Journal of Ardabil University of Medical Sciences

Vol. 24, No. 1, Spring 2024, Pages: 7-18

Review article

A Brief View on the Role of Enzymes in the Diagnosis, Monitoring and Treatment of Diseases and their Application in Medical, Genetics and Proteomics Laboratory Methods

Kamaloddin Hamidi Nokhostin

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
**** Corresponding author.*** Tel: +984531505189, Fax: +984531514702, E-mail: K_hamidi@uma.ac.ir

Article info

Article history:
Received: Mar 30, 2024
Accepted: Jun 18, 2024

Keywords:
Biotechnology
Enzyme
Genetics
Medicine
Proteomics

ABSTRACT

Enzymes have been used experimentally in the preparation of fermented, food, and medicinal products since mankind started a regular life in the form of early civilizations, without any information about their nature being available. It has been more than a century since scientists have obtained information about the enzymatic reactions and the enzyme structure, and a newer and more practical attitude towards them is obtained day by day. Today, these proteins play roles as biomarkers in the diagnosis, monitoring and treatment of diseases .Enzymes roles as receptor for some hormones and their qualitative and quantitative changes interfering in the onset of some diseases such as diabetes have been known. In addition, they are used as accurate and specific tools in the assay of some biochemical analytes, phenotypic identification of bacteria and biosensor design. The basis of the mechanism of some drugs is enzyme inhibition. Meanwhile, some enzymes are directly used as drugs. The enzymes are applied in some immunoassay techniques, genetics and proteomics laboratory methods. In modern biotechnology, enzymes are used to produce plenty of products. This review article aimed to take a new, updated and comprehensive approach to several roles that enzymes play in various fields from diagnosis, monitoring and treatment of diseases to their application in medical, genetics and proteomics laboratory methods.

How to cite this article: Hamidi Nokhostin K. A Brief View on the Role of Enzymes in the Diagnosis, Monitoring and Treatment of Diseases and their Application in Medical, Genetics and Proteomics Laboratory Methods. J Ardabil Univ Med Sci. 2024;24(1):7-18.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License.

Extended Abstract

Enzymes have been used experimentally in the preparation of fermented, food, and medicinal products since mankind started a regular life in the form of early civilizations, without any information about their nature being available. It has been more than a century since scientists have obtained information about the enzymatic reactions and the enzyme structure, and a newer and more practical attitude towards them is obtained day by day. This review article has focused on the different roles and applications of these proteins. The enzymes play roles as follows:

Enzymes as biomarkers in the diagnosis, monitoring and treatment of diseases: The diagnosis of some genetic diseases such as glucose -6- phosphate dehydrogenase (G_6DH) deficiency is based on the assay of G_6DH activity inside the RBCs. Meanwhile, the assay of enzymes and isoenzymes activities specifically can determine the tissue injury or inflammation. CPK, ALT and AST activity assays are examples to indicate these roles of enzymes. Their activity assays enable us to monitor the disease stage and the recovery phase as well.

Enzymes used directly as drugs: Pancreatin is a drug to be used in the treatment of some digestive diseases. The pills include lipase, protease and amylase. Enzyme replacement therapy (ERT) using enzymes which are genetically deficient in metabolic diseases such as Gaucher disease and PKU is promising in the treatment of metabolic diseases. Meanwhile, abzymes or catalytic antibodies are other methods used in the treatment of diseases.

Enzyme inhibition and the mechanism of some drugs: Enzyme inhibition is the basis of the design of some drugs. This inhibition is reversible or irreversible. Aspirin, ibuprofen, statins, captopril, sulfonamides, and some antibiotics are examples of inhibiting COX -2, HMG- Co A reductase, ACE enzymes and so on. Tyrosine kinase receptor inhibitors are drugs to treat some cancers. For example, imatinib belonging to the aforementioned group is used to treat leukemia (CML).

Enzymes and phenotypic identification of bacteria: Enzymes such as catalase, coagulase and lysine decarboxylase and etc are used in the bacteriology laboratory to identify the bacteria.

Enzymes and biosensors: Point of care testing (POCT) or near- patient testing is a branch of analytical tests are carried out in the presence of a patient using portable devices, In amperometric biosensors such as glucometer and lactate biosensor, enzymes are used. G_6DH as an enzyme and PQQ as a coenzyme are designed to measure the concentration of glucose in the blood. Meanwhile, lactate dehydrogenase and lactate oxidase are enzymes used to measure the level of lactate in blood.

Enzymes and medical laboratory: Enzymes are used as accurate and specific tools in the assay of some biochemical analytes. Glucose oxidase, cholesterol esterase, and uricase are used to measure the concentration of glucose, cholesterol and uric acid concentrations respectively. The enzymes are applied in some immunoassay techniques. HRP and alkaline phosphatase are enzymes applied in the ELISA method to determine the concentration of hormones, antigens, antibodies and tumor markers.

Enzymes and cell culture laboratory: After the culture of cells either normal or cancer, trypsin breaks down the proteins that enable the cells to adhere to the vessel.

Enzymes and genetic laboratory: Restriction enzymes like *Eco R I* are used in DNA profiling or DNA fingerprinting. Taq DNA polymerase used in the PCR technique and pFU DNA polymerase applied in the site-directed mutagenesis method are other examples of the enzymes.

Enzymes and proteomics methods: The Edman degradation method is a valuable technique for determining the amino acid sequence in proteins and peptides. The method identifies amino acid residues one by one from the N-terminal side. Trypsin and chymotrypsin are used to cleave the peptide bonds and separate amino acids. In addition,

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

by using thrombin we can remove His- tag from the recombinant protein.

Enzymes and cell signaling: Enzymes roles as receptors for some hormones and their qualitative and quantitative changes interfering in the onset of some diseases such as diabetes have been known. Some enzymes such as protein G, adenylate cyclase, phospholipase C, protein kinases and MAPK family enzymes play important roles in cell signaling.

Biotechnology and production of applied enzymes: In modern biotechnology, not only enzymes are used to produce plenty of products, but also they are produced as products to use in medicine and industry. Lactase, collagenase, protease and lipase as products of biotechnology have different applications in the medicine, pharmaceutical and food industries.

This review article aimed to take a new, updated and comprehensive approach to several roles that enzymes play in various fields from the diagnosis, monitoring and treatment of diseases to their application in medical, genetics and proteomics laboratory methods and biotechnology.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

مجله دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دوره بیست و چهارم، شماره اول، بهار ۱۴۰۳

مقاله مروری

نگاهی گذرا به نقش آنزیم‌ها در تشخیص، پایش و درمان بیماری‌ها و کاربرد آن‌ها در روش‌های آزمایشگاهی پزشکی، ژنتیک و پروتئومیکس

کمال الدین حمیدی نخستین

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

* نویسنده مسئول. تلفن: ۰۴۵۳۱۵۰۵۱۸۹ فاکس: ۰۴۵۳۱۵۱۴۷۰۲ پست الکترونیک: K_hamidi@uma.ac.ir

چکیده

از زمانی که بشر زندگی منظمی را در قالب پیدایش تمدن‌های اولیه شروع کرد، آنزیم‌ها در تهیه فرآورده‌های تخمیری، غذایی و دارویی بصورت تجربی استفاده می‌شدند، بدون آنکه اطلاعاتی از ماهیت آن‌ها در دسترس باشد. بیش از یک قرن است که اطلاعاتی از واکنش‌های انجام یافته و ساختمان پروتئینی آنزیم‌ها توسط دانشمندان بدست آمده و روز بروز نگرشی جدیدتر و کاربردی‌تر نسبت به این مولکول‌ها بدست می‌آید. این پروتئین‌ها امروزه به عنوان بیومارکر در تشخیص، پایش و درمان بیماری‌ها نقش دارند. نقش آنزیم‌ها به عنوان گیرنده برخی هورمون‌ها و تغییرات کیفی و کمی آن‌ها در بروز برخی بیماری‌ها مانند دیابت قندی شناخته شده است. علاوه بر این آنزیم‌ها به عنوان ابزارهای دقیق و اختصاصی در اندازه‌گیری مستقیم آنالیت‌های بیوشیمیایی، شناسایی فنوتیپ باکتری‌ها، طراحی بیوسنسورها مورد استفاده قرار می‌گیرند. اساس مکانیسم برخی داروها مهار آنزیمی بوده و حتی برخی آنزیم‌ها مستقیما به عنوان دارو کاربرد دارند. در برخی تکنیک‌های ایمونواسی، روش‌های آزمایشگاهی ژنتیک و پروتئومیکس، آنزیم‌ها نقش ارزنده‌ای را ایفا می‌کنند. در زیست فن‌آوری جدید به کمک آنزیم‌ها فرآورده‌های فراوانی تولید و مورد استفاده قرار می‌گیرد. هدف این مقاله مروری، نگاهی به روز و فراگیر به نقش‌های متعدد آنزیم‌ها در زمینه‌های مختلف از تشخیص، پایش و درمان بیماری‌ها تا کاربرد آن‌ها در روش‌های آزمایشگاهی پزشکی، ژنتیک و پروتئومیکس و زیست فن‌آوری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پروتئومیکس، پزشکی، زیست فن‌آوری، ژنتیک

دریافت: ۱۴۰۳/۱/۱۱ **پذیرش:** ۱۴۰۳/۳/۲۹

مقدمه

اگر چه بیش از یک قرن از کشف نقش آنزیم‌ها (که در اوایل عمدتاً در رابطه با تخمیر و فرمانتاسیون میکروبی) بود می‌گذرد ولی نقش این پروتئین‌ها در سال‌های اخیر روز بروز بیشتر نمایان می‌شود. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها در تکنیک‌های آزمایشگاهی پزشکی جهت تشخیص، پایش و درمان بیماری‌ها کاربرد دارد. علاوه بر این آنزیم‌ها به عنوان ابزارهای کمکی در روش‌های آزمایشگاهی تشخیص پزشکی در رابطه با سنجش آنالیت‌های بیوشیمی، ژنتیک و پروتئومیکس نیز استفاده می‌شوند. همچنین تولید خود آنزیم‌ها و محصولات دیگر در زیست فن‌آوری (بیوتکنولوژی) پنجره جدیدی را به اهمیت این مولکول‌های زیستی گشوده است. در این مقاله

این مقاله تحت شرایط Creative Commons Attribution-Non Commercial 4.0 International License قابل بازنشر است.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

سعی شده تا به نقش‌های متعددی که آنزیم‌ها در زمینه‌های مختلف از تشخیص، پایش و درمان بیماری‌ها تا کاربرد آن‌ها در روش‌های آزمایشگاهی پزشکی، ژنتیک و پروتئومیکس و زیست فن‌آوری بر عهده دارند، توجه گردیده و جمع‌بندی اطلاعات صورت پذیرد. از این‌رو حتی الامکان دانسته‌های مرتبط با آنزیم از دیدگاه‌های مختلف از سال ۱۹۸۰ تا سال ۲۰۲٤ از بانک‌های اطلاعاتی پاب‌مد، وب آو ساینس، گوگل اسکالر و کتب مرجع جمع‌آوری و ضمن در نظر گرفتن سیر زمانی شناخت آنزیم در قالب این مقاله مروری ارائه می‌شود.

نقش اختصاصی این پروتئین‌ها در قسمت‌های مختلف به شرح ذیل بررسی می‌گردد.

آنزیم ها و تشخیص و پایش بیماری‌ها

آنزیم‌ها نقش مهمی به عنوان نشانگر زیستی[1] در تشخیص و پایش بیماری‌ها ایفا می‌کنند. سال‌هاست که در بیوشیمی بالینی بر این باوریم که در یک سلول سالم، بر اساس توزیع بافتی آنزیم‌ها بخصوص بشکل ایزوآنزیم، همواره مقدار اندکی از آنزیم به محیط خارج تبادل گشته و لذا در شرایط طبیعی بدن، ما شاهد فعالیت معینی از آنزیم در سرم و مایعات بیولوژیکی بدن هستیم که عملکرد درست آن بافت را نشان می‌دهد. ولی در شرایط بیماری، التهاب، آسیب و نکروز بافتی این نشت و تراوش بیشتر شده و لذا فعالیت آنزیم در سرم و مایعات دیگر افزایش یافته که شاخصی از عملکرد غیرطبیعی آن بافت یا اندام است [۱]. نمونه‌ای از این آنزیم‌ها عبارتند ا ز لاکتات دهیدروژناز (LDH)، کراتین فسفوکیناز (CPK)، آلانین ترانس آمیناز (ALT)، آسپارتات ترانس آمیناز (AST)، آلکالن فسفاتاز (ALP) و... که به ترتیب شاخصی از عملکرد بافت‌های قلب، عضله، کبد و... می‌باشند. این اندازه‌گیری افزایش فعالیت نه تنها در تشخیص بیماری‌ها بلکه در پایش و بررسی بیماری به پزشکان کمکی شایان می‌کند. زمانی که با افزایش آنزیم اختصاصی یک بافت، تشخیص بیماری داده می‌شود و درمانی انجام می‌گردد، در صورت موثر بودن تدابیر درمانی، فعالیت آنزیم مربوطه به محدوده نرمال کاهش یافته و شرایط بالینی بیمار هم به حالت طبیعی بر می‌گردد. در برخی از موارد به جای افزایش فعالیت آنزیم شاهد کاهش میزان تراوش و نشت آن در محدوده نرمال از یک بافت یا اندام هستیم. کاهش میزان تراوش و یا نبود آن نشان دهنده کاسته شدن یا نابودی سلول‌های حاوی آن آنزیم هست به عبارت دیگر سلول سالمی یافت نمی‌شود که همان مقدار طبیعی آنزیم را بداخل خون نشت نماید که نمونه آن کاهش فعالیت آنزیم ALT در سیروز کبدی است. علی رغم اینکه هپاتیت موجب افزایش اولیه فعالیت آنزیم‌های ALT و AST می‌شود ولی در اثر مزمن شدن بیماری و زمینه‌هایی که موجب فیبروز و سیروز کبدی می‌گردد بدلیل کاهش سلول‌های سالم افزایش آنزیم ALT کمتر می‌باشد و کلیرانس AST نیز کاهش یافته و در نتیجه نسبت AST/ ALT یا AAR بزرگتر از ۱ خواهد بود [۲].

علاوه بر این مطالعه فعالیت و یا کاهش فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز (G_6PD) در داخل گلبول‌های قرمز در تشخیص کم خونی‌های ژنتیکی مانند فاویسم بسیار ارزشمند می‌باشد [۳].

در اندازه‌گیری فعالیت برخی آنزیم‌ها مانند CPK، اتصال آنتی‌بادی مخصوصاً IgG می‌تواند ماکرو آنزیم‌هایی مانند ماکرو کراتین کیناز (macro-CPK) تولید کند که می‌تواند تداخل‌هایی در سنجش فعالیت آنزیم ایجاد نماید. علاوه بر این در برخی موارد امکان ارتباط بین حضور ماکرو آنزیم‌ها و برخی بیماری‌های خود ایمن و... هم وجود دارد [٤].

گستره استفاده از آنزیم‌ها و پاسخ سیستم ایمنی بدن به این مولکول‌ها در سال‌های اخیر در تشخیص بیماری‌هایی مانند سلیاک با استفاده از آنتی‌بادی ضد آنزیم گلوتامیناز بافتی Anti-TGG [۵] و نارسایی‌های

[1] Biomarker

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

تیروئید با سنجش آنتی‌بادی ضد آنزیم پراکسیداز تیروئید Anti-TPO [۶] کمک‌کننده بوده است.

با توجه به نقش آنزیم‌های خانواده مپ‌کیناز[1](MAPK) و ارتباط برخی از اجزای این خانواده با برخی از انواع انکوژن‌های بیش از حد بیان یافته و یا جهش یافته مانند ras، raf و src، اندازه‌گیری میزان مپ‌کیناز در برخی کتاب‌های آزمایشگاهی مطرح گردیده و کیت‌هایی بر اساس روش‌های الایزا، وسترن بلات و... طراحی شده‌اند تا میزان این آنزیم در نمونه‌های مختلف مانند سرم، پلاسما، ادرار، عصاره‌های بیوپسی و بافت‌های تازه و فریزشده سنجش گردد [۹-۷].

امروزه در ارتباط با آپوپتوز، آنزیم‌های کاسپاز هم مطرح هستند که با روش‌های ایمونواسی میزان آن‌ها و با روش‌های کالریمتری فعالیت آن‌ها قابل سنجش [۱۲-۱۰] می‌باشد. علاوه بر این، در بحث تشخیص سرطان، آنزیم‌ها به عنوان نشانگر تومور هم مطرح بوده بطوریکه اندازه‌گیری فعالیت LDH در سرم و مایعات بدن در تشخیص حالات نئوپلاستیک مانند دیس ژرمینومای تخمدان، سمینوم بیضه، لوسمی و سایر تومورهای سلول زایا کمک‌کننده است [۱۳]. همچنین سنجش فعالیت آمیلاز سرم در تشخیص نئوپلاسم‌های پانکراسی یا مجاور آن و نیز آدنوکارسینومای ریه مفید می‌باشد [۱۴]. از سوی دیگر با توجه به اینکه PSA نوعی آنزیم سرین پروتئازی است ولی امروزه به عنوان دقیق‌ترین و مفیدترین نشانگر برای تشخیص آدنوکارسینوم پروستات بکار می‌رود [۱۵].

آنزیم‌ها و نقش آن‌ها بعنوان دارو در درمان بیماری‌ها

استرپتوکیناز دارویی است که ماهیت آنزیمی داشته و در حل لخته‌ها، رفع ترومبوز و عوارض آن نقش بسیار مهمی دارد. اوروکیناز و آنزیم نوترکیب فعال کننده پلاسمینوژن بافتی (rtPA)[2] نمونه‌های دیگر از آنزیم‌های کمک‌کننده به حل لخته هستند [۱۶]. علاوه بر این قرص پانکراتین و یا دایجستیو هر دو دارای سه آنزیم گوارشی آمیلاز، لیپاز و پروتئاز هستند که در رفع مشکلات هاضمه و نفخ نقش مهمی را ایفا می‌کنند. آسپارژیناز، پاپائین واسترپتودرناز مثال‌های دیگری از آنزیم‌هایی هستند که بعنوان دارو نقش دارند [۱۷].

در درمان بیماری‌های متابولیک مانند گوشه، فنیل کتونوری و... تجویز آنزیم‌هایی که نقص آن‌ها در این بیماری‌ها مشهود است فصل جدیدی را در درمان این بیماری‌ها گشوده است [۱۸]. علاوه بر این با کشف آبزیم‌ها[3] یا Catalytic Antibodies در اواخر دهه ۱۹۸۰ که بصورت طبیعی و سنتتیک وجود دارند حرکت‌هایی در جهت استفاده از آن‌ها به عنوان دارو گزارش شده است [۱۹].

آنزیم‌ها و طراحی داروها بعنوان مهارکننده آن‌ها در درمان بیماری‌ها

داروها از سال‌ها پیش بعنوان مهارکننده‌های آنزیم‌ها (رقابتی و غیر رقابتی و نیز برگشت ناپذیر) استفاده می‌شوند. زیرا محصولات این آنزیم‌ها در شرایط بیماری بهتر است کنترل گردند. مانند جلوگیری از ساخته شدن اسید فولیک باکتری‌ها توسط سولفونامیدها و رقابت آن با پارا آمینوبنزوئیک اسید (PABA) برای چسبیدن به جایگاه فعال آنزیم سازنده اسید فولیک باکتری و ممانعت از همانند سازی آن‌ها و یا مهار برگشت ناپذیر آنزیم ترانس پپتیداز دیواره سلولی باکتری‌ها توسط آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین، مهار آنزیم هیپوگزانتین اکسیداز توسط آلوپورینول و کاهش غلظت اسید اوریک خون، مهار آنزیم تبدیل‌کننده آنژیوتانسینوژن (ACE) توسط کاپتوپریل، انالاپریل، لیزینوپریل و فوزینوپریل و کم شدن فشار خون، مهار آنزیم سیکلواکسیژناز (COX-2) توسط آسپیرین و ایبوپروفن و جلوگیری از تولید سیتوکین‌های تولید کننده درد و چسبیدن پلاکت‌ها، مهار آنزیم HMG-CoA ردوکتاز بوسیله

[1] Mitogen Activated Protein Kinase
[2] Recombinant Tissue Plasminogen Activator
[3] Abzymes

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

لوواستاتین[1]، آتورواستاتین[2] و روزواستاتین[3] و کاهش غلظت کلسترول خون، مهار آنزیم آلفا گلوکوزیداز توسط آکاربوز[4] برای جلوگیری از جذب کربوهیدرات‌ها از روده باریک در درمان دیابت [۲۵-۲۰].

مهارکننده گیرنده تیروزین کیناز مانند داروی Imatinib و مهارکننده آنزیم DNA متیل ترانسفراز مانند 5- azadeoxycytidine نقش‌های مهمی را در درمان کانسرهایی مانند لوسمی مزمن میلوسیتی(CML)، لوسمی و لنفوم بر عهده دارند [۲۷،۲۶].

علاوه بر این الگوی مهار رقابتی آنزیم‌ها در پزشکی اورژانس راهی است که پزشکان را قادر می‌سازد تا در زمان مسمومیت با الکل متیلیک و اتیلن گلیکول بتوانند با دادن الکل اتیلیک از راه گوارشی و یا پارانترال و مطابق شباهت ساختمانی این ماده با مواد مسمومیت‌زای فوق برای چسبیدن به جایگاه فعال آنزیم الکل دهیدروژناز کبدی جان بیماران را نجات دهند [۲۹،۲۸].

آنزیم‌ها و شناسایی باکتری‌ها

آنزیم‌ها در آزمایشگاه باکتری‌شناسی در تشخیص هویت باکتری‌ها از دهه‌ها پیش از جایگاه ویژه‌ای برخور دارند. نمونه‌ای از آن‌ها شناسایی اولیه باکتری‌ها بر مبنای تست کاتالاز است بطوریکه باکتری‌هایی که بتوانند محلول ۳ درصد پراکسید هیدروژن را به آب و اکسیژن تبدیل کنند به عنوان کاتالاز مثبت شناسایی می‌گردند. از طرف دیگر آنزیم‌هایی مانند اکسیداز، کواگولاز،DNA آز، لیزین دکربوکسیلاز و تریپتوفان دامیناز، فنیل آلانین دامیناز و ... در تشخیص‌های بیوشیمیایی و فنوتیپی باکتری‌ها نقش مهمی را ایفا می‌کنند. امروزه بصورت روتین از ۱٤ مورد آنزیم برای شناسایی باکتری‌ها استفاده می‌شود [۳۰].

آنزیم‌ها و بیوسنسورها

در پزشکی شاخه‌ای تحت عنوان آزمایش تشخیصی در بالین بیمار[5] (POCT) وجود دارد که بر بالین بیمار برخی از آزمایش‌های اولیه و گاهی غربالی انجام می‌پذیرد. در این رابطه بیوسنسورها نقش مهمی را ایفا می‌کنند. مانند اندازه‌گیری گلوکز خون مویرگی توسط گلوکومتر بر اساس استفاده از آنزیم گلوکز ۶ فسفات دهیدروژناز و کوانزیم پیرو لو کوینولین کینون (PQQ) که بروش تولید الکترون و آمپرومتری توسط قسمت پردازشگر دستگاه، مقدار گلوکز قابل اندازه‌گیری است. نمونه‌ای دیگر بیوسنسور اندازه‌گیری لاکتات در خون مویرگی است که در تربیت بدنی و طب ورزشی کاربرد دارد و در آن از آنزیم لاکتات اکسیداز و یا لاکتات دهیدروژناز و روش آمپرومتری استفاده می‌شود [۳۱].

آنزیم‌ها و آزمایشگاه تشخیص پزشکی

در دو دهه اخیر، از آنزیم‌های گلوکز اکسیداز، کلسترول استراز، لیپاز، اوریکاز و اوره آز به ترتیب برای اندازه‌گیری اختصاصی برخی آنالیت‌ها مانند گلوکز، کلسترول، تری گلیسرید، اسید اوریک و اوره استفاده می‌شود. این آنزیم‌ها نه تنها موجب سنجش اختصاصی و دقیق این مواد می‌شوند (با جلوگیری از تاثیر مواد مشابه که واکنش متقاطع با ماده مورد نظر در روش‌های شیمیایی اندازه‌گیری این مواد در گذشته می‌دادند) بلکه موجب تعریف دقیق‌تر دامنه طبیعی و مرز بیماری گردیده‌اند بطوریکه در حدود ۲۰ سال قبل غلظت گلوکز ناشتای بالاتر از ۱٤۰ میلی‌گرم در دسی لیتر را معیار دیابت می‌دانستند ولی امروزه ۱۲۶ میلی‌گرم در دسی‌لیتر مد نظر گرفته می‌شود. به عبارت دیگر، یکی از دلایل بر تغییر این عدد cut-off، امکان اندازه‌گیری گلوکز توسط

[1] Lovastatin
[2] Atorvastatin
[3] Rosuvastatin
[4] Acarbose
[5] Point of Care Testing (Near Patient Testing)

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

روش آنزیمی است که آنزیم گلوکز اکسیداز در جایگاه فعال خود فقط گلوکز را می‌شناسد در حالی‌که در روش‌های شیمیایی علاوه بر گلوکز، قندهای دیگر در خون هم بدلیل غیر اختصاصی بودن روش، سنجش می‌شد. مزیت دیگر روش اندازه‌گیری گلوکز با آنزیم اختصاصی این است که زودتر و در مراحل اولیه می‌توان دیابت را شناسایی کرد که از نظر طب پیشگیری و اپیدمیولوژی حائز اهمیت است. با این دید، حتی در مورد کلسترول هم که تا سال‌ها قبل دامنه طبیعی را زیر ۲۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر تعریف می‌کردند امروزه به زیر ۱۷۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر کاهش یافته است [۳۲].

در تست‌های نواری راپید مانند اندازه‌گیری قند ادرار بجای استفاده از روش شیمیایی فهلینگ یا بندیکت که تمام قندها در ادرار را بر اساس خاصیت احیا کنندگی مشخص می‌کردند، امروزه بر اساس تلفیق اثر گلوکز اکسیداز- پراکسیداز و ماده رنگزا Glucose Oxidase- Peroxidase Chromogen اندازه‌گیری انجام می‌پذیرد[1].

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم می‌تواند برآوردی از مقدار و وضعیت برخی ویتامین‌ها مانند ویتامین B_1 یا تیامین باشد. با توجه به اینکه ویتامین B_1 کوآنزیم آنزیم ترانس‌کتولاز می‌باشد، از این‌رو اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در گلبول‌های قرمز (ETKA)[2] برآوردی غیر مستقیم از غلظت این ویتامین در بدن خواهد بود [۳۳].

آنزیم‌ها در روش ایمونواسی هم بکار گرفته می‌شوند. هم کشف تولید آنتی‌بادی‌های اختصاصی مونوکلونال و پلی‌کلونال و الصاق آنزیم‌هایی مانند HRP[3]، آلکالن فسفاتاز و بتا گالاکتوزیداز به ناحیه Fc آنتی‌بادی‌ها پهنه جدیدی را از دهه ۱۹۸۰ به عنوان روش ELISA گشوده است [۳۵،۳۴].

[1] Combi-screen Plus. Analyticon Biotechnologies AG Leaflet
[2] Erythrocyte Transketolase Activity
[3] Horse Raddish Peroxidase

آنزیم‌ها و آزمایشگاه کشت سلولی

در کشت سلولی در فلاسک‌های کشت و بعد از رشد سلول‌ها چه طبیعی و چه سرطانی از آنزیم تریپسین جهت هضم ارتباطات سلولی و شناورساختن سلول‌ها در فلاسک استفاده می‌کنند بطوریکه اصطلاح تریپسینه کردن در کشت سلولی رایج است [۳۶].

آنزیم‌ها و آزمایشگاه ژنتیک

انگشت نگاری DNA[4] که به DNA profiling هم مشهور است تکنیکی هست که در آن از آنزیم‌های اندونوکلئاز محدود الاثر[5] مانند *EcoR I* که از باکتری‌ها استخراج می‌گردند برای بریدن Junk DNA استفاده می‌شود. بر اساس تفاوت افراد در توالی‌های برشی قطعات متفاوتی از آن‌ها ایجاد می‌شود که بعد از الکتروفورز، الگوی هویتی منحصر بفردی را برای انسان‌ها ایجاد می‌کند. از این‌رو این تکنیک در بحث تعیین هویت والدین و در پزشکی قانونی برای شناسایی هویت افراد مجرم از روی باقیمانده آثار آن‌ها کاربرد دارد [۳۷].

آنزیم‌های اندونوکلئاز محدودالاثر مانند *Not* I و *Nde* I در عمل بریدن ژن[6] بکار گرفته می‌شوند. در الصاق ژن[7]، T_4 DNA ligase U برای ورود ژن به داخل پلاسمیدها استفاده می‌گردد. از این‌رو این آنزیم‌ها اهمیت زیادی در عمل کلونینگ و بیان ژن[8] دارند.

در تکنیک PCR، آنزیم‌های گرمادوست یا ترموفیل مانند *Taq* DNA polymerase بدلیل تحمل گرمای بالای ۹۰ درجه سانتی‌گراد و عدم دناتوره شدن در این دما، نقش مهمی را در تکثیر ژن ایفا می‌کنند.

آنزیم pfU Turbo DNA polymerase که قدرت ویرایش خطاها را در همانندسازی DNA دارد در تکنیک Site-directed Mutagenesis بکار می‌رود.

[4] DNA Fingerprinting
[5] Restriction Endonucleases
[6] Digestion
[7] Ligation
[8] Expression

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

همچنین در این تکنیک، آنزیم *Dpn* I در واکنش PCR برای بریدن و هضم محصولات DNA متیله مادری غیرجهش‌یافته برای جدا سازی از DNA سنتز شده حاوی جهش استفاده می‌شود.

از موارد دیگر نقش آنزیم‌ها در آزمایش‌های مولکولی و ژنتیکی می‌توان به آزمایش IPTG و X-gal اشاره نمود. در این آزمایش اثر IPTG در بیان آنزیم گالاکتوزیداز و اثر این آنزیم بر روی X-gal و تو لید کلنی‌های رنگی یا بیرنگ در محیط کشت مربوطه نشانه‌ای از ادغام ژن در پلاسمید می‌باشد [۳۸].

در تکنیک q-PCR یا RT-PCR,ژن مرجع آنزیم گلیسرالدئید ۳- فسفات دهیدرو ژناز (GAPDH)[1] برای تعیین میزان بیان یا حضور یک ژن از نرمالیزاسیون محصول PCR به عنوان کنترل استفاده می‌شود. ژن مرجع مورد استفاده باید دارای کپی‌های یکسان در آن رده سلولی بوده و بیان آن تحت تأثیر درمان قرار نگیرد. از نسبت سیکل آستانه ژن مورد نظر با ژن GAPDH به عنوان ژن Housekeeping میزان بیان نسبی به دست می‌آید [۳۹].

آنزیم‌ها و روش‌های پروتئومیکس

برای تعیین توالی اسیدهای امینه رشته‌های پروتئینی بروش ادمن[2] نیاز به بریدن پروتئین با آنزیم‌های پروتئاز مانند تریپسین و کیموتریپسین هست که این روش توسط آنزیم‌های مذکور انجام می‌گیرد و قطعات کوتاهتر راحت‌تر توالی یابی می‌گردند. همچنین برای برداشتن هگزاپپتید (His-tag) متصل به پروتئین نوترکیب بعد از بیان و خالص‌سازی، از آنزیم ترومبین استفاده می‌کنند تا اختلال در تا خوردگی یا Folding پروتئین ایجاد نشود. مشابه این فرایند توسط فاکتور Xa نیز انجام می‌گیرد. جایگاه برش این آنزیم پروتئاز بعد از His-tag قراردارد و توالی Ile-Glu-Gly-Arg را شناسایی و بعد از Arg را برش می‌دهد [۴۰].

آنزیم‌ها و پیام‌رسانی سلولی

برخی آنزیم‌ها مانند تیروزین کیناز و گوانیلات سیکلاز به عنوان گیرنده یا رسپتور برای برخی هورمون‌ها مانند انسولین وANP مطرح هستند که نمونه‌ای از همکاری آنزیم‌ها با سیستم هورمونی و اندوکرین می‌باشد [۴۱]. علاوه بر این آنزیم‌هایی مانند آدنیلات سیکلاز، پروتئین G با خواص آنزیمی، فسفولیپاز C، پروتئین کینازها و مپ‌کینازها در انتقال سیگنال‌های هورمونی همکاری دارند [۲۸].

نقش بیوتکنولوژی در تولید آنزیم‌های کاربردی

در بیوتکنولوژی نوین با استفاده از فن‌آوری جدید و از منابع مختلف خصوصا میکروب‌ها، آنزیم‌هایی در سطح گسترده جدا سازی و یا بشکل نوترکیب تولید می‌گردند که با علوم پزشکی ارتباط تنگاتنگی را دارند.

- تولید آنزیم لاکتاز برای تولید شیر بدون لاکتوز یا کم لاکتوز که تجویز این نوع شیر در افراد مبتلا به کمبود آنزیم لاکتاز روده‌ای و نیز بیماری سلیاک اهمیت دارد [۴۲].
- تولید آنزیم کلاژناز که در التیام و سوختگی‌ها و نیز کاهش چین و چروک نقش دارد [۴۳].
- تولید آنزیم پروتئاز در تولید انواع آنتی‌بیوتیک‌ها و انسولین کاربرد دارد[۴۵،۴۴].
- برخی آنزیم‌ها مانند لیپاز در تولید مارگارین یا کره گیاهی برای تغذیه مهم هستند [۴۶].

نتیجه‌گیری

با توجه به این مقاله مروری در خصوص آنزیم‌ها و جمع‌بندی نگرش و دید فراگیر به نقش آنزیم‌ها، پی می‌بریم که امروزه اهمیت و جایگاه این پروتئین‌ها فراتر از دیدگاه روزمره در مورد آن‌ها می‌باشد. امروزه آنزیم نه برای آنزیم و صرف تسریع سرعت واکنش، بلکه به عنوان ابزار مورد استفاده در تکنیک‌های مختلف برای تعیین میزان آنالیت‌ها، شناسایی ویژه مواد و جایگاه‌های اختصاصی پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک در پروتئومیکس و ژنومیکس

[1] Glyceraldehyde -3-phosphate Dehydrogenase
[2] Edman

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

مطرح است. بعبارت دیگر میدان عملکرد آنزیم‌ها گستره وسیعی را در علوم پزشکی و زیستی بخود اختصاص داده است که قابل توجه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

از دکتر سعید لطیفی نوید و آقای آرین حمیدی نخستین در رابطه با ویرایش متن این مقاله تشکر می‌گردد.

References

1- Sonnenwirth AC, Jarett L, Gradwohl's Clinical Laboratory Methods and Diagnosis, 8thed, Missouri, The C.V. Mosby Company,1980: Volume one, Chapter 15: 305-306.
2- Burtis CA, Bruns DE. Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 17th edition. ELSEVIER Publication. 2015. Chapter 19: 323.
3- Harcke SJ, Rizzolo D, Harcke HT. G_6PD deficiency: An update. JAAPA. 2019. 32(11):21-26.
4- Moriyama T, Tamura S, Nakano K, Otsuka K, Shigemura M, Honma N. Laboratory and clinical features of abnormal macroenzymes found in human sera. Biochim Biophys Acta. 2015; 1854(6):658-67.
5- Catassi C, Verdu EF, Bai JC, Lionetti E. Coeliac disease. Lancet. 2022. 25;399(10344):2413-2426.
6- Rayman MP. Multiple nutritional factors and thyroid disease, with particular reference to autoimmune thyroid disease. Proc Nutr Soc. 2019; 78(1):34-44.
7- Hamidi Nokhostin K. MAPK superfamily enzymes and their relation to cancer and clinical laboratory. The 12th International Congress on Quality Improvement in Clinical Laboratories, 2019.
8- HamidiNokhostin K, Zahri S, Latifi Navid S, Hasanpour F, Tamouk L, JNK (A kind of MAPK Enzyme) gene expression and its level in stomach and breast cancer cell lines under abiotic stresses: results of two research projects. The 12th International Congress on Quality Improvement in Clinical Laboratories, 2019.
9- Hasanpour F, Hamidi Nokhostin K, Zahri S, LatifiNavid S. Study of cell viability and JNK/SAPK level following abiotic stresses (Heat & Radiation) in breast cancer cells. J Ardabil Univ Med Sci. 2017; 17(2):154-163. [Full text in Persian]
10- Shiffman M, Freilich B, Vuppalanchi R, Watt K, Chan JL, Spada A, et al .Randomised clinical trial: emricasan versus placebo significantly decreases ALT and caspase 3/7 activation in subjects with non-alcoholic fatty liver disease. Aliment Pharmacol Ther. 2019;49(1):64-73.
11- Karimzadeh Shushbolagh N, Mansour Kiaie S, Hamidi Nokhostin K. Hemoglobin removal by zinc sulfate to assay level and activity of red blood cell caspase-3 using ELISA and colorimetric methods. J Ardabil Univ Med Sci. 2023; 23(1):82-90. [Full text in Persian]
12- Hamidi Nokhostin K, Kasaei Kivi SH, Safari Ezmare Sofla M. The effect of hypertonic stress and its duration on the level and activity of executioner caspase enzymes in blood anuclear cells (Platelets). Jentashapir J Cell Mol Biol. 2024; 15(2):e145467.
13- Jurisic V, Radenkovic S, Konjevic G. The Actual Role of LDH as Tumor Marker, Biochemical and Clinical Aspects. Adv Exp Med Biol. 2015;867:115-24.
14- Zhang J, Zhang L, Pan S, Gu B, Zhen Y, Yan J, et al . Amylase: sensitive tumor marker for amylase-producing lung adenocarcinoma. J Thorac Dis. 2013;5(4):E167-9.
15- Anamthathmakula P, Erickson JA, Winuthayanon W. Blocking serine protease activity prevents semenogelin degradation leading to hyperviscous semen in humans. Biol Reprod. 2022; 106(5):879-887.
16- Alakbarzade V, O'Kane D, Pereira AC. Hypersensitivity reactions to recombinant tissue plasminogen activator. Pract Neurol. 2020; 20(1):75-79.
17- Vellard M. The enzyme as drug: application of enzymes as pharmaceuticals. Curr Opin Biotechnol. 2003; 14(4):444-50.
18- De la Fuente M, Lombardero L, Gomez- Gonzalez A, Solari C, Angulo Barturen I, Acera A, et al. Enzyme Therapy: Current challenges and future perspectives. Int J Mol Sci. 2021. 22(17):9181.
19- Wójcik T, Kieć-Kononowicz K. Catalytic activity of certain antibodies as a potential tool for drug synthesis and for directed prodrug therapies. Curr Med Chem. 2008; 15(16):1606-15.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

20- Vickneson K, George J. Xanthine Oxidoreductase Inhibitors. Handb Exp Pharmacol. 2021; 264:205-228.
21- Polakovičová M, Jampílek J. Advances in structural biology of ACE and development of domain selective ACE-inhibitors. Med Chem. 2019; 15(6):574-587.
22- Bicket DP. Using ACE inhibitors appropriately. Am Fam Physician. 2002; 66(3):461-8.
23- Cui J, Jia J. Natural COX-2 inhibitors as promising anti-inflammatory agents: an update. Curr Med Chem. 2021; 28(18):3622-46.
24- Balasubramanian R, Maideen NMP. HMG-CoA reductase inhibitors (statins) and their drug interactions involving CYP enzymes, P-glycoprotein and OATP transporters-an overview. Curr Drug Metab. 2021; 22(5):328-41.
25- Orhan IE. Enzyme inhibitors as the attractive targets for the treatment of various diseases. Curr Med Chem. 2019; 26(18):3206-07.
26- Hoffmann VS, Hasford J, Deininger M, Cortes J, Baccarani M, Hehlmann R. Systematic review and meta-analysis of standard-dose imatinib vs. high-dose imatinib and second generation tyrosine kinase inhibitors for chronic myeloid leukemia. J Cancer Res Clin Oncol. 2017; 143(7):1311-18.
27- Araki T, Hamada K, Myat AB, Ogino H, Hayashi K, Maeda M, et al. Enhanced cytotoxicity on cancer cells by combinational treatment of PARP inhibitor and 5-Azadeoxycytidine accompanying distinct transcriptional profiles. Cancers (Basel). 2022; 14(17):4171.
28- Nelsohn DL, Cox MM. Lehninger's Principles of Biochemistry. 7th ed. W.H. Freeman company. 2017. Chapter 6: 207-208.
29- Nader Rifai, Chiu RWK, Young I, Burnnam CAD, Wittwer CT. Tietz Textbook of Laboratory Medicine. Elsevier Co. 7th ed. 2023.Chapter 50: 695.
30- Tille PM. Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 13th ed. Mosby Inc.2014. Chapter 7: 97-99.
31- Larkins MC, Thombare A. Point-of-Care Testing. 2023 May 29. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan–. PMID: 37276307.
32- Nagaraja P, Krishna H, Shivakumar A, Shrestha AK. Development of quantitative enzymatic method and its validation for the assay of glucose in human serum. Clin Biochem. 2012; 45(1-2):139-43.
33- Jones KS, Parkington DA, Cox LJ, Koulman A. Erythrocyte transketolase activity coefficient (ETKAC) assay protocol for the assessment of thiamine status. Ann N Y Acad Sci. 2021; 1498(1):77-84.
34- Tabatabaei MS, Ahmed M. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Methods Mol Biol. 2022; 2508:115-134.
35- Liu Z, Gurlo T, von Grafenstein H. Cell-ELISA using beta-galactosidase conjugated antibodies. J Immunol Methods. 2000; 234(1-2):P153-67.
36- Jin H, Yang PB, Feng GF, Jia N, Yang WN, Wang WX. [Optimization of trypsin digestion intensity to obtain high-purity in vitro cultured astrocytes]. Sheng Li Xue Bao. 2015; 67(1):103-9. [Full text in Chinese]
37- Raina A, Dogra TD. Application of DNA fingerprinting in medicolegal practice. J Indian Med Assoc. 2002; 100(12):688-94.
38- Hamidi Nokhostin K. Human erythrocyte peroxiredoxin II and its interaction with thioredoxin, sulfiredoxin and mitogen activated protein kinase dissertation, University of Exeter, UK. 2009
39- Panina Y, Germond A, Masui S, Watanabe TM. Validation of common housekeeping genes as reference for qPCRgene expression analysis during iPS reprogramming process. Sci Rep. 2018; 8(1):8716.
40- Jenny RJ, Mann KG, Lundblad RL. A critical review of the methods for cleavage of fusion proteins with thrombin and factor Xa. Protein Expr Purif. 2003; 31(1):1-11.
41- Kennelly PJ, Botham KM, McGuinness O, Rodwell VW, Weil PA. Harper's Illustrated Biochemistry. McGraw Hill. 32nd ed. 2023. Chapter 41: 490-491.
42- Catanzaro R, Sciuto M, Marotta F. Lactose intolerance: An update on its pathogenesis, diagnosis, and treatment. Nutr Res. 2021; 89:23-34.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]

43-Patry J, Blanchette V. Enzymatic debridement with collagenase in wounds and ulcers: a systematic review and meta-analysis. Int Wound J. 2017; 14(6):1055-65.
44- Razzaq A, Shamsi S, Ali A, Ali Q, Sajjad M, Malik A, et al. Microbial proteases applications. Front Bioeng Biotechnol. 2019. 12; 7:110.
45- Hwang HG, Kim KJ, Lee SH, Kim CK, Min CK, Yun JM, et al. Recombinant glargine insulin production process using *Escherichia coli*. J Microbiol Biotechnol. 2016; 26(10):1781-9.
46- Ornla-Ied P, Sonwai S, Lertthirasuntorn S. Trans-free margarine fat produced using enzymatic interesterification of rice bran oil and hard palm stearin. Food Sci Biotechnol. 2016. 30;25(3):673-680.

[Downloaded from jarums.arums.ac.ir on 2024-07-27]