



ENZIMI



2018/2019

-
- **Enzimi** su biološki aktivni proteini koji katalitički ubrzavaju hemijske procese u živom organizmu
 - Sinteza u ćelijama → funkcija u ćelijama
 - Sekretiraju se u neaktivnom obliku (proteaze i druge hidrolaze, enzimi koagulacije i fibrinolize), poslije aktivacije svoju funkciju obavljaju u **ekstracelularnoj tečnosti**
-

-
- Brzina reakcije se povećava 10^6 - 10^{12} puta
 - Enzimski katalizovane reakcije – $T < 100$ °C, $\text{pH} \approx 7.0$
 - Specifičnosti enzima u odnosu na supstrate i proizvode reakcije
 - Katalitička aktivnost mnogih enzima se mijenja kao odgovor na koncentracije supstanci koje nijesu njihovi supstrati.

Regulacija enzimske aktivnosti: alosterna kontrola, kovalentna modifikacija i promjena količine sintetizovanog enzima.

SPECIFIČNOST ENZIMA ZA SUPSTRAT

- ✓ **APSOLUTNA**- enzim reaguje samo sa jednim određenim supstratom (fosfoenolpiruvat → piruvat; katalaza – H₂O₂; glukokinaza)
 - ✓ **GRUPNA** – enzim djeluje na jedinjenja koja imaju sličnu hemijsku strukturu (fosfataze, lipaze, pepsin)
 - ✓ **STEREOHEMIJSKA** - enzim djeluje na određeni tip stereoizomerne org. jedinjenja
-

Struktura enzima

- *Apoenzim* – proteinski dio enzimskog molekula
 - *Kofaktori* – mali organski ili neorganski molekuli
 - *Prostetična grupa* – slična kofaktoru, vezana na apoenzim
 - *Holoenzim* – apoenzim + koenzim (prost.grupa)
 - *Supstrati* – molekuli na koje enzimi djeluju
 - *Proizvodi* – molekuli koji nastaju u enzimski katalizovanoj reakciji
 - *Mjesto za vezivanje supstrata* – poseban region na površini enzima koji određuje specifičnost enzima u pogledu supstrata
 - *Aktivni centar* – posebno uređene hemijske grupe koje učestvuju u katalizovanju hemijske reakcije
 - *Alosterni centar* – mjesto na kome se vezuju mali molekuli
-

Organizacija enzima na ćelijskom nivou

Prema mjestu djelovanja enzimi se dijele na:

- **Intracelularne – multienzimski sistemi i multienzimski kompleksi**
- **Ekstracelularne**



Piruvat dehidrogenazni kompleks – multienzimski kompleks u mitohondrijama, zadužen za:



Dezmoenzimi - enzimi čvrsto vezani za ćelijske strukture (E respiratornog lanca na unutrašnjoj mitohondrijalnoj membrani).

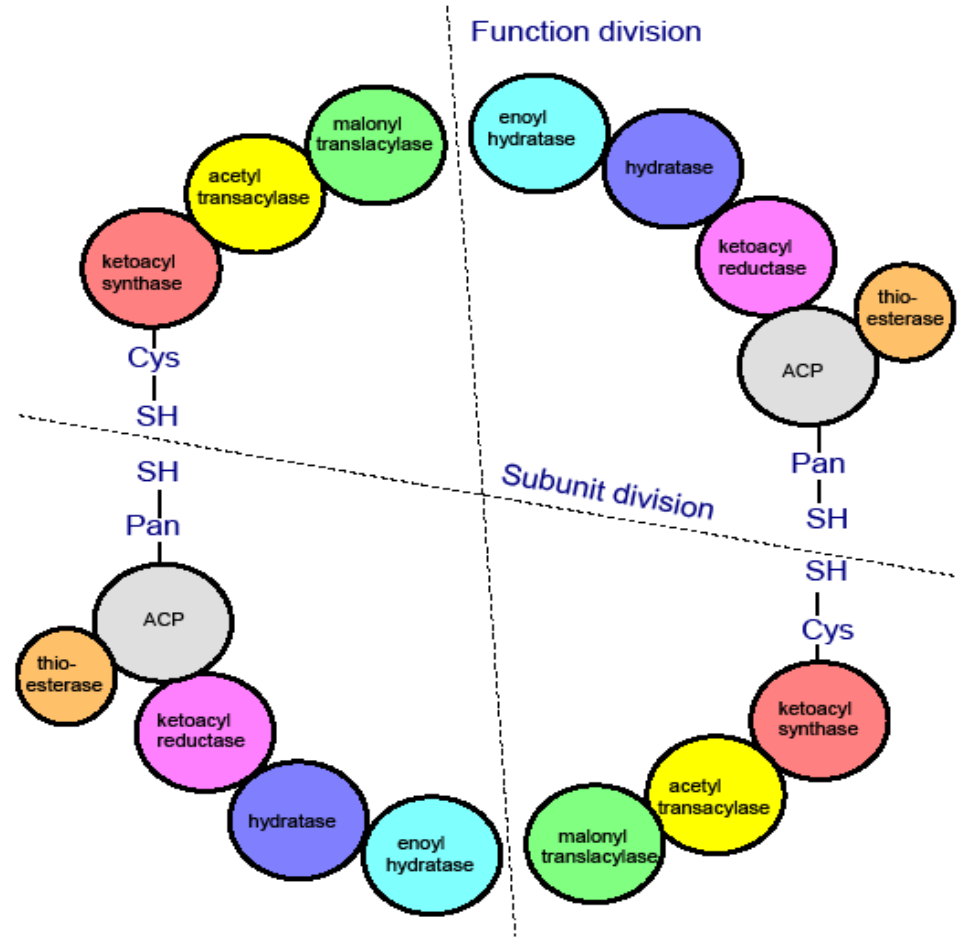
Enzim – sintaza masnih kiselina

Dimer

- svaki monomer 7 **domena** sa različitim enzimima
- VIII domen vezuje ACP

Značaj organizacije ic. E

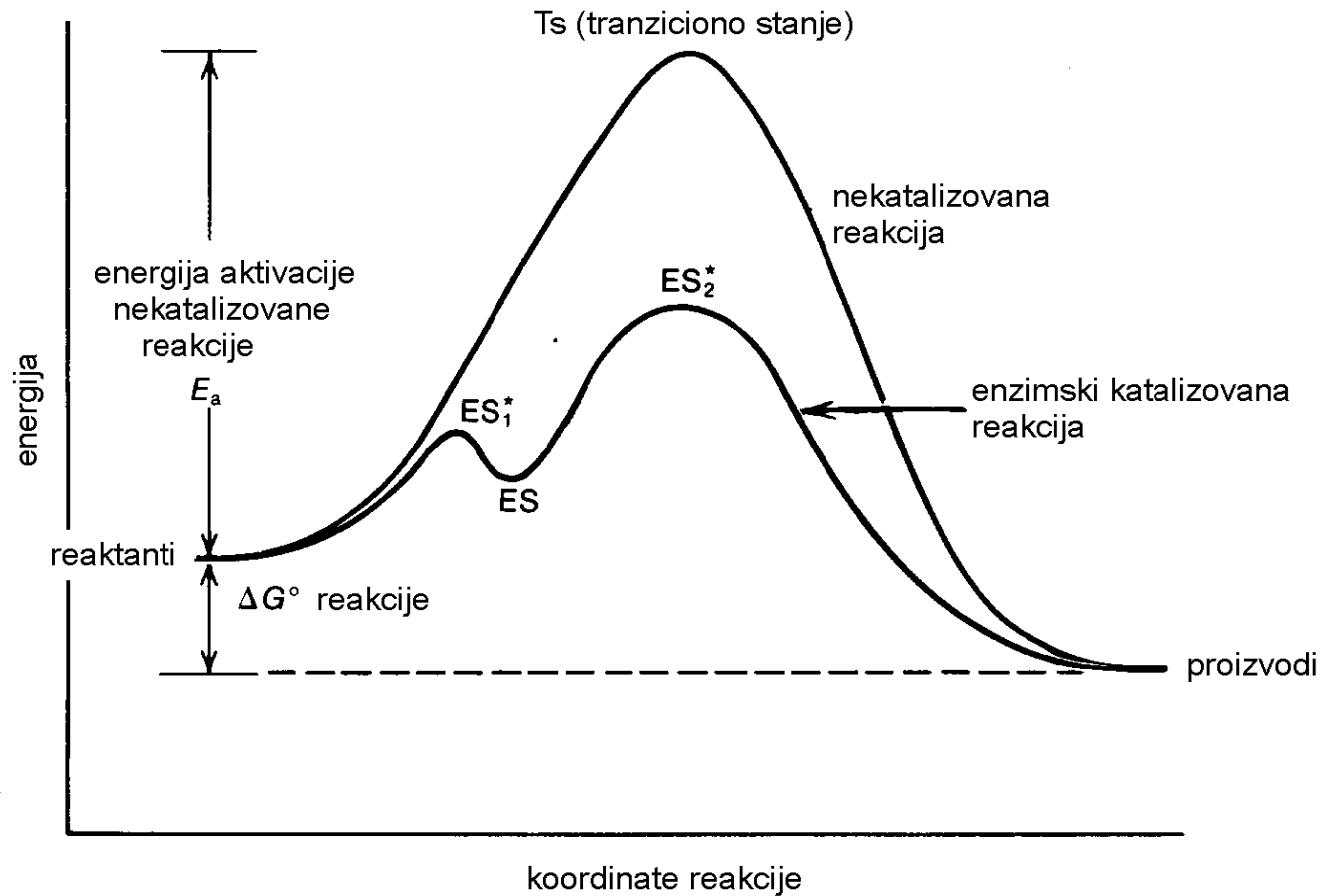
- Reakcije se brže odvijaju
- Minimalan uticaj vanj. faktora na reakciju
- Regulacija ovih enzima je jednostavnija



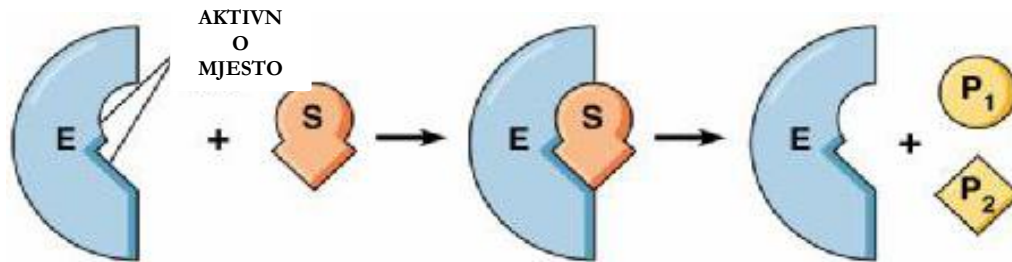
Klasifikacija enzima

1. **Oksidoreduktaze** – oksido-redukcije (dehidrogenaze, oksidaze, oksigenaze, reduktaze, peroksidaze, katalaze i hidroksilaze)
2. **Transferaze** – prenošenje grupa (aminotransferaze, aciltransferaze, fosforiltransferaze...)
3. **Hidrolaze** – hidroliza- raskidanje veze uz adiciju vode (esteraze, glikozidaze, fosfataze, amidaze...)
4. **Lijaze** – uklanjanje ili dodavanje grupa, pri čemu nastaju ili se uklanjaju dvostruke veze (dekarboksilaze, aldolaze, hidrataze, sintaze)
5. **Izomeraze** – intramolekulska preuređivanja (racemaze, epimeraze, izomeraze, mutaze)
6. **Ligaze** – formiranje veza između dva molekula supstrata (sintetaze i karboksilaze)

Enzimski katalizovana i nekatalizovana reakcija

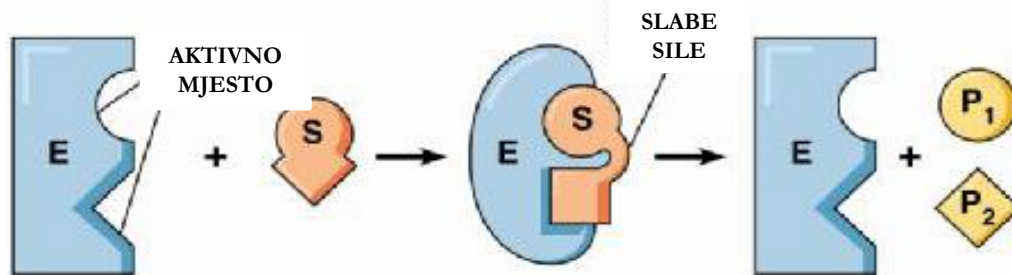


ENZIMI



Model ključ-brava (1894, Fischer)

MODEL KLJUČ- BRAVA



Model indukovanog prilagođavanja (1958, Koshland)

MODEL INDUKOVANOG PRILAGOĐAVANJA

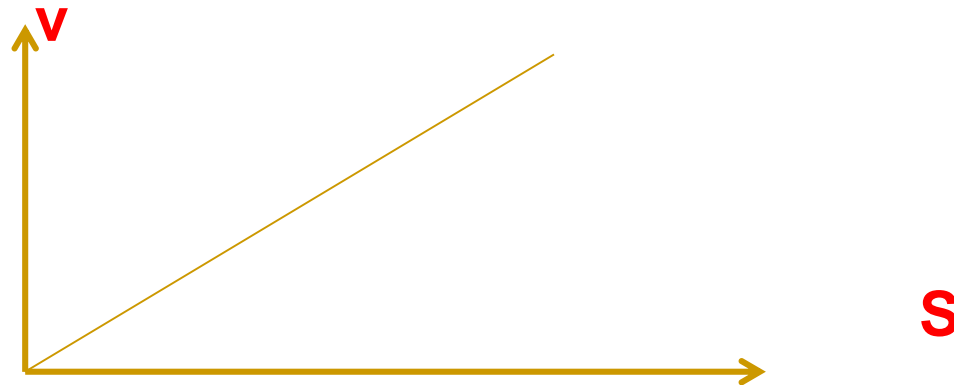
FAKTORI KOJI UTIČU NA AKTIVNOST ENZIMA

- ❑ Aktivnost enzima označava količinu supstrata koja se u jedinici vremena pod uticajem molekula enzima transformiše u produkt reakcije (pod optimalnim uslovima).
- ❑ Vremenski interval u kome se jedna $\frac{1}{2}$ od inicijalno prisutnih molekula enzima razgradi jeste **BIOLOŠKO POLUVRIJEME** ili **POLUŽIVOT** ($t_{1/2}$) enzima; zavisi od hemijske strukture i biološke prirode enzima.

- ✓ *Teperatura*
- ✓ *pH*
- ✓ *Količina (koncentracija) supstrata*
- ✓ *Količina (koncentracija) enzima*
- ✓ *Aktivatori i inhibitori*

Enzimi – uticaj $[E]$ na brzinu

- ❖ Ukoliko se reakcija odigrava u višku molekula slobodnog supstrata brzina reakcije je **proporcionalna koncentraciji enzima**.



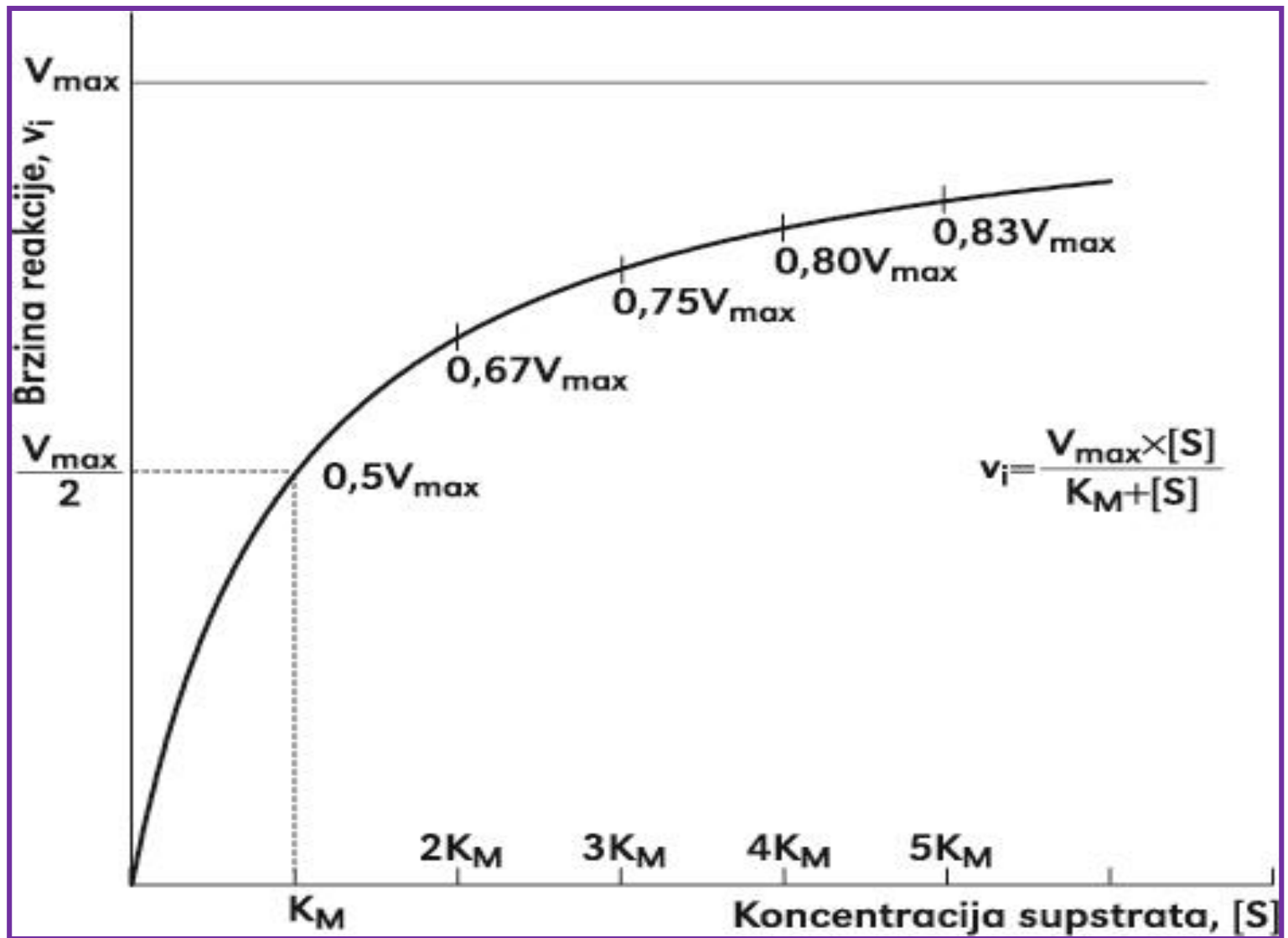
- ❖ Osnova za kvantitativna određivanja enzima u različitim uzorcima jeste **mjerenje inicijalne brzine reakcije (v)**.

Enzimi – uticaj [S] na brzinu

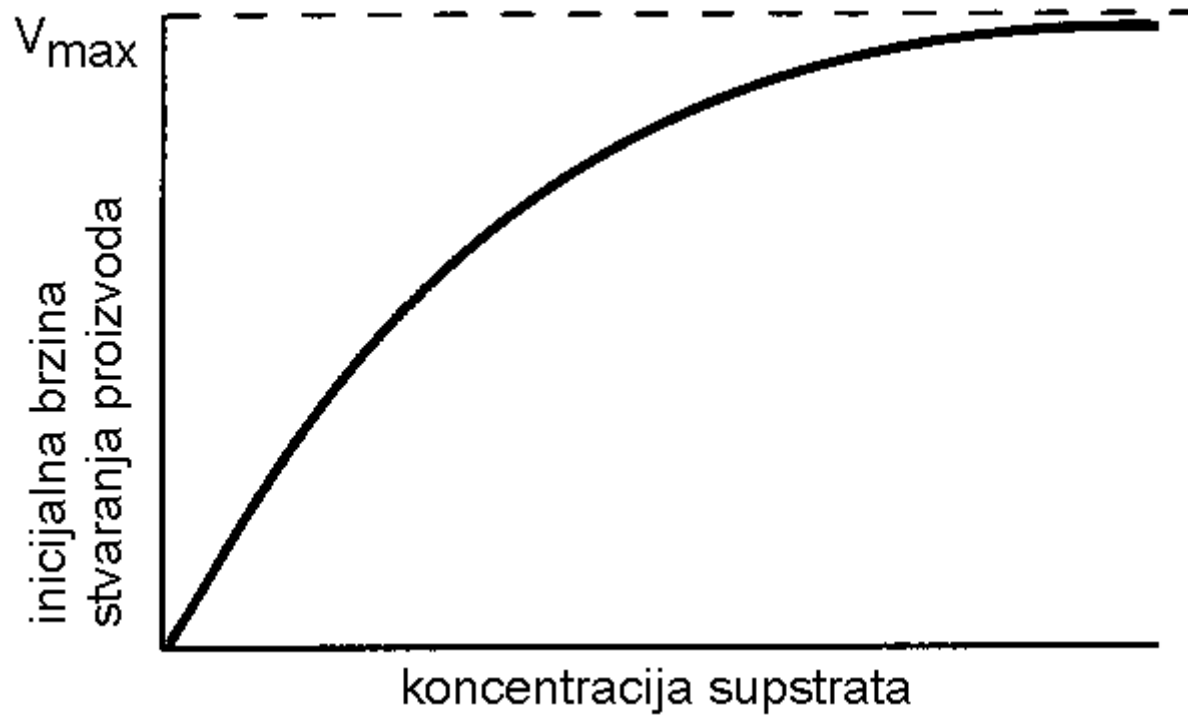
Brzina enzimskih reakcija zavisi od koncentracije supstrata.

Npr. pri **gladovanju** opada brzina reakcija jer nema supstrata (hrane). Nasuprot tom, **reakcije čuvanja** (npr pretvaranje glukoze u glikogen u jetri) i **reakcije uklanjanja štetnih produkata** (npr. Ciklus uree kojim se onemogućava ispoljavanje toksičnosti NH_4 pretvaranjem NH_4 u ureu) su normalno ubrzane kada ima više supstrata..

Michaelis-Menten jednačina opisuje odgovor enzima pri promjenama u koncentraciji supstrata.



Kinetika zasićenja



Michaelis-Menten model enzimске kinetike važi za jednostavnu reakciju gdje enzim i supstrat prave enzim-supstrat kompleks (ES) koji može da disocira nazad u slobodan enzim i supstrat.

V_{max} enzima je maksimalna brzina koja se postiže pri beskrajno velikoj koncentraciji supstrata.

K_m enzima za supstrat je koncentracija supstrata potrebna da se postigne $1/2 V_{max}$.

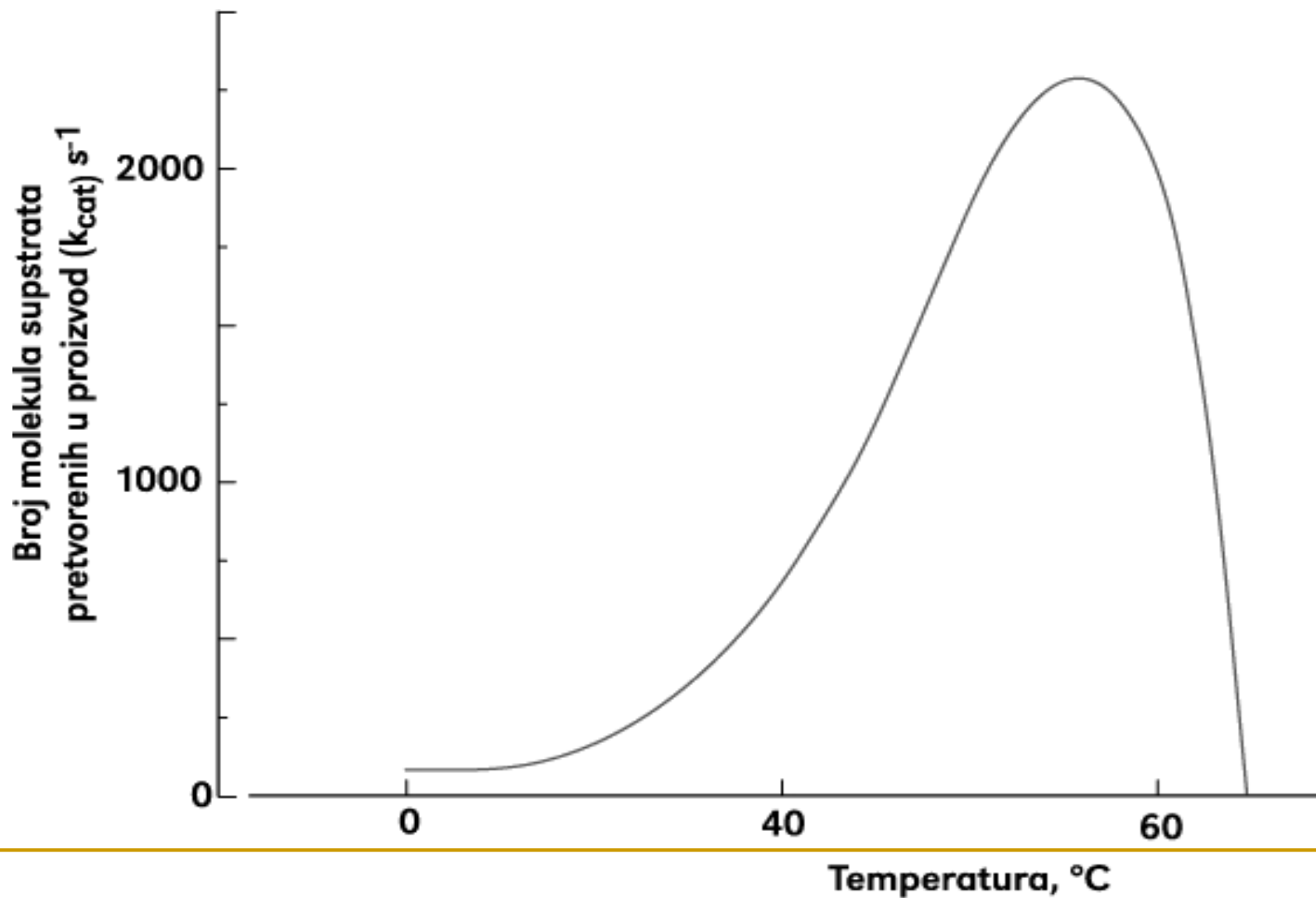
Početna brzina nastajanja produkta, v_i , je proporcionalna koncentraciji [ES] kompleksa.

Ako raste koncentracija supstrata raste i koncentracija ES kompleksa (intermedijarno jedinjenje), proporcionalno raste i brzina enzimске reakcije.

UTICAJ TEMPERATURE

- ✓ Sa stanovišta živih sistema – pogotovu homeotermnih organizama – **povećanje temperature je neprimenljiva strategija u ubrzavanju hemijskih reakcija, jer ćelije funkcionišu u uskom opsegu temperatura.**
- ✓ Osnovni **razlog za netolerantnost** ćelija prema visokim temperaturama jeste, **zato što visoke temperature narušavaju sekundarnu, tercijernu i kvaternu strukturu proteina, pa time i njihovu funkciju.** (Izuzetak od ovog pravila čine termofilne bakterije koje žive u okolini podvodnih vulkanskih izvora i tolerišu – zahtevaju – temperature 80°C - 100°C, i ribonukleaza - 100°C nekoliko minuta).

UTICAJ TEMPERATURE

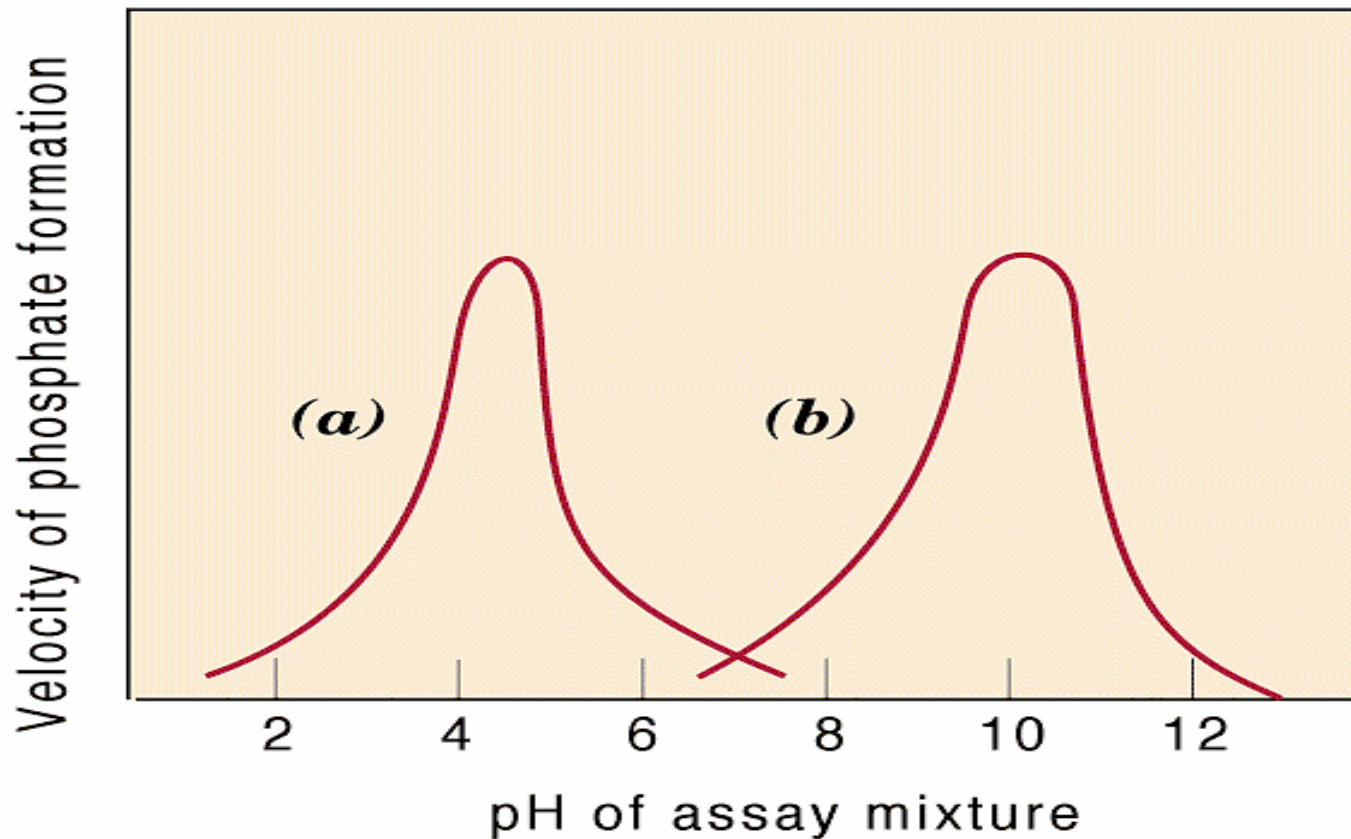


- Aktivnost enzima na niskim temperaturama postepeno opada – **REVERZIBILAN PROCES**.
- Aktivnost enzima kod povećanja temperaturama postepeno raste do određene temperaturne granice kada se gasi enzimsko aktivnost – **IREVERZIBILAN PROCES**.
- U temperaturnom opsegu od 10° - 40° , za svako povećanje temperature za 10° dolazi do **povećanja** enzimsko aktivnosti za 1.5-2 puta.
- **Termostabilni enzimi:** ribonukleaza, AF iz placente, LDH1 iz miokarda, arginaza
- **Termolabilni enzimi:** glutamat dehidrogenaza, AF iz kostiju i LDH5 iz skeletnih mišića.

Uticaaj pH vrednosti

- *Enzimi su aktivni u uskom intervalu vrednosti pH a izvan tog intervala se naglo smanjuje njihova katalitička aktivnost.*
- *Za najveći broj enzima, optimalna pH vrednost se nalazi u intervalu od 4-8.*
- *Kako su enzimi polielektroliti, pH utiče na aktivnost enzima time što:*
 - *direktno utiče na **stepen jonizacije bočnih grupa amino kiselina** (koje ulaze u strukturu AC enzima);*
 - ***stepen jonizacije funkcionalne grupe supstrata i***
 - ***održavanju tercijarne strukture enzima.***
- ***Optimalni pH** je ona vrijednost ove konstante pri kojoj molekuli enzima imaju onu jonsku formu koja je najadekvatnija za kontakt supstrata sa aktivnim centrom enzima.*

*pH zavisnost kisele (a)
i alkalne (b) fosfataze*



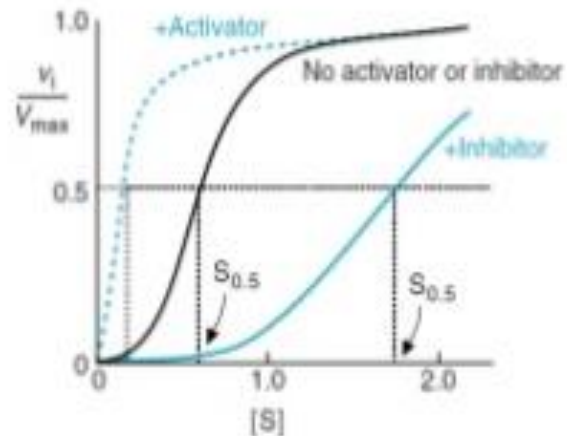
Alosterna modifikacija enzima

Alosterno mesto; alosterni modulatori

A model of an allosteric enzyme



Sigmoidalna kriva



K klasa menja K_m
V klasa menja V_{max}







REGULACIJA AKTIVNOSTI ENZIMA

-
- **Dijagnostički značaj** → enzimi koji funkcionišu intracelularno (u plazmi su u niskoj koncentraciji, a mjerenjem njihove aktivnosti u plazmi može da se odredi mjesto i priroda patološke promjene koja do toga dovodi)
 - **Aktivnost enzima** → rezultat ravnoteže u brzini kojom enzimi ulaze u cirkulaciju i brzine kojom se inaktiviraju ili uklanjaju iz cirkulacije
-

Ulazak enzima u krv

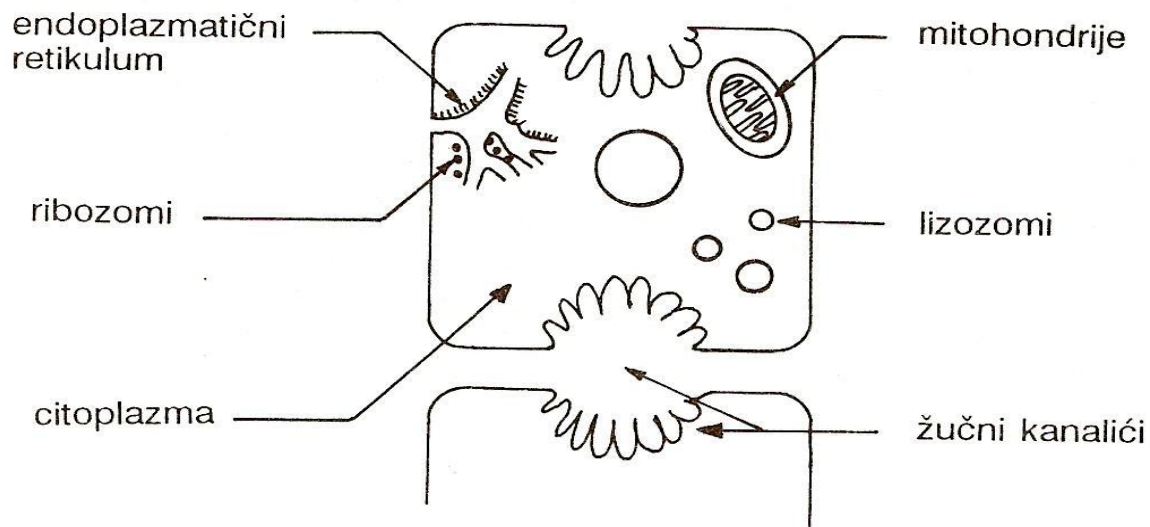
Faktori

- koji utiču na brzinu kojom se enzimi oslobađaju iz ćelija
 - koji utiču na brzinu stvaranja enzima (bilo da povećavaju sintezu enzima ili stimulišu proliferaciju ćelija koje sintetišu enzime)
-

➤ Oslobađanje enzima iz ćelije

- veličina molekula
 - brzina prolaza (iz intersticijalne tečnosti u krv)
 - direktan prolaz interst.teč. → krv (prokrvljena tkiva - jetra)
 - putem limfe → krv (kapilari nepropustljivi - mišići)
 - intracelularna i subcelularna lokalizacija enzima
-

SUPCELULARNA LOKALIZACIJA ENZIMA U ĆELIJI JETRE.



- a) endoplazmatični retikulum: G-6-fosfataza, enzimi detoksikacije i konjugacije,
- b) ribozomi: holin-esteraza, faktori i enzimi koagulacije, ceruloplazmin,
- c) citoplazma: alanin i leucin aminopeptidaza, aspartat aminotransferaza (65%), alanin aminotransferaza, fosfofruktokinaza, aldolaza, sorbitol dehidrogenaza, laktat dehidrogenaza, arginaza i ornitin-karbamil transferaza

- d) mitohondrije: CLK, oksidativna fosforilacija, oksidacija masnih kiselina, glutamat dehidrogenaza i aspartat aminotransferaza (35%); lizozomi: β -glukuronidaza, kiselne hidrolaze (fosfataza, sulfataza, RNA-aza, DNA-aza);
- e) žučni kanalići: arilamidaza aminokiselina, alkalna fosfataza, 5'-nukleotidaza i γ -glutamil transpeptidaza.

➤ Povećana produkcija enzima

- normalna pojava
 - u toku bolesti
 - uticaj lijekova i alkohola
 - proliferacija nekih ćelija
-

➤ Smetnje u sekreciji enzima

→ sekreti gastrointestinalnog trakta

Eliminacija enzima iz krvi

- Izlučivanje putem urina (amilaza, lizozim, pepsin)
 - Degradacija (u retikuloendotelnom sistemu i u drugim ćelijama): endocitoza uz učestvovanje receptora
 - Poluživot enzima u plazmi 24-48 sati
 - Enzimi se ne eliminišu putem žuči
-

Specifičnost enzima za pojedine organe (enzimska slika organa)

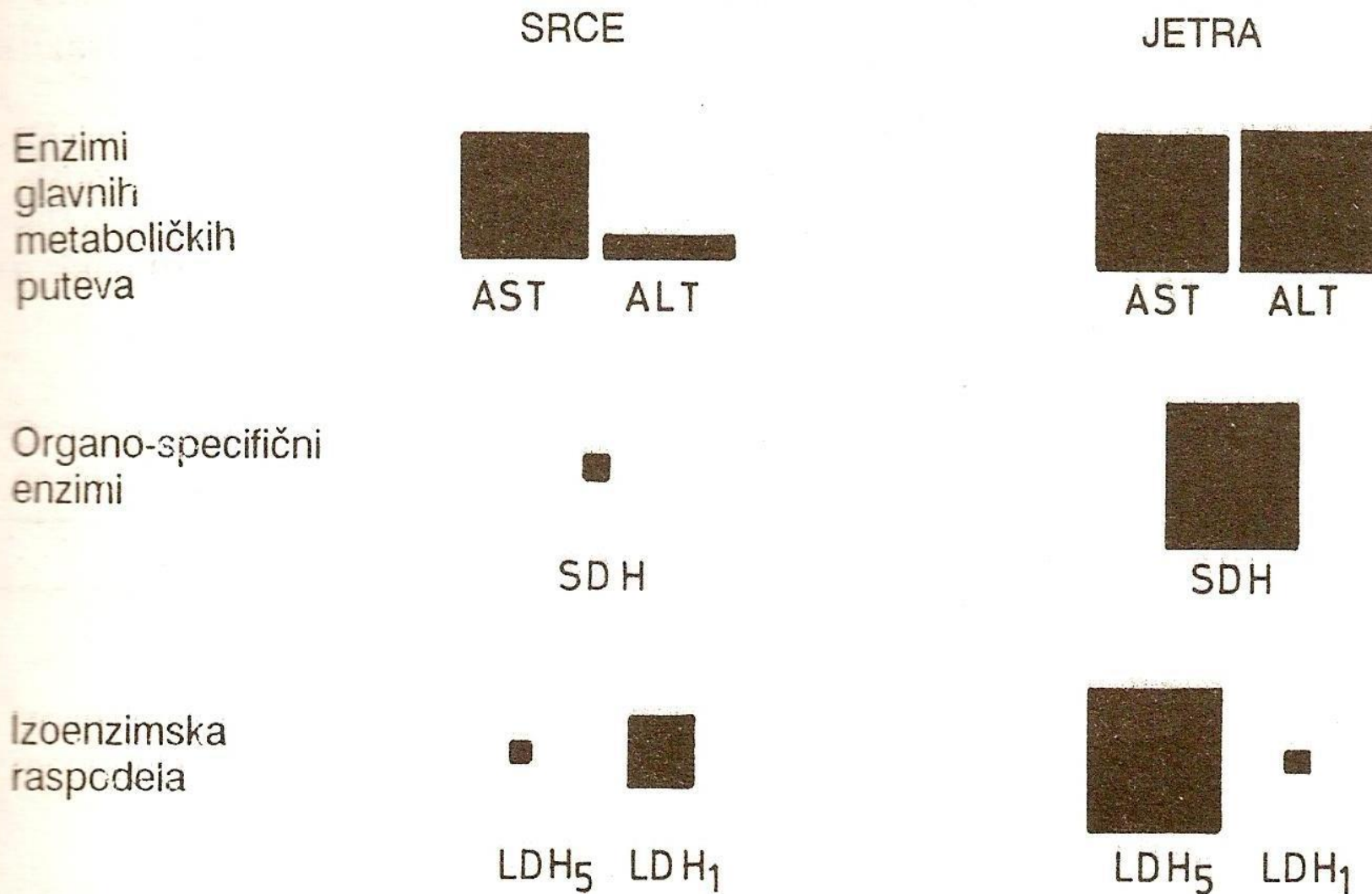
- Enzimi nespecifični za pojedine organe
 - enzimi glikolize
 - ciklusa limunske kiseline
 - respiratornog trakta
 - Enzimi specifični za pojedine organe
 - ~ organski specifični organi ~
 - Izoenzimi specifični za pojedine organe
-

- Izbor enzima

- raspodjela po organima i tkivima
- vrijeme za koje se oni degradiraju u krvi

- Tumačenje rezultata

DIFERENCIJACIJA ORGANA POMOĆU RASPODELE ENZIMA.

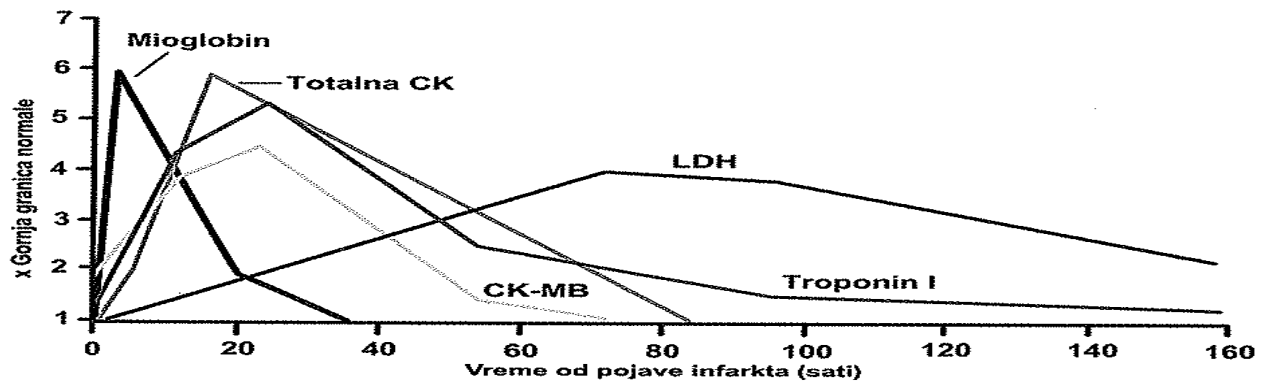


Raspodjela po organima dijagnostički važnih enzima

enzim	lokalizacija	dijagnostički zančaj
AST	jetra, skel.mišići, srce, bubrezi, erc	MI, parenhimske bolesti jetre, bolesti mišića
ALT	jetra, skel.mišići, srce	parenhimske bolesti jetre
ALP	jetra, kosti, placenta, intest.mukoza, bubrezi	bolesti kostiju, hepatobil. bolesti
Kisela fosfataza	prostata, eritrociti	karcinom prostate
Kreatin-kinaza	skeletni m.mozak, srce, glatki m.	MI, bolesti mišića
Glutamat-dehidrogenaza	jetra	parenhimske bolesti jetre
Gama-glutamilttransferaza	jetra, bubrezi	hepatobil.bolesti, alkoholiz.
Amilaza	pljuv.žlijez, pankreas, ovarijumi	bolesti pankreasa
Lipaza	pankreas	bolesti pankreasa
Tripsin(ogen)	pankreas	bolesti pankreasa
Holinesteraza	jetra	parenh.bolesti jetre, trovanje organofosfatima
5'-nukleotidaza	hepatobilijarni trakt	hepatobilijarne bolesti
LDH	srce, jetra, mišići,erc trc	MI, parenhimske bolesti jetre, hemoliza
Aldolaza	skeletni mišići, srce	bolesti mišića

Aktivnosti enzima u bolestima različitih organa

- ❖ **Bolesti srca** (CK,CK-MB, AST, LDH), **troponin, mioglobin**
- ❖ **Bolesti jetre** - enzimi koji se sintetišu u jetri i luče u cirkulaciji (faktori koagulacije i holinesteraza)
 - enzimi koji kod oštećenja hepatocita izlaze iz cirkulacije→indikatorski enzimi (AST, ALT, LDH, SDH, GLDH, ICDH, GGT, ALP,...)
 - enzimi žučnih puteva (GGT, LAP, ALP)
- ❖ **Bolesti pankreasa** (amilaza i lipaza)(AST, ALT, GGT)
- ❖ **Bolesti kostiju** (ALP, izoenzim ALP)
- ❖ **Bolesti mišića** (CK, AST, aldolaza, LDH)
- ❖ **Bolesti prostate** (izoenzim kisele fosfataze)



Slika 1. Kinetika srčanih biomarkera nakon AIM.