

بِسْمِ اللّٰهِ الرَّحْمٰنِ الرَّحِیْمِ

آنزیم ها

دکتر محمدرضا پریزاده

استاد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی مشهد

کمیته علمی بهمن ۹۱

و

کمیته علمی مهر ۹۴



آنزیم ها (کاتالیزورها) مولکول های زیستی هستند که واکنش های شیمیایی را کاتالیز میکنند. بیشتر آنزیم ها از جنس پروتئین بوده و دارای ساختمان های سوم و چهارم می باشند، به استثنای تعداد کمی از آن ها که از جنس RNA هستند و **ریبوزوم (ribozyme)** نامیده می شوند. آنزیم ها در مقایسه با بقیه ی کاتالیزور های شیمیایی قوی تر بوده و به اصطلاح **قدرت کاتالیکی (power catalytic)** بالاتری دارند به طوری که سرعت واکنش ها را 10^5 تا 10^{17} برابر افزایش می دهند.

آنزیم ها عمل کاتالیزوری خود را در **محیط آبی** و در محدوده ی معینی از **دما** و **PH** انجام می دهند.

ماده ای که آنزیم روی آن اثر میکند را **سوبسترا (Substrate)** می گویند.

آنزیم ها را از نظر ترکیبی به دو دسته تقسیم می کنند:

۱- ساده
۲- مرکب (apoenzyme)

آنزیم های ساده: آنزیم هایی که خود به تنهایی می توانند واکنش ها را کاتالیز کنند.

آنزیم های مرکب (Apoenzymes): تعدادی از آنزیم ها برای واکنش به اجزای غیر پروتئینی دیگری نیاز دارند که به آنها **کوفاکتور** گفته می شود.

کوفاکتورها

کوفاکتورها موادی هستند که برای انجام واکنش بعضی از آنزیم ها ضروری می باشند.

در آنزیم های مرکب بخش پروتئینی آنزیم را **آپوآنزیم (Apoenzyme)** و به کل مجموعه ی آنزیم و کوفاکتور **هولو آنزیم (Holoenzyme)** گفته می شود.

* کوفاکتور ها را به سه دسته تقسیم بندی می کنند:

۱- کوآنزیم ها

۲- گروه های پروستتیک (ترکیبات غیر از اسید های آمینه)

۳- اکتیویتورها (یون های فلزی مانند Mg^{2+} و Zn^{2+})

(برای علوم پایه)

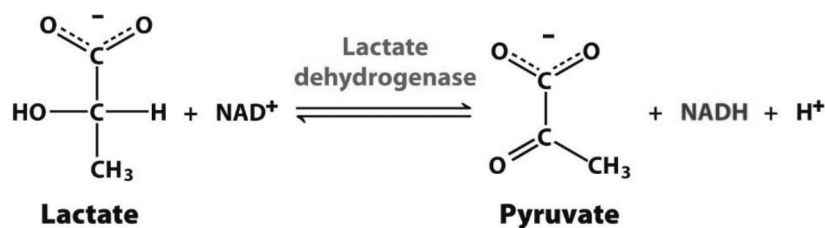
اکتیویتورها : یون های فلزی هستند که با اتصال ضعیفی به قسمت پروتئینی وصل هستند و برای فعالیت بعضی از آنزیم ها وجودشان ضروریست.

گروه های پروستتیک: ترکیباتی غیر از اسید های آمینه هستند که با اتصال کوالانتهی به بخش پروتئینی آنزیم می چسبند. به عنوان مثال آنزیم کاتالاز دارای یک بخش پروستتیک به نام هم است.

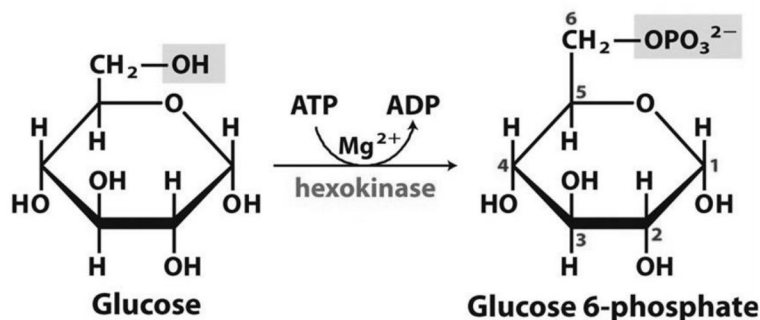
کوآنزیم ها

کوآنزیم ها ترکیبات آلی غیر پروتئینی هستند که با اتصال ضعیف غیر کوالانتهی به آنزیم متصل میشوند و به همین دلیل به راحتی از آنزیم جدا می شوند.

مثال (۱) در واکنش تبدیل اسید لاکتیک به پیروات و برعکس آنزیمی به نام **لاکتات دهیدروژناز (LDH)** فعالیت می کند. این آنزیم برای فعالیت خود به یک کوآنزیم ویتامین به نام **نیکوتین آمید آدنین (یا نیاسین و یا NAD^+ و $NADH_2$)** نیازمند است.



مثال (۲) کوآنزیم: ATP به همراه یون Mg^{2+}

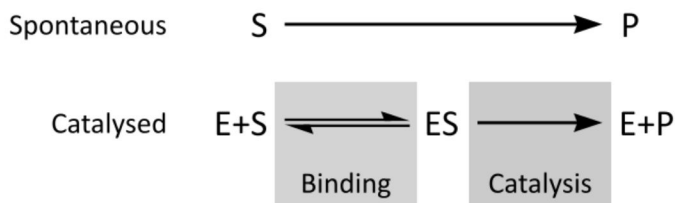
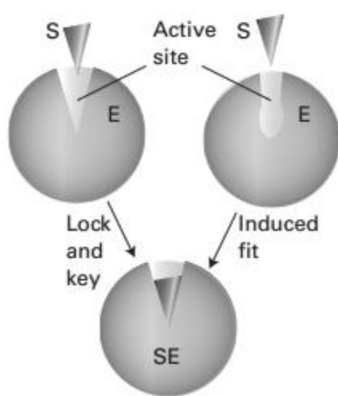


روش واکنش آنزیم ها

برای انجام یک واکنش در حضور آنزیم ابتدا سوبسترا باید با بعضی از اسیدهای آمینه که در نواحی خاصی از آنزیم ها قرار دارند اتصالات ضعیفی برقرار کند. به این نواحی جایگاه فعال آنزیم (active site) می گویند.

پس از اتصال آنزیم کمپلکس آنزیم سوبسترا (ES) تشکیل می شود و سپس سوبسترا (S) تبدیل به فراورده (P) شده و سپس آنزیم از فراورده جدا می شود.

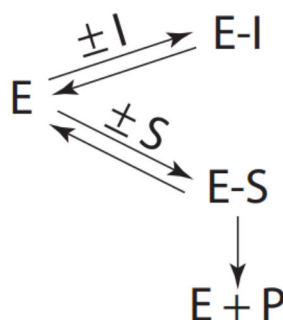
به طور کلی میتوان واکنش بالا را به صورت زیر توصیف کرد:



مهارکننده های آنزیمی (inhibitors): مهارکننده های آنزیمی ترکیباتی هستند که یا از اتصال طبیعی سوپسترا با آنزیم جلوگیری می کند و یا در عمل کاتالیزوری آنزیم ها تداخل می کند و سرعت واکنش های آنزیمی را یا کاهش داده و یا کاملاً متوقف می کند.

* بیشتر داروها مهارکننده های آنزیمی هستند. برای مثال، داروی استاتین، هنگام افزایش کلسترول مصرف شده و از تشکیل ES جلوگیری می کند. البته تشکیل EI، به منزله شباهت ساختاری I و S است و شرط فرارگیری I در جایگاه S، غلظت بیشتر آن است. و به همین دلیل دارویی اثربخش است که غلظت مشخصی از آن مصرف شود.

(EI: همان side effect دارو است)



تقسیم بندی آنزیم ها

آنزیم ها را از نظر عملکرد به ۶ دسته تقسیم می کنند. (شماره هر دسته مهم است و به آن کد آنزیمی یا EC یک آنزیم می گویند)

هر آنزیمی با ۴ عدد مشخص می شود: اولین عدد، (EC) نمایانگر دسته اصلی آن است ولی اعداد بعدی، دستجات فرعی آن را مشخص می کنند.

- ۱- اکسیدو ردوکتاز ها (Oxidoreductases) (واکنش اکسایش: oxido و واکنش کاهش: reduction)
- ۲- ترانسفراز ها (Transferases) (جا به جایی: transfer)
- ۳- هیدرولاز ها (Hydrolases)
- ۴- لیاژ ها (Lyases)
- ۵- ایزومراز ها (Isomerases)
- ۶- لیگاز ها (Ligases)

۱- اکسیدو ردوکتاز ها (Oxidoreductases)

شامل تمام آنزیم هایی هستند که در واکنش های اکسید و احیا شرکت دارند. مانند:

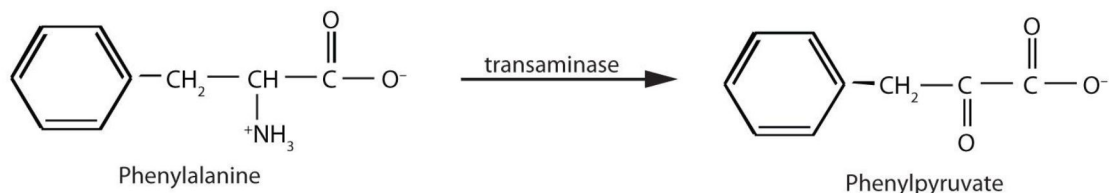
LDH - گلوکاتیون پر اکسیداز - کاتالاز - فنیل آلانین هیدروکسیلاز

* آنزیم هایی که پسوند هایی مانند: هیدروژناز یا دهیدروژناز، اکسیداز یا پروکسیداز، رداکتاز، داکسیژناز دارند از این گروه هستند ولی عکس آن الزاماً صحیح نیست، به عنوان مثال: فنیل آلانین هیدروکسیلاز

۲- ترانسفرازها (Transferases)

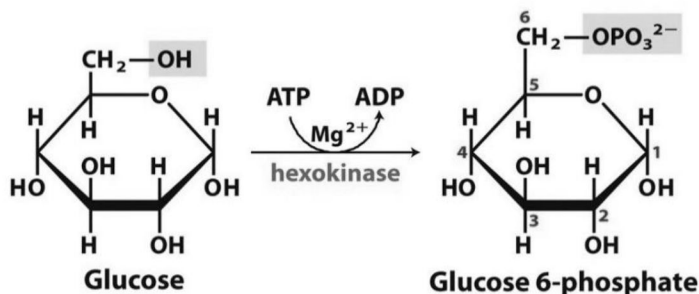
در انتقال یک گروه از روی یک مولکول به مولکول دیگر شرکت دارند. مانند ترانس آمینازها و کینازها

(۱) ترانس آمینازها: گروه آمینی را از یک مولکول برداشته و روی مولکول دیگر می‌گذارد.



(۲) کینازها: آنزیم‌های ترانسفیری هستند که در انتقال گروه‌های فسفات نقش دارند.

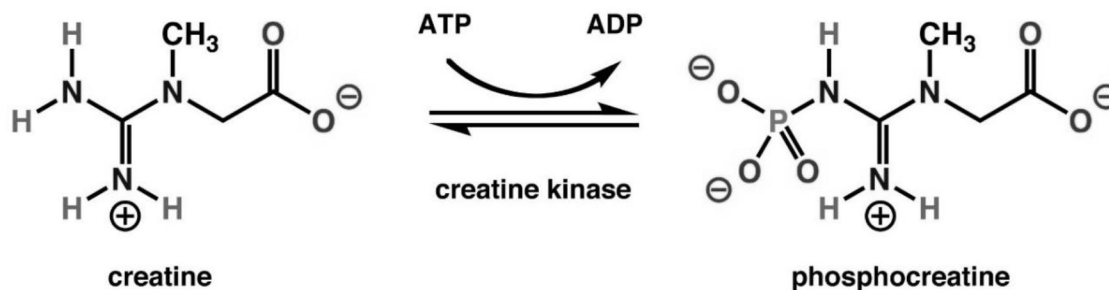
مثال: هگزوکیناز (یا گلوکوکیناز) آنزیمی است که گروه فسفات را از روی ATP برداشته و روی گلوکز می‌گذارد.



آنزیم CK (Creatin Kinase)

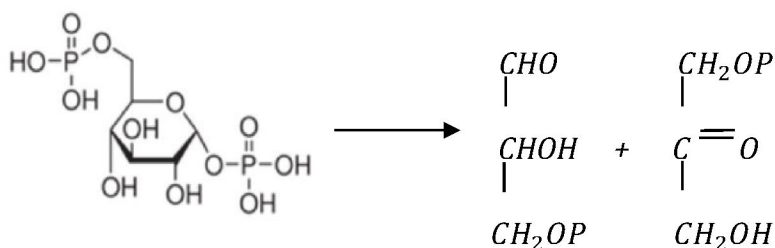
سه نوع آنزیم CK داریم:

- ۱- آنزیمی که در مغز است و در آسیب‌های مغزی زیاد می‌شود: CK_1
 - ۲- آنزیمی که در عضلات قلبی وجود دارد و در بیماری‌های قلبی زیاد می‌شود: CK_2
 - ۳- آنزیمی که در عضلات است و در آسیب‌های کبدی و عضلانی زیاد می‌شود: CK_3
- این آنزیم طی واکنش زیر کراتین را تبدیل به کراتین فسفات می‌کند:



۴- لیازها (Lyases)

لیازها در جدا یا اضافه کردن ملکول های H_2O ، NH_3 ، CO_2 شرکت دارند. این آنزیم ها یا پیوند را قطع کرده و یا آن را دوگانه می کنند (بدون مصرف آب). این کار با حذف یا اضافه کردن یک مولکول انجام می شود.



1, 6 glucose bisphosphate

گلیسرآلدئید فسفات

دی هیدروکسی استون فسفات

۵- ایزومرازها (Isomerases)

در انتقال یک گروه درون یک ملکول یا تبدیل یک ایزومر به ایزومر دیگر نقش دارند. و به ۴ طبقه زیر تقسیم می شوند:

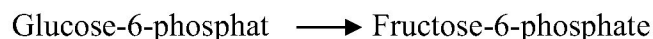
* ایزومر به ترکیباتی گفته میشه که فرمول مولکولی یکسانی دارند ولی آرایش فضایی متفاوتی دارن! مثلا گلوکز و فروکتوز

۱. اپیمرازها (Epimerases): در تبدیل یک اپیمر به اپیمر دیگر نقش دارند.

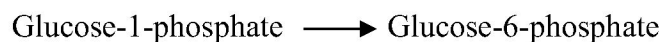
* دو قندی که از نظر آرایش فضایی فقط حول یک اتم کربن با هم اختلاف دارن اپیمر همدیگه میگن. (دعوا نمک زندگیه!!! 😊) مثلا گلوکز و گالاکتوز روی کربن شماره ۴.



۲. ایزومرازها (Isomerases): موجب تبدیل یک ایزومر به یک ایزومر دیگر می شود.



۳. موتازها (Mutases): انتقال یک گروه از یک اتم به اتم دیگر را در یک ملکول بر عهده دارند. (از یک ملکول به ملکول دیگر وظیفه ترانسفرازها بود!!!)



۴. راسمازها (Rasemases): در تبدیل فرم های D و L به یکدیگر نقش دارند.



۶- لیگاز ها (Ligases)

واکنش اتصال دو مولکول به یکدیگر و ایجاد پیوند های جدید را کاتالیز می کنند. انرژی لازم برای انجام این واکنش ها توسط ATP تامین میشود. (میدونین که واکنش تشکیل پیوند یک واکنش انرژی خواه هست و بدون یک منبع انرژی حتی با وجود آنزیم انجام نمیشه چون آنزیم روی سطح انرژی واکنش دهنده و فرآورده تاثیر نداشتند)

لیگاز ها به ۲ دسته تقسیم می شوند:

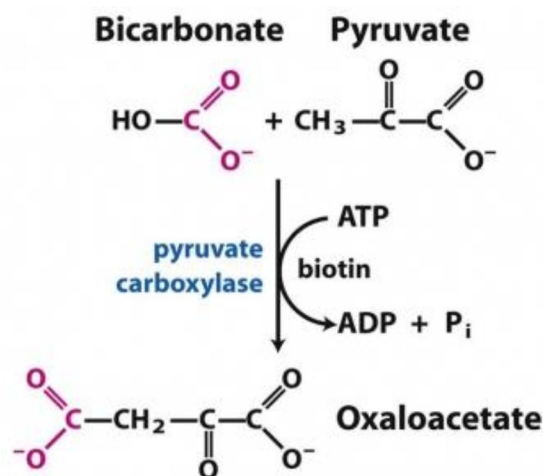
۱- سنتتاز ها (Synthesases)

۲- کربوکسیلاز ها (Carboxylases)

مثال: سنتتاز ها:



مثال: کربوکسیلاز ها:



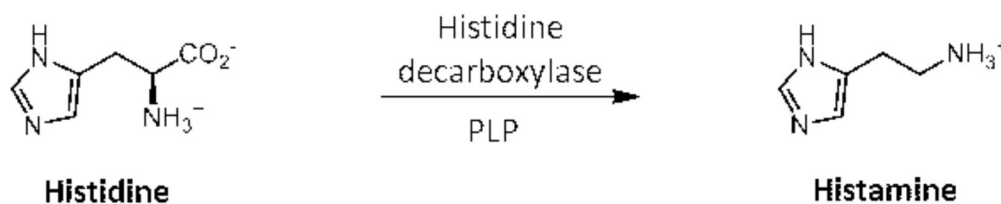
پیروات کربوکسیلاز:

* اگزالو استات (همراه با ACOA) اولین ماده ای است که وارد چرخه کربس می شوند.

این چرخه نام های متفاوتی مانند چرخه اسید سیتریک دارد.

* سیتریک اسید: اولین ماده ای که در چرخه کربس تولید می شود.

یادآوری:



روش های نام گذاری آنزیم ها (For Oloom paye!!)

۱- نام گذاری اولیه (Trivial names): در این روش نام گذاری پسوند آز (ase) به نام سوبسترا اضافه می شود (مانند پپتیداز یا لاکتاز یا ساکاراز) و یا پس از آوردن اسم سوبسترا و نوع واکنش پسوند آز به آن اضافه می شود. (مانند لاکتات دهیدروژناز، گلوکز اکسیداز، پیرووات کربکسیلاز)

* نام گذاری بعضی از آنزیم ها بر اساس قاعده خاصی نیست مانند chymotrypsin ، trypsin ، pepsin

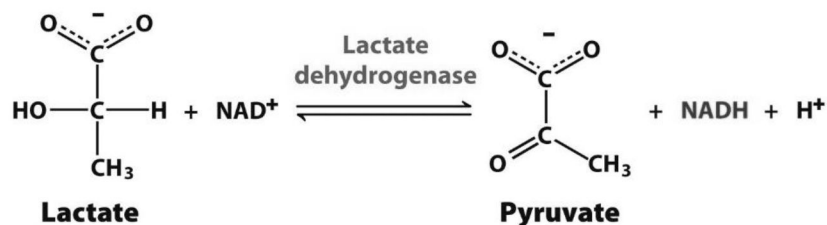
۲- نام گذاری سیستماتیک :

در این روش ابتدا نام همه سوبسترا ها به از جمله کو آنزیم ها آورده می شود سپس نام طبقه آنزیم آورده می شود. طبق فرمول زیر:

طبقه واکنش - کو آنزیم : سوبسترا

مثلا لاکتات دهیدروژناز همیشه:

Lactate: NAD^+ - Oxidoreductase



۳- نام گذاری از روی عدد کمیسیونی آنزیم:

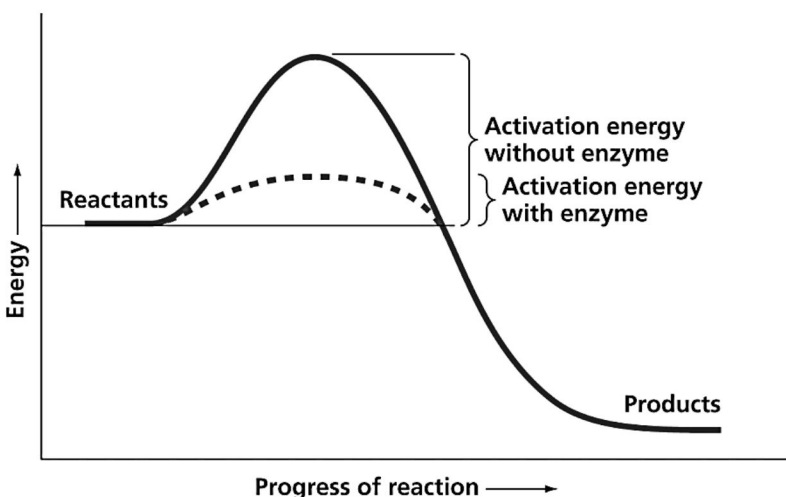
کمیسیون آنزیم شناسی هر آنزیم را با یک کد چهار رقمی مشخص نموده است که به آن عدد کمیسیونی آنزیم می گویند. این نام گذاری مهم نیست ولی واسه محکم کاری به مثال مینویسم!! بعد بگین گروه بیوشیمی بده!!! مثال!!:

آنزیم هگزوکیناز در این نامگذاری به صورت ۱,۷,۲,۲ نشان داده میشود که در آن ۲ نام طبقه یا کلاس آنزیم است (که همیشه ترانسفراز، چرا اینجوری نگاه میکنی؟؟ O₂- کد آنزیمی ۲ ماله ترانسفراز ها بود دیگه!!) عدد ۷ مربوط به ساب کلاس یا زیر طبقه آنزیم است. دو عدد ۱ نیز به ترتیب از چپ مربوط به ساب کلاس و شماره سریال آنزیم می شود. (ساب کلاس و ساب کلاسو اینا هم بر اساس کار آنزیم و سوبسترا دسته بندی شدن)

نحوه فعالیت یک آنزیم

آنزیم ها در جریان واکنش کاتالیزوری خود با کم کردن انرژی فعال سازی سرعت واکنش رفت و برگشت را به یک اندازه افزایش می دهند.

بنابراین آنزیم ها بر سطح انرژی فرآورده و واکنش دهنده و هم چنین ثابت تعادل واکنش تاثیری ندارند یعنی مقدار انرژی مورد نیاز برای انجام یک واکنش در حضور آنزیم تفاوتی با مقدار انرژی لازم بدون حضور آنزیم ندارد. همچنین اگر واکنشی انجام نشدنی باشد وجود آنزیم تاثیری بر انجام واکنش ندارد.



Copyright © 2006 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

مدل های آنزیم ها

می دانیم به دلیل اینکه آنزیم ها از نظر شکل فضایی هر کدام تنها با یک سوبسترای خاص جور می شوند، دارای عملکرد اختصاصی هستند. در این باره دو مدل برای نحوه عملکرد اختصاصی آنزیم مطرح شده است:

- ۱- مدل قفل و کلید
- ۲- مدل قالب القایی

۱- **مدل قفل و کلید:** بر اساس این نظریه که توسط فیشر مطرح شد جایگاه فعال به صورت پیش ساخته فرض می شود و آنزیم و سوبسترا مکمل هم هستند.

۲- **مدل قالب القایی** (برای علوم پایه): این مدل توسط دانشمندی به نام کوشلند (kushland) پیشنهاد گردیده است. بر اساس این نظریه جایگاه فعال آنزیم پیش ساخته نیست بلکه با اولین تماس سوبسترا به آنزیم به دلیل انعطاف پذیری ساختمان پروتئین تغییراتی در شکل فضایی آنزیم به وجود می آید. در نتیجه ی این تغییرات اتصالات قویتر سوبسترا به آنزیم فراهم می گردد.

* گاهی اوقات ممکن است که چند آنزیم روی یک سوبسترا عمل کنند؛ ولی محصولات متفاوتی داشته باشند (میدونم تابلویه!!
چیکار کنم خب باید بنویسم!!!) مانند سه آنزیم تریپسین، کیموپسین و الاستاز که هر سه پروتئیناز هستند ولی محصول آنها متفاوت است:
تری پسین پیوند های پپتیدی حاصل از لیزین و آرژنین را قطع می کند.
کیموتری پسین پیوند های پپتیدی حاصل از گروه کربوکسیل اسید های آمینه حلقوی را می شکند.
الاستاز پیوند های پپتیدی حاصل از گروه کربوکسیل اسید های آمینه کوچک را قطع می کند.

سینتیک آنزیمی (Enzyme kinetic)

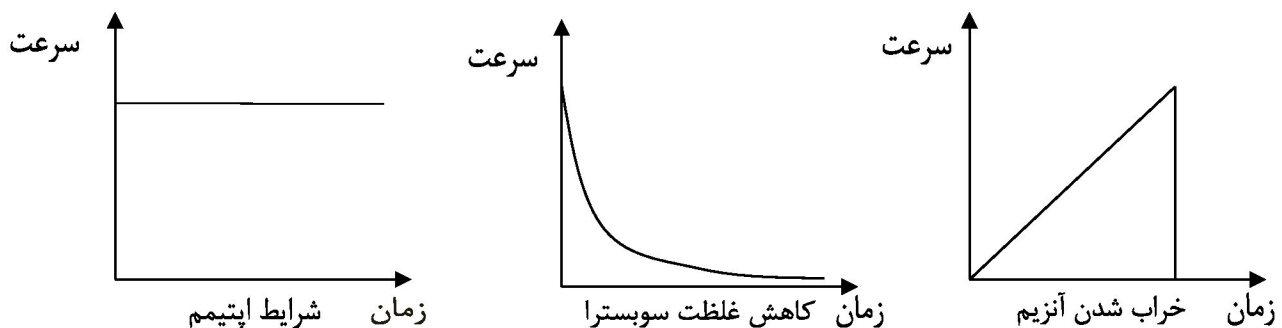
منظور از سینتیک آنزیمی بررسی عوامل موثر بر سرعت واکنش های آنزیمی است. لازم به یاد آوری است که سرعت واکنش عبارت است از میزان تغییرات غلظت سوبسترا در واحد زمان ($-\frac{dS}{dt}$) و یا میزان تغییرات غلظت محصول در واحد زمان ($\frac{dP}{dt}$). سرعت واکنش همواره کمیتی مثبت است. بنابراین به دلیل اینکه تغییرات غلظت سوبسترا همواره عددی منفی است رابطه سرعت سوبسترا را در یک منفی ضرب می کنیم.

عوامل موثر بر سینتیک آنزیمی

توجه داشته باشید که هر کدام از این عوامل در یک شرایط ایتیمم یا ایده آل بررسی می شوند. یعنی تمام عوامل موثر بر آنزیم به جز عامل مورد نظر ایده آل در نظر گرفته می شوند.

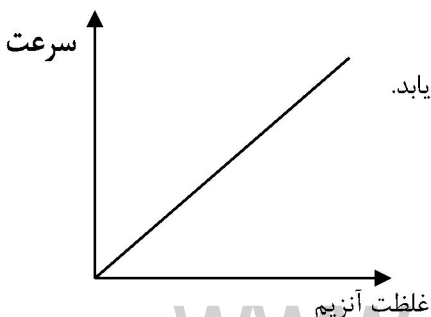
۱- زمان :

در شرایط ایتیمم این رابطه به صورت یک رابطه خطی است ولی در شرایط عادی به ۲ دلیل تغییر می کند:
۱- غلظت سوبسترا رو به کاهش می باشد
۲- ممکن است آنزیم خراب شود که در این صورت سرعت واکنش صفر می شود.



۲- اثر غلظت آنزیم :

در شرایط ایتیموم سرعت واکنش همراه با افزایش آنزیم به صورت خطی افزایش می یابد.

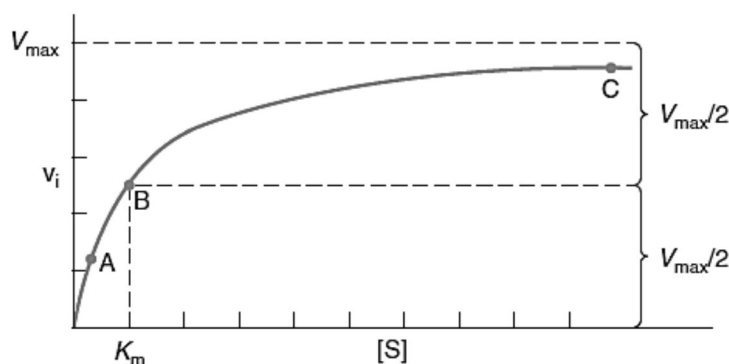


۳- غلظت سوبسترا:

حالا رسیدیم به قسمت خوبش!!! حسابی دقت کنین مهم ترین قسمت سینتیک آنزیم هست!!! شایدم مهم ترین قسمت آنزیم!!!
 سرعت یک واکنش آنزیمی در شرایط ایتیمم تا محدوده معینی با افزایش غلظت سوبسترا افزایش می یابد ولی پس از آن با افزایش غلظت سوبسترا سرعت افزایش چندانی نخواهد داشت و نهایتا سرعت به مقدار ثابتی می رسد که به آن سرعت ماکسیمم می گویند. بنابراین نمودار واکنش به صورت یک هزلولی راست گوشه می شود. این اتفاق به دلیل این است که فضای آنزیم به حد اشغال خود می رسد. و دیگر افزایش سوبسترا تاثیری بر افزایش سرعت نخواهد داشت. مثلا تو یه نونوایی زمان پخت نون و تحویل نون همیشه ثابت-ه! خب حالا تعداد مشتری هارو یواش یواش زیاد می کنیم!! مشتری ها تا وقتی که سرعت اضافه شدنشون با سرعت تحویل نون برابر نشده نیازی ندارن که منتظر بشن و تو صاف وایسن. حتی ممکنه نونا رو هم انباشته بشن و مشورتیا با سرعت بیانو نون بگیرن و برن!!! ولی از بعد از اون صف مشتریا شروع میکنه به تشکیل شدن که از این به بعد هرچی مشتری اضافه کنیم دیگه فرقی تو سرعت گرفتن نون نداره!! تو این تشبیه مشتری همیشه سوبسترا! مشتری نون گرفته میشه فرآورده، و عمل تحویل نون میشه خود واکنش. بدین ترتیب در غلظت های کم سوبسترا رابطه به صورت خطی و درجه یک بوده و معادله واکنش به صورت زیر می باشد:

$$V = K[S]$$

در غلظت های بالاتر سوبسترا رابطه بین سرعت واکنش و غلظت سوبسترا از حالت خطی خارج شده و با ادامه افزایش غلظت سوبسترا، سرعت واکنش متناسب با افزایش غلظت سوبسترا افزایش نیافته و نهایتا سرعت تقریبا به مقدار ثابتی می رسد. در این مرحله سرعت واکنش آنزیمی سرعت ماکسیمم (V_{max}) نامیده میشود. در این حالت معادله سرعت واکنش از نوع درجه صفر می باشد.



* در نمودار بالا K_m (ثابت میکائیلیس منتون) برابر غلظتی از ماده است که در آن سرعت واکنش نصف سرعت ماکسیمم است.

حالا رسیدیم به بخش خوبش!!! ☺

معادله میکائیلیس - منتن (Michaelis-menten equation)

دو دانشمند به نام های میکائیلیس و منتن معادله نمودار صفحه قبل را به صورت ریاضی توضیح دادند: (دوس داشتم اثباتشم بنویسم که بهتر بگیرین مطلبو ولی چه واسه امتحان و چه واسه علوم پایه اثباتش نیاز نیست. تازه از همه مهم تر!!! حوصلشم ندارم!!!!) ©

$$V = \frac{V_{max} \times [S]}{k_m + [S]}$$

* در فرمول بالا میتوان فهمید که:

با افزایش غلظت سوبسترا سرعت نیز افزایش می یابد.

واکنش هایی که k_m کمتری دارند از نظر سرعتی سریع تر رشد میکنند.

واکنش هایی که V_{max} بیشتری دارند نیز رشد سرعتی بیشتر دارند.

(افزایش k_m مثله اینه که نمودارو از دوطرف بگیری بکشی تا کش بیاد!! میبینی که شیب نمودار با افزایش غلظت کمتر رشد میکنه! افزایش V_{max} مته اینه که نمودارو از بالا بگیریم بکشیم)

اینو خودم نوشتم!!! خواهشا اگه اشکال علمی داشت گیر ندین!!!! البته میدونم نداره!!! 😊 (واس علوم پایه هم نمیخواد!! همینطوری واسه قشنگی بخونین) در غلظت های بی نهایت سوبسترا از معادله حد میگیریم. معادله به صورت $\frac{\infty}{\infty}$ در می آید که نیازمند رفع ابهام است. در صورت کسر بالاترین درجه به و در مخرج نیز بالاترین درجه را نگه داشته و در جه های کمتر را حذف می کنیم. سپس کسر را ساده می کنیم.

$$\lim_{S \rightarrow \infty} \frac{V_{max} \cdot [S]}{k_m + [S]} = \frac{\infty}{\infty} \rightarrow \lim_{S \rightarrow \infty} \frac{V_{max} \cdot [S]}{[S]} = V_{max}$$

معادله لین ویور برک (Lineweaver-burk)

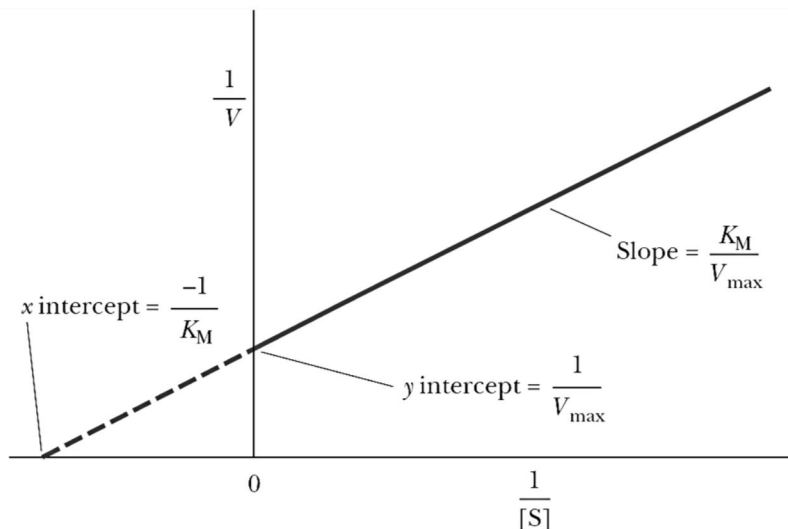
بدست آوردن مقادیر V_{max} و k_m از طریق معادله میکائیلیس منتن بسیار دشوار است، ازاین رو روش های مختلفی برای بدست آوردن این مقادیر مطرح شده است. یکی از این روش ها استفاده از نمودار دوبار معکوس لینویور برک میباشد. این نمودار با معکوس کردن معادله میکائیلیس منتن و سپس حساب کردن $\frac{1}{V}$ بر حسب $\frac{1}{S}$ بدست می آید. (یعنی $\frac{1}{V}$ تبدیل به Y و $\frac{1}{S}$ تبدیل به X میشود به این روش دوبار معکوس کردن معادله میگویند.) در این صورت طبق معادلات زیر یک تابع خطی به وجود می آید که عرض از مبدا آن $\frac{1}{V_{max}}$ و طول از مبدا آن $(-\frac{1}{K_m})$ می باشد.

$$v = \frac{V_{max} \times [S]}{k_m + [S]} \rightarrow \frac{1}{V} = \frac{k_m + [S]}{V_{max} \times [S]} = \frac{k_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V_{max} \times [S]} = \frac{k_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

در این معادله با تبدیل $\frac{1}{V}$ به Y و $\frac{1}{S}$ به X معادله ای درجه یک و خطی به دست می آید

$$\frac{1}{V} = \frac{k_m}{V_{max}} \times \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \rightarrow y = \frac{k_m}{V_{max}} x + \frac{1}{V_{max}}$$

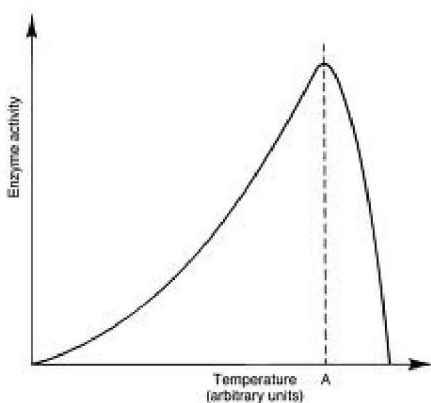
نمودار رابطه لین ویور برک به صورت روبرو می باشد:



۴- اثر درجه حرارت

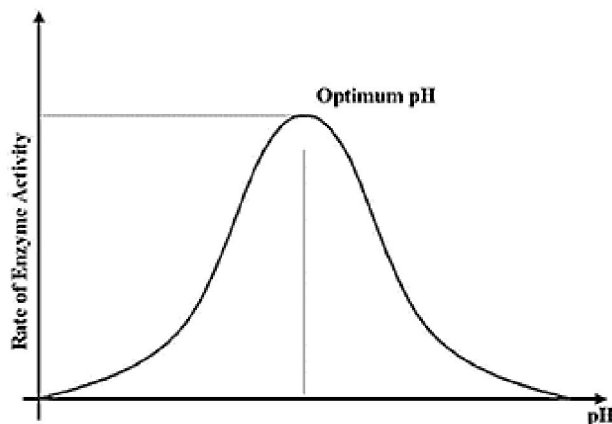
با افزایش درجه حرارت محیط واکنش برخورد بین مولکول ها افزایش یافته و لذا سرعت واکنش بیشتر می شود. بطور کلی به ازای هر ۱۰ درجه سرعت اغلب فرایندهای شیمیایی دو برابر می شود. این پدیده برای واکنش های آنزیمی تا دمای خاصی صدق میکند. از آن به بعد با افزایش درجه حرارت مولکول های آنزیم دناتوره می شوند و فعالیت خود را از دست داده و سرعت واکنش کاهش می یابد تا به صفر برسد.

درجه حرارت ماکسیممی که یک آنزیم می تواند تحمل کند را **درجه حرارت اپتیمم** یک آنزیم می گویند. هر آنزیم دارای درجه حرارت اپتیمم خاص خود است. (بعضی از آنزیمها مثل آنزیمایی که تو ترموفیلا هستن میتونن تا ۱۰۰°C هم تحمل کنن!!) نمودار میزان فعالیت آنزیم با افزایش دما به صورت زیر است:



۵- اثر pH

عوامل و گروه های شیمیایی موجود در جایگاه فعال آنزیم و یا سوبسترا از نظر میزان یونیزه شدن و بار الکتریکی در شرایط خاصی ایفای نقش می کنند. لذا تغییرات pH می تواند با تغییر میزان یونیزه شدن و بار الکتریکی این عوامل بر سرعت واکنش موثر باشد. pH مناسب برای حداکثر فعالیت آنزیم **pH اپتیمم** نامیده می شود. این pH برای بیشتر آنزیم های بدن در محدوده ۸ - ۶ میباشد. pH مناسب برای فعالیت پپسین در معده ۲ است.



مهارکننده های آنزیمی (Enzyme Inhibitors)

مهارکننده های آنزیمی ترکیباتی هستند که یا از اتصال طبیعی سوبسترا با آنزیم جلوگیری می کند و یا در عمل کاتالیزوری آنزیم ها تداخل می کند و سرعت واکنش های آنزیمی را یا کاهش داده و یا کاملاً متوقف می کند. حشره کش ها، بسیاری از سموم، سلاح های جنگی و اکثر داروها همگی از این دسته هستند. مهارکننده های آنزیمی از نظر نوع اتصال به آنزیم دو دسته هستند:

۱- برگشت پذیر (Reversible)

۲- برگشت ناپذیر (irreversible)

مهارکننده های برگشت پذیر اتصال سستی با آنزیم دارند، در حالیکه مهارکننده های برگشت ناپذیر با آنزیم اتصال محکمی (پیوند های کووالانسی) برقرار کرده و عملاً آنزیم را غیرقابل استفاده می کنند.

انواع مهارکننده های برگشت پذیر:

۱- مهار کننده های رقابتی

۲- مهار کننده های غیر رقابتی

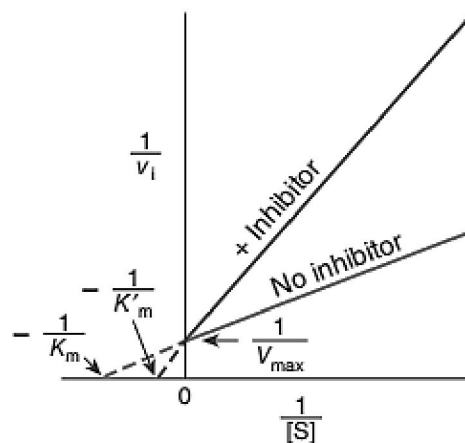
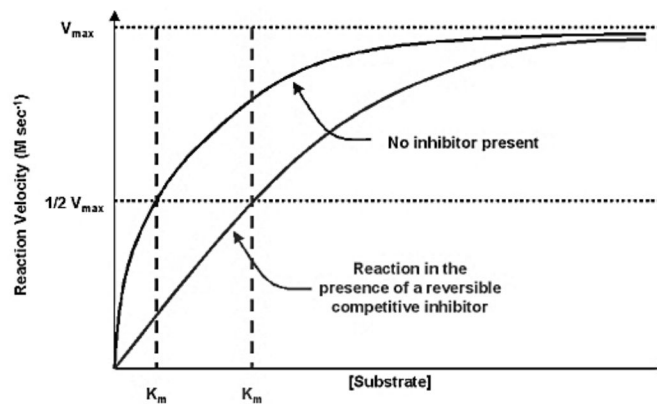
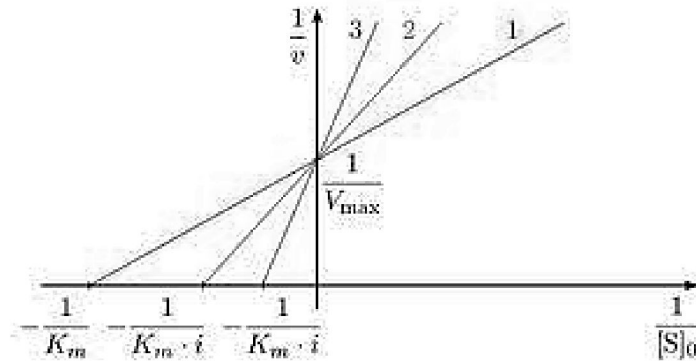
۱-مهارکننده های رقابتی (Competitive Inhibitor):

مهارکننده های رقابتی از نظر ساختمانی به سوبسترا شباهت داشته و می توانند به صورت برگشت پذیر به جایگاه فعال آنزیم متصل شوند.

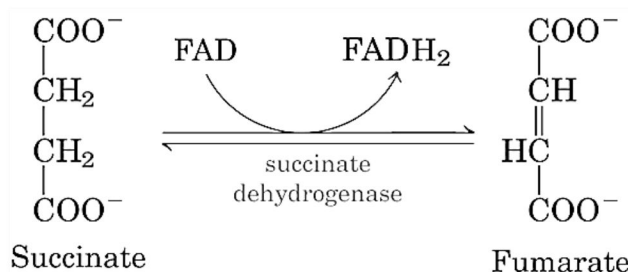
آنزیم ممکن است هیچ عمل کاتالیزوری بر روی آن انجام ندهد. هر چه غلظت مهارکننده بیشتر باشد آنزیم های بیشتری را مشغول خود می کند که در نتیجه سرعت تبدیل سوبسترا به فراورده کاهش می یابد. به عنوان مثال در مسمومیت با متانول از اتانول به عنوان مهارکننده رقابتی استفاده می شود.

*در یک مهار کننده رقابتی V_{max} تغییر نمیکنند ولی k_m زیاد می شود.

نمودار عمل یک مهار کننده رقابتی به صورت زیر است:



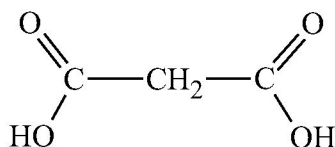
مثال: یکی از مراحل سیکل کربس تبدیل سوکسینیک اسید (سوکسینات) به فوماریک اسید طبق واکنش زیر است.



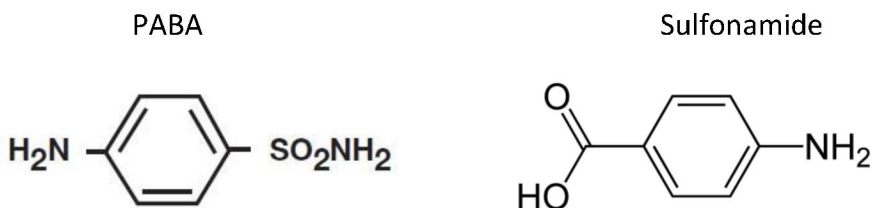
* چرخه کربس ۱۰ مرحله دارد که تنها در این مرحله است که از *FAD* استفاده می شود.

* اسید فوماریک به شکل ترانس است و سیس آن سمی می باشد.

مالونیک اسید به دلیل شباهت ساختاری با سوکسینیک اسید به عنوان یک مهارکننده رقابتی عمل کرده و مانع از تبدیل سوکسینات به فورامات می شود. ساختار مالونیک اسید به صورت روبرو است:



مثالی دیگر: آنتی بیوتیک سولفونامید (sulfonamide) مشابه PABA (پارا آمینو بنزویک اسید) عمل می کند. این آنتی بیوتیک در ساختار اسید فولیک قرار گرفته و زنجیره متابولیک پروتئین سازی در باکتری را مختل می کند.



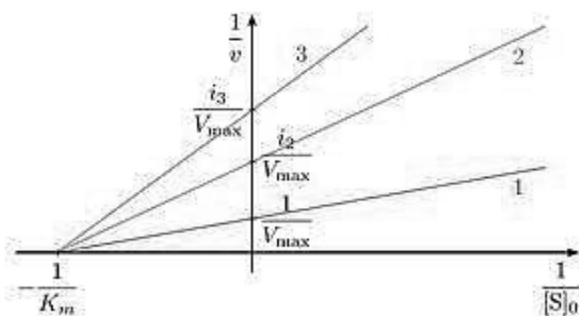
* پابا در خون سازی نقش داشته و هم در بدن ساخته می شود و هم از طریق رژیم غذایی قابل دریافت است.

* ویتامین ها: ترکیباتی آلی هستند که یا در بدن ساخته نمی شوند و یا به مقدار بسیار کم در بدن ساخته می شوند پس باید از طریق رژیم غذایی دریافت شوند. این ترکیبات به عنوان کوآنزیم در واکنش های شیمیایی عمل می کنند.

۲- مهارکننده های غیررقابتی:

مهارکننده های غیررقابتی شباهت ساختمانی به سوبسترا نداشته و برای اتصال به آنزیم با سوبسترا رقابت نمی کند بلکه به جایگاهی غیر از جایگاه فعال آنزیم وصل می شوند. بنابراین رابطه ای بین غلظت سوبسترا و میزان مهارکنندگی وجود ندارد. این مهارکننده ها بعد از اتصال به آنزیم با تغییر شکل فضایی آن موجب غیر فعال شدن آنزیم می شوند. در یک مهارکننده غیر رقابتی V_{max} کم می شود ولی تغییری در مدار k_m به وجود نمی آید. بنابراین نمودار لین ویور برک آن به صورت زیر می باشد:

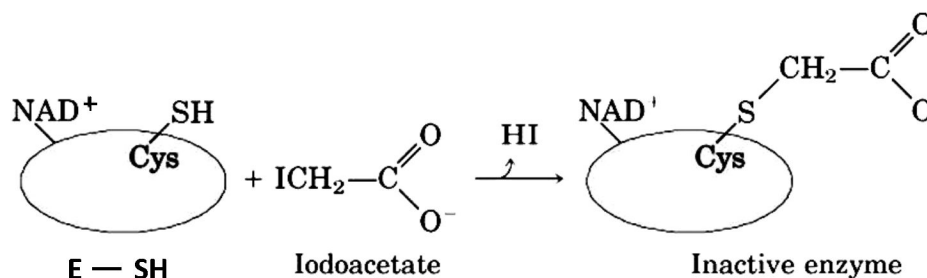
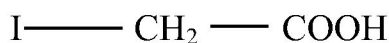
مثال: EDTA که در خارج کردن Ca^{2+} نقش دارد.



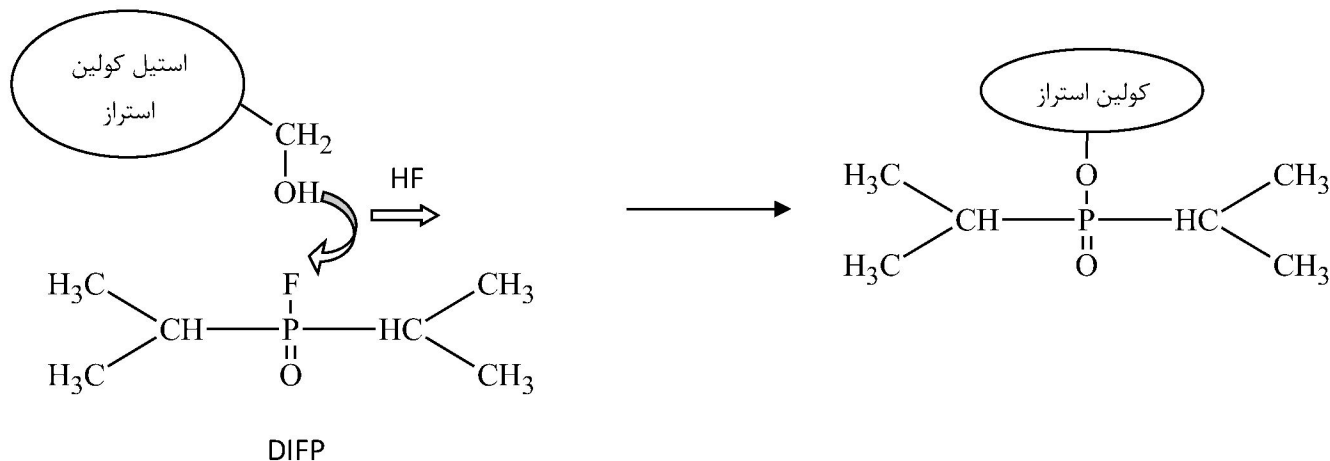
مهارکننده های برگشت ناپذیر:

این مهارکننده ها از طریق پیوند های کووالان اتصالات دائمی با گروه های عاملی موجود در جایگاه فعال آنزیم برقرار می کنند که در نتیجه آنزیم به طور دائمی غیر قابل استفاده می شود. مهارکننده های برگشت ناپذیر ابزار مفیدی در مطالعه مکانیسم واکنش های آنزیمی و دارو ها هستند. از این نوع مهارکننده ها برای تشخیص اسید های آمینه موجود در جایگاه فعال آنزیم ها استفاده میشود. سموم ضد حشره مانند Malathion و گاز های اعصاب مانند سارین (Sarine) (که در جنگ از آن استفاده می کنند) از این دسته هستند.

مثال: یدو استات با فرمول ساختاری روبرو یکی از مهارکننده های برگشت ناپذیر می باشد:

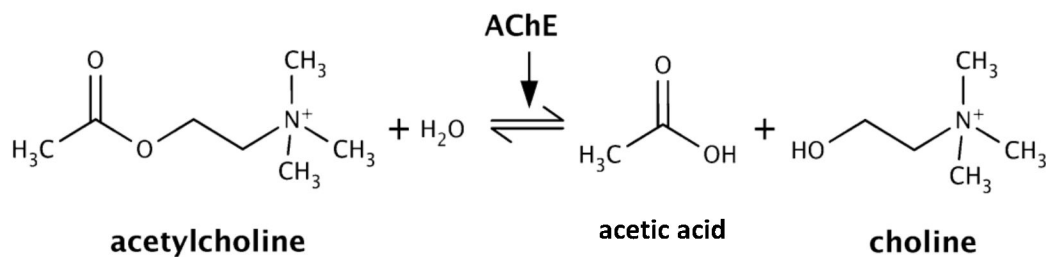
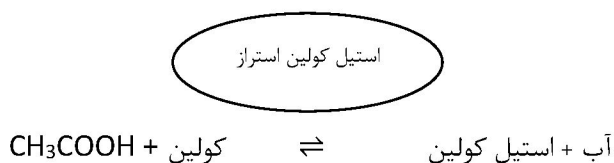


مثالی دیگر: در سیستم عصبی استیل کولین پس از انجام دادن وظیفه خود در سیناپس ها به وسیله آنزیم کولین استراز خاصیت خود را از دست می دهد و انتقال عصبی به ماهیچه متوقف می شود. یکی از مهار کننده ها این آنزیم ماده ای به نام دی ایزوپروپیل فلئوئور فسفات (*DIFP*) (یک سلاح شیمیایی است که در جنگ ها کاربرد دارد) می باشد که پس از اتصال به کولین استراز مانع از مهار استیل کولین می شود. در نتیجه انتقال پیام ادامه پیدا کرده و فرد پس از مدتی از پا در می آید.



* یادآوری:

آب + استر \rightleftharpoons الکل + اسید



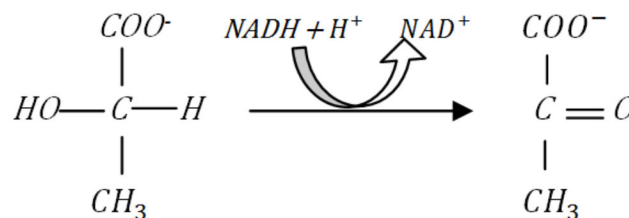
ایزوآنزیم (ایزوزیم):

به اشکال مختلف یک آنزیم در بافت های مختلف، که عمل یکسان دارند، ایزوآنزیم می گویند. ایزوآنزیم ها همگی واکنش واحدی را کatalیز می کنند. استفاده از این آنزیم ها در تشخیص های افتراقی در پزشکی نقش دارد. این ترکیبات دارای جرم مولکولی متفاوت هستند و در توالی آمینواسیدهایشان و pH نیز تفاوت دارند بنابراین در الکتروفورز نیز جابجایی آن ها متفاوت است. آنزیم هایی مثل LDH و CK دارای ایزوآنزیم هستند:

آنزیم لاکتات د هیدروژناز (LDH)

(EC=1)

این آنزیم طبق واکنش زیر در تبدیل پیرووات به لاکتات (و برعکس) نقش دارد:



با انجام الکتروفورز یافتند که این آنزیم دارای پنج شکل مولکولی مختلف یا ایزوآنزیم است. هر ایزوآنزیم از چهار رشته تشکیل شده است. زنجیره های پپتیدی موجود در آنزیم ها از دونوع قلبی (H) و ماهیچه ای و کبدی (M) تشکیل شده اند که در نتیجه امکان تشکیل ۵ نوع آنزیم وجود دارد.

زنجیره های پلی پپتیدی M و H از نظر نوع و ردیف اسید های آمینه و بار کلی متفاوت هستند. زنجیره H دارای تعداد بیشتری اسید آمینه اسیدی است بنابراین بار منفی بیشتر نسبت به زنجیره M دارد. هر کدام از این ایزوآنزیم ها در یک سری از سلول ها فعال هستند. بنابراین نشئت هر کدام از این ایزوآنزیم ها به خون میتواند نشان دهنده آسیب به آن قسمت باشد. انواع LDH به قرار زیر می باشد:

۱- LDH₁ یا LDH₁ (H₄): در قلب و گلبول های قرمز زیاد است پس در بیماری های قلبی مانند انفارکتوس قلبی (MI) که همراه با نکروزه شدن تعدادی از سلول های قلبی همراه است) به علت پاره شدن سلول ها، و در شرایط لیز شدن گلبول های قرمز، این مواد به خون نشئت میکنند. (ماده ای به نام تروپونین I هم در اثر MI زیاد می شود)

۲- LDH₂ یا LDH₂ (H₃M): در گلبول های سفید و قرمز زیاد هستند

۳- LDH₃ یا LDH₃ (H₂M₂): در گلبول های سفید زیاد است

۴- LDH₄ یا LDH₄ (HM₃): در گلبول های سفید زیاد است

۵- LDH₅ یا LDH₅ (M₄): در کبد و ماهیچه ها زیاد است و در بیماری های کبدی و ماهیچه ای از جمله هیپاتیت و یا مسمومیت با تترا کلرید کربن (CCl₄) و یرقان (در صورتی که منشا آن تخریب کبدی باشد) به خون نشئت می کند ← در

آزمایشگاه، این نوع LDH را اندازه می گیرند.

* انجام تست LDH باید به موقع و قبل از برگشتن بدن به سیستم عادی خود انجام شود. (میدونم میدونید!!! چیکار کنم خوا جزوه باید کامل باشه!!!) (⊕)

آنزیم CK

(یادتون نمیداد CK چیه؟؟؟! نمیگم!! برگردین ببینین کجا بود!! P:) که دارای دو زیرواحد مغزی (B) و ماهیچه ای (M) میباشد. با توجه به اینکه CK از دو زنجیره پلی پپتیدی تشکیل شده است پس ۳ نوع CK موجود است:

۱- آنزیمی که در مغز است و در آسیب های مغزی و فردی که در کما است، زیاد می شود: CK_1 (BB)

۲- آنزیمی که در عضلات قلبی وجود دارد و در بیماری های قلبی زیاد می شود: CK_2 (MB)

۳- آنزیمی که در عضلات است و در آسیب های کبدی و عضلانی زیاد می شود: CK_3 (MM)

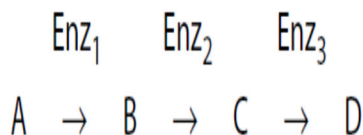
* چون ایزوآنزیم ها در سیتوسل هستند، در اثر تصادفات (trauma) می توانند به بیرون آن سلول نشت کنند.

* برای افرادی با مشکلات قلبی، قطعا تست سنجش آنزیم های LDH و CK، تجویز می شود.

پروآنزیم یا زایموژن (Inactive Enzyme/ Zymogen)

تعدادی از آنزیم ها پس از ساخته شدن به صورت غیر فعال باقی می مانند تا در مواقع لزوم از آنها استفاده شود. آنزیم هایی مانند پپسینوژن در معده (که بعد تبدیل به پپسین میشه) و پروترومبین از این دسته به شمار می آیند. به عنوان مثال اسیدی شدن معده باعث تبدیل پپسینوژن به پپسین و پروترومبین نیز در حضور Ca^{+} تبدیل به ترومبین می شود که در نهایت فیبرینوژن را به فیبرین تبدیل می کند.

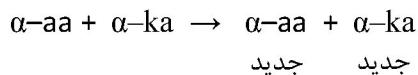
* آنزیم آلوستریک (آنزیم ناظم):



گاهی برای اینکه یک سوبسترا تبدیل به محصول شود واکنش های زنجیره ای متشکل از چند آنزیم اتفاق می افتد. هر ترکیبی در بدن سقف خاصی دارد که اگر از آن مقدار کمتر یا بیشتر شود مشکل زا می شود. بنابراین کنترل تولید مواد در بدن بسیار مهم است. یکی از راه های کنترل تولید مواد کنترل مقدار آنزیم های تولید کننده این مواد است. در یک واکنش زنجیره ای بهتر است که با کنترل مقدار اولین آنزیم مقدار تولید فرآورده را کنترل کنیم تا از تولید مواد اضافی جلوگیری شود. به طور کلی به آنزیم هایی که در یک واکنش چند مرحله ای با کم و زیاد شدنشان تولید محصول را کنترل می کنند و اثر تحریکی یا مهارتی دارند، آلوستریک می گویند. این آنزیم ها معمولا اولین مرحله یک واکنش زنجیری را کنترل کرده و اثر مهارتی دارند.

یادآوری: داروهایی که امروزه برای کاهش کلسترول مورد استفاده قرار می گیرد، استاتین ها هستند که حاوی آنزیم آلوستریک مهار کننده آنزیم HMGCOA ردوکتاز هستند.

واکنش های ترانس آمیناسیون

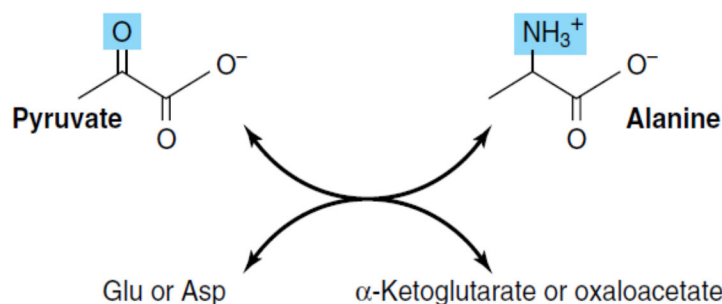
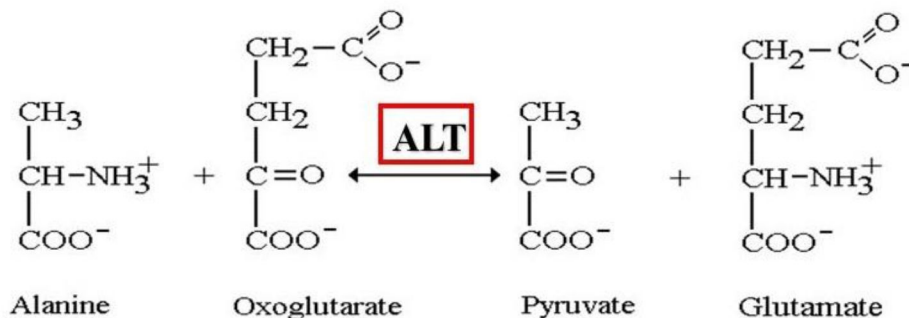
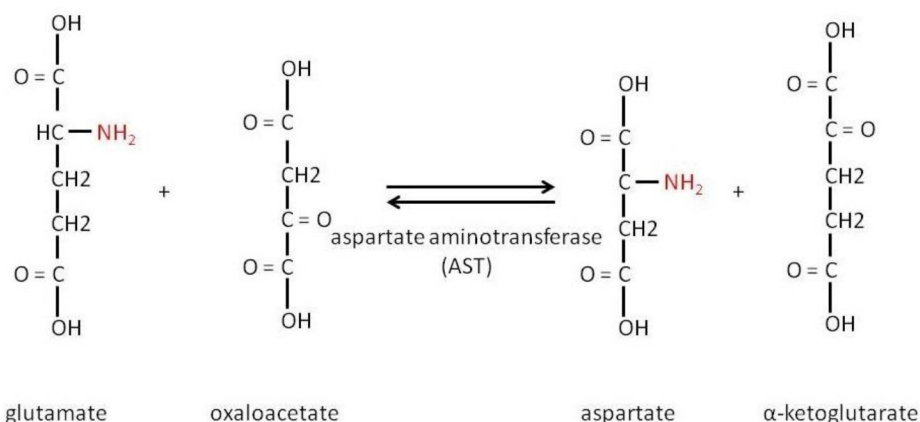


* ساده ترین $\alpha\text{-ka}$ ، پیروویک اسید است.

دو آنزیم دخیل در این گونه واکنش ها:

آسپاراتات آمینو ترانسفراز (AST/SGOT=Serum Glutamate Oxaloacetate Transaminase)

آلانین آمینو ترانسفراز (ALT/SGPT=Serum Glutamate Pyruvate Transaminase)



* واکنش ترانس آمیناسیون برای اسیدهای آمینه غیر ضروری مثل گلوتامات دوطرفه و برگشت پذیر، مثل واکنش های بالا می باشد ولی برای اسیدهای آمینه ضروری یک طرفه بوده و فقط واکنش برگشت آن انجام می شود.

* این آنزیم ها از آنزیم های قلبی و کبدی هستند، پس در گروه LFT ها قرار می گیرند.

* در مشکلات کبدی و قلبی هر دوی آن ها زیاد می شوند ولی مقدار ALT در مشکلات کبدی و مقدار AST در مشکلات قلبی، بیشتر افزایش می یابد.

* اگر نیمه عمر آنزیم ALT کاهش یابد، میفهمیم که درمان اثربخش بوده است.

آنزیم های بالینی:

تست تروپونین-I Troponin-I

مزیت تست تروپونین: بر خلاف سایر تست های کبدی دخیل در تشخیص MI (LDH, CK, AST, ALT)، بلافاصله بعد از سکت قلبی افزایش می یابد و تا مدت بیشتری به همین شکل باقی می ماند.

پس در تشخيص MI، تروپونین نیمه عمر بیشتر و افزایش سریعتری نسبت به سایر تست های کبدی دارد.

تشخیص تست تروپونین:

- کیفی: با تغییر رنگ می سنجند (مثل آنالیز ادرار که با تغییر رنگ نوار ادرار وجود یا عدم وجود ترکیبات مختلف را شناسایی می کنند)

- کمی: با عدد و مقدار می سنجند

آنزیم گاماگلوتامین ترانسفراز (GGT یا γ GT)

* با GTT (تست تحمل گلوکز = glucose tolerance test) که در تشخیص دیابت (دیابت پنهان) کاربرد دارد، متفاوت است.

موارد استفاده آن:

- یک تست کبدی است و مانند آنزیم ALP در انسداد کبدی افزایش می یابد.
- یک تست تشخیصی برای سنجش میزان الکل مصرفی است.

سطح GGT در موارد زیر افزایش می یابد:

- مصرف زیاد الکل
- افرادی که در حال مصرف داروهای آرام بخش (مثل باربیتورات ها، ...) هستند
- افرادی که دچار چاقی مفرط (obesity) هستند

* بنابراین افرادی که سطح GGT آن ها بالاست، الزاما مشکل کبدی ندارند.

به عبارت دیگر، اگر فردی GGT بالایی دارد ولی تست آنزیم های کبدی نرمال است، نمی توان گفت فرد الکل مصرف می کند. بلکه ممکن است افزایش GGT در اثر مصرف باربیتورات ها باشد.

یادآوری: تجویز بیش از حد انسولین به فرد دیابتی، می تواند منجر به شوک انسولین و حتی مرگ او شود.

آنزیم آلکالین فسفاتاز (ALP)

- یک هیدرولاز با کد آنزیمی ۳ و PH ایتیمم ۱۰ است.
- یک متالو آنزیم است بنابراین یون های منبیزیم، منگنز و کبالت فعال کننده آن هستند.
- اهمیت بالینی: بررسی ALP سرم از تست های کبدی است (جزئی از LFT هاست و آزمایش آن، به همراه سنجش ALT و AST توسط پزشک درخواست می شود)
- ۵ نوع ایزوآنزیم دارد که در بافت های استخوانی (bone)، جفت (placenta)، روده (intestine)، کبد (liver)، یافت می شوند. نوع دیگر آن، بدخیم است و به عنوان تومور مارکر محسوب می شود و به آن regan می گویند.
- در شرایط سرطان carcinoma (افزایش نوع بدخیم آن)، شکستگی، ترمیم و بیماری های استخوانی، کودکان در حال رشد، بارداری و بیماری های کبد (مثلا انسدادهای داخل یا خارج کبدی (بیشتر در خود کبد) که منجر به عدم دفع ترشحات کبدی و بیلی روبین گلوکورونه می شود (در یرقان های انسدادی (Obstructive Jaundice))، طحال، کلیه و روده افزایش می یابد.
- هنگام بارداری و یا در کودکان در حال رشد، افزایش آلکالین فسفاتاز طبیعی است.

آنزیم اسید فسفاتاز (ACP)

* هر دو آنزیم های اسید فسفاتاز و آلکالین فسفاتاز (ALP و ACP)، EC: ۳ است ولی به ترتیب در PH اسیدی و بازی فعال هستند.

ACP در بافت های مختلف یافت می شود:

- پروستات ← در این صورت به آن PAP (پروستاتیک اسید فسفاتاز) می گویند ← در فردی که سرطان پروستات دارد افزایش می یابد.
 - گلبول قرمز
 - پلاکت ها
 - کبد
 - طحال
 - مغز استخوان
- * PAP، تومور مارکر خوبی نیست زیرا تنها ۳۷٪، organ specific است و به علت وجود در بافت های دیگر، علاوه بر افزایش در سرطان پروستات، در Leukemia و Breast Cancer نیز، افزایش می یابد.
- * افزایش PAP را فقط در آقایان نداریم. بلکه افزایش آن، همان طور که گفته شد، به علت وجود آن در بافت های دیگر، در خانم ها نیز دیده می شود.
- * در آقایانی که PAP افزایش داشته است، برای بررسی دقیق تر شرایط، به بررسی سطح PSA می پردازند زیرا organ specificity آن ۹۸٪ است.
- * سنجش PAP در پزشکی قانونی، اگر فردی مورد خشونت جنسی قرار گرفته باشد کاربرد دارد.

آمیلاز

- هم در پلاسما و هم در ادرار یافت می شود.
- **یادآوری:** دو نوع آمیلاز داریم: P-Amylase و S-Amylase
- فعالیت آمیلاز، نیازمند وجود یون Cl^- (و همچنین Br^- و NO_3^-) است. بنابراین، با بررسی سطح آمونیوم کلرید در آزمایشگاه، میزان فعالیت آن را بررسی می کنند.
- در اوریون (بزرگ شدن غدد بزاقی در کودکان)، التهاب پانکراس (پانکراتیت) و تومور در پانکراس، آمیلاز افزایش می یابد.
- * **اوریون در مان قاصی ندارد.**
- * **در یک فرد سالم، آنزیم های تریپسین، کیموتریپسین و الاستاز در پانکراس غیر فعال (تریپسینوژن، کیموتریپسینوژن، پروالاستاز) هستند. در صورتی که این آنزیم ها در پانکراس فعال شوند، فرد دچار پانکراتیت می شود.**
- پانکراتیت در بزرگسالان درر شکمی شدری را به همراه دارد.**
- انسداد مجاری ادراری و پانکراس، احتمال پانکراتیت را افزایش می دهد و آمیلاز سرم زیار می شود.**

کاتپسین ها

- بعد از حیات فعال می شوند. یعنی اگر جسد و بافتی را در یک محیط استریل و دور از هجوم باکتری ها قرار دهیم، کاتپسین ها فعال می شوند. طی فعالیت آن ها، ساختار های پروتئینی بدن (مانند مو، ناخن، ...) تجزیه می شوند. به همین دلیل است که پس از مدتی، جسد حالت خمیری پیدا می کند.
- گاهی بعد از حیات هم می توانند فعال شوند که باعث لاغری مفرط می شود.
- * **در سالن تشریح، با متوقف کردن فعالیت کاتپسین ها، از تجزیه شدن جسد جلوگیری می کنند.**
- * **الکل هم محیط را ضد عفونی می کند و هم فعالیت کاتپسین ها را مهار می کند.**

کیموتریپسین

- * گاهی ممکن است یک سوبسترا، آنزیم های متفاوتی داشته باشد. مثلا هر دو آنزیم کیموتریپسین و الاستاز، بر روی پروتئین فعالیت می کنند ولی محصول آن ها متفاوت است.
- * **تریپسین:** پیوند های پپتیدی حاصل از گروه های کربوکسیل اسید های آمینه K و R را می شکند.
- * **کیموتریپسین:** پیوند های پپتیدی حاصل از گروه های کربوکسیل اسید های آمینه F، Y، W را می شکند.
- * **الاستاز:** پیوند های پپتیدی حاصل از گروه های کربوکسیل اسید های آمینه کوچک مثل G و S را می شکند.

مثال: از تاثیر آنزیم های تریپسین و کیموتریپسین بر تتراپپتید روبرو، اجزای حاصل کدام اند؟ Ala-Phe-Arg-Cys

کیموتریپسین ← آرژینیل سیستئین و آلانیل فنیل آلانین

تریپسین ← آلانیل فنیل آلانین آرژینین

* جمع بندی: LFTs (تست های سنش عملگر کبیری):

AST -

ALT -

LDH -

ALP -

GGT یا γ GT -

آلبومین:

اگر کبیر دچار مشکل شود، سافت آلبومین نیز با مشکل مواجه می شود \Rightarrow \downarrow آلبومین \leftarrow مشکل کبیری

زردی: -

در انسدادهای کبیری \leftarrow پیلوی روبین \uparrow \leftarrow زردی (Obstructive Jaundice)

* ۴ آنزیم کلیوی در تشفیص MI نقش دارند: ALT, AST, CK, LDH

" ای مالک اگر شب هنگام کسی را در حال گناه دیدی، صبح او را به دید گناهکار منگر.

شاید سحرگاه توبه کرده باشد و تواز آن بی خبر باشی! "

امام علی (ع)

کمیته علمی بهمن ۹۱

ویرایش نهایی: دیانا رابوکی، فاطمه برومند

نویسنده: محمد مهدی مصباح

گروه نویسندگان:

آقایان: محمد مهدی مصباح، محمد حسین پیله چیان

خانم ها: دیانا رابوکی، فاطمه برومند، حدیث نصیری

کمیته علمی مهر ۹۴

محمد امین بیات ترک، محسن صابری فر، رویا معلم

و با تشکر از:

بهرخ رضانی مقدم (ورودی بهمن ۹۴)

