в клетках печени, единственном органе, где он в норме открыт. Следствием этого молекулярного нарушения обмена фенилаланина является развитие тяжелого наследственного заболевания, обусловленного избыточным накоплением самого фенилаланина и продуктов его побочного пути обмена — фенилпировиноградной кислоты (отсюда и название болезни) — в организме, в частности в ткани мозга и сыроворотке крови больных детей. Обычно диагноз ставят на основании химического метода открытия фенилаланина или фенилпировиноградной кислоты на пеленках детей. Лечение в основном сводится к исключению из питания ребенка (в том числе и из молока матери) аминокислоты фенилаланина [4]. Для такого ребенка тирозин (см. отличия в формулах) оказывается незаменимой аминокислотой.

Аналогично, развитие другого тяжелого наследственного заболевания — галактоземии, то есть непереносимость молочного сахара, связано с отсутствием синтеза в клетках печени фермента, катализирующего превращение галактозы в глюкозу. Следствием подобной аномалии является

накопление галактозы в тканях и развитие катаракты в раннем детстве, поражения тканей печени и мозга, нередко приводящие к гибели ребенка; лечение в этом случае сводится к исключению из диеты молочного сахара.

Помимо наследственных заболеваний, энзимопатология успешно решает и проблемы патогенеза соматических болезней, не столько причинных факторов, вызывающих развитие болезни, сколько механизмов развития наиболее распространенных болезней человека. В частности, организованы крупные научные центры и Научно-исследовательские институты (Онкологический научный центр РАМН, Кардиологический научный центр РАМН, НИИ ревматологии РАМН), в задачу которых входит выяснение молекулярных основ, например, злокачественного роста, артериосклероза или ревматоидных артритов. Нетрудно представить огромную роль ферментных систем или даже отдельных ферментов, нарушение регуляции активности или синтеза которых приводит к развитию, формированию патологического процесса.

Второе направление научных исследований в области медицинской энзимологии – энзимодиагностика – призвано заниматься разработкой ферментных тестов, основанных на определении активности (уровня) ферментов и изоферментов в биологических жидкостях организма больного (сыворотка крови, желудочный или дуоденальный сок, спинномозговая жидкость, моча и др.). Эти исследования развиваются в двух направлениях: во-первых, по пути поиска органотропных или тканетропных ферментов, специфичных для определенного органа, группы органов или целостного организма человека; во-вторых, по пути совершенствования уже описанных в литературе методов определения активности ферментов в биосредах.

Диагностическая энзимология достигла огромных успехов, помогая врачу не только в постановке правильного диагноза заболевания и выяснения степени тяжести болезни, но и в определении правильности избранного метода лечения. В настоящее время разработаны количественные методы анализа многих распространенных ферментов, выявляемых в биологических жидкостях при поражении разных органов. Для каждого из этих ферментов определены контрольные величины (уровни) активности и пределы колебания в норме как в сыворотке крови, так и в самом органе [3, 4].

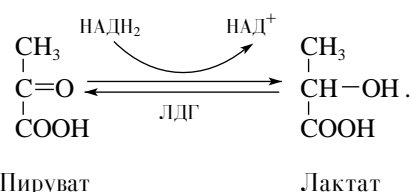
В качестве примера можно сослаться на результаты определения активности двух трансаминаз: аспаратаминотрансферазы (в клинической литературе больше известной как глутамат-оксалоацетат-трансаминаза – GOT) и аланинаминотрансферазы (глутамат-пируват-трансаминазы – GPT); величины активности этих ферментов в сыворотке крови в норме колеблются между 5 – 40 международными единицами. При сердечной недостаточности, при

ишемической болезни сердца активность обеих трансаминаз в сыворотке крови больного лишь слегка, хотя и статистически достоверно, повышается; однако при наступлении инфаркта миокарда уже через 20 минут активность обеих трансаминаз в сыворотке крови резко, в десятки и сотни раз, превышает уровни контрольных величин в крови здорового человека [3].

Необходимо указать, что, помимо трансаминаз сыворотки крови, при инфаркте миокарда весьма информативными диагностическими ферментными пробами являются лактатдегидрогеназный и креатинфосфокиназный тесты, относящиеся также к так называемым некротическим ферментным методам. Это означает, что при повреждении и распаде части сердечной мышцы вследствие закупорки коронарной артерии тромбом из обескровленной зоны вымываются в кровь продукты распада, включая ферменты. Укажем также, что при благополучном исходе болезни уровни ферментов в сыворотке крови возвращаются к норме уже ко 2 – 3-му дню после инфаркта. В то же время при повторном инфаркте миокарда, наступающем обычно в течение первой недели болезни, электрокардиограмма обычно не улавливает повторного инфаркта, тогда как ферментные тесты реагируют повторным и резким повышением уровня их в сыворотке крови.

Диагностическая ценность ферментов существенно повысилась после внедрения в клиническую практику методов определения изоферментов, различающихся преимущественно разной электрофоретической подвижностью, хотя и наделенных одинаковой биологической активностью [3]. В этой связи следует более подробно рассмотреть диагностическую значимость двух ферментов, определение изоферментных спектров которых внедрено почти во всех лабораториях клинической химии мира.

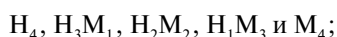
Первым из них является упоминавшаяся выше лактатдегидрогеназа (ЛДГ), которая катализирует обратимое превращение пировиноградной кислоты в молочную кислоту по уравнению



Следует подчеркнуть, что ЛДГ является ключевым ферментом анаэробного обмена углеводов во всех живых организмах, определяя скорость образования энергии в виде аденозинтрифосфата (АТФ).

ЛДГ – широко распространенный фермент, он синтезируется почти во всех клетках организма человека [3]; различают два типа ЛДГ: так называемый сердечный тип, обозначаемый H-тип (от англ. heart), и мышечный тип, обозначаемый M-тип (от англ. muscle); каждый из них состоит из четырех

субъединиц, обозначаемых соответственно цифрами. Если в молекуле ЛДГ все четыре субъединицы представлены Н-типом, ее обозначают ЛДГ Н<sub>4</sub>; если все субъединицы составлены из М-типа, тогда фермент обозначают М<sub>4</sub>. Поскольку в клетках всегда содержатся оба типа молекул Н и М, суммарно четыре субъединицы строятся как из Н-, так и из М-типов. Таким образом, различают 5 изоферментов ЛДГ, составленных из следующих типов Н и М:

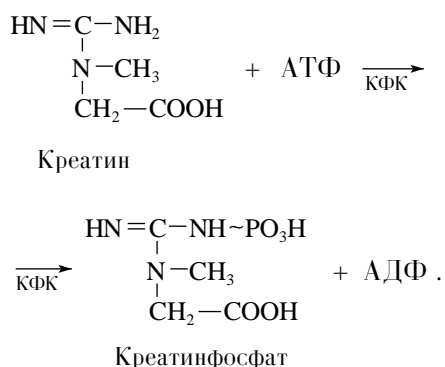


соответственно они обозначаются: 1-, 2-, 3-, 4- и 5-й изоферменты ЛДГ.

При органическом поражении сердечной мышцы, например при инфаркте миокарда, в сыворотке крови резко повышается уровень не только общей лактатдегидрогеназы, но, что очень важно для точности диагноза, это повышение преимущественно обусловлено изоферментами 1 и 2, соответственно Н<sub>4</sub> и Н<sub>3</sub>М<sub>1</sub>.

С другой стороны, при поражениях скелетной мускулатуры, а также при воспалительных процессах печени (гепатиты) или при вирусных поражениях ткани печени [4], и наконец, при отравлении четыреххлористым углеродом или другими ядами, когда преимущественно поражается печень, вызывая некроз ткани [3, 4], изоферментный спектр перемещается слева направо (то есть уровни 5 и 4 изоферментов ЛДГ резко повышаются при почти неизменном уровне 1 и 2 изоферментов). Эти результаты очень важны для лечащего врача, который на основании главным образом клинической картины болезни, лабораторных данных, электрофоретической картины спектров ЛДГ ставит окончательный диагноз и приступает к лечению больного. Естественно, что методы лечения будут резко отличаться, и в выборе этих методов немалую роль играет изоферментный спектр ЛДГ сердечного или мышечного типа.

Вторым ферментом, диагностическая ценность которого еще выше, в особенности при инфаркте миокарда [3, 4], является креатинфосфокиназа (КФК), катализирующая биосинтез креатинфосфата из креатина и АТФ в соответствии с уравнением



Креатинфосфокиназа – ключевой фермент биосинтеза макроэргического (наделенного или содержащего высокий энергетический потенциал) субстрата – креатинфосфата, играющего наряду с АТФ выдающуюся роль в биоэнергетике сердечной мышцы и всего организма. Оказалось, что молекула КФК также состоит из двух типов субъединиц: из М-типа (то есть мышечный тип, от англ. muscle) и В-типа (то есть мозговой; от англ. brain); соответственно выделены и охарактеризованы три изофермента КФК, которые обозначаются латинскими буквами: ММ-изофермент (мышечный тип), преимущественно характерный для поперечно-полосатой мускулатуры, ВВ-изофермент (мозговой тип, преимущественно содержится в ткани мозга) и смешанный тип, обозначаемый МВ-изоферментом, который содержится только в сердечной мышце.

Учитывая эти данные, в частности органотропность изоферментов КФК, при органических или функциональных поражениях этих тканей в сыворотке крови больного появляются в норме отсутствующие изоферменты КФК, и, соответственно, они открываются при электрофорезе.

На нашей кафедре В.П. Сараев и Ф.Б. Левин исследовали сыворотку крови больных инфарктом миокарда в динамике с первого часа наступления болезни и показали, что общая активность ЛДГ резко повышается уже через 0,5 часа и держится на этом высоком уровне до 2 – 3 дней, а у отдельных больных – до 4 дней; после острого периода величины ЛДГ быстро приходят к норме, хотя изоферментный спектр ЛДГ все еще сохраняет сердечный тип до 7 – 8 суток. Укажем также, что во всех случаях инфарктов миокарда, включая благополучные случаи, В.П. Сараев и Ф.Б. Левин определяли активность еще одного фермента – гамма-глутамилтрансферазы – в сыворотке крови. Оказалось, что активность этого фермента медленно повышается при наступлении инфаркта, но высокие уровни его появляются в крови только на 10 – 14-е сутки после наступления инфаркта. По мнению многих клиницистов, гамма-глутамилтрансферазный тест сыворотки крови может служить важным постинфарктным ферментным тестом. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что некротизированная зона сердечной мышцы скорее всего не является источником гамма-глутамилтрансферазы, поскольку вымывание ткани при инфаркте наступает уже в первые 10 – 15 минут. Более вероятно предположение, что в процессе заживления и заполнения некротизированной зоны нормальной мышечной тканью в постинфарктном периоде происходит усиленная васкуляризация (развитие сосудистой сети); в эндотелии образующихся в этой зоне сосудов открыто повышенное количество (по активности) гамма-глутамилтрансферазы, что, по-видимому, может служить источником повышенного содержания этого фермента в сыворотке крови больных инфарктом миокарда.



Диагностическая энзимология достигла значительных успехов при постановке диагноза болезней не только указанных органов, но и других, в частности почек, поджелудочной железы, желудка, кишечника и легких [2]. Широко используют в клинической практике, например, определение трансаминазы в сыворотке крови – фермента, открытого только в ткани почек и поджелудочной железы; или определяют активность фермента гистидазы, обнаруженного только в клетках печени и эпидермиса кожи. Соответственно, при органических поражениях этих органов, воспалительных процессах, травмах, хирургических вмешательствах в сыворотке крови больных появляются указанные ферменты, в норме отсутствующие в сыворотке.

Естественно, что здесь представлены лишь отдельные примеры из большого числа ферментов, определяемых в клинике, и описаны только некоторые болезни из известных почти 10 тысяч болезней человека. Однако и из этих примеров можно сделать заключение, что ферментная диагностика может служить основой не только для постановки правильного и, что самое главное, своевременного диагноза болезни, но и для проверки эффективности применяемого метода лечения.

Обладая высокой специфичностью действия, ферменты применяются в качестве самых тонких и

избирательных инструментов в направленном воздействии на течение любой патологии. О степени поражения органов, биомембран клеток и субклеточных структур, о тяжести патологического процесса можно судить по появлению (или резкому повышению уровня) органотропных ферментов и изоферментов в сыворотке крови больных, что составляет предмет диагностической энзимологии.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Браунштейн А.Е. На стыке химии и биологии. М., 1987.
2. Мардашев С.Р. Биохимические проблемы медицины. М., 1975.
3. Зильва М., Пэннел Г. Клиническая химия в диагностике и лечении. М.: Медицина, 1984.
4. Панченко Н.И., Гусева Н.Р., Масленникова Н.К. и др. // Лаб. диагностика. 1993. № 4. С. 37 – 41.

\* \* \*

Темирболат Темболатович Березов, доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой биохимии Российского Университета дружбы народов. Автор 400 научных работ, включая 4 монографии и два учебника по биохимии для студентов медвузов. Имеет 46 авторских свидетельств и 2 патента. Лауреат премии РАМН им. Н.И. Пирогова и академика В.С. Гулевича.