

İzoenzimler

Organizmada aynı reaksiyonu katalize ettikleri halde molekül (protein) yapıları bakımından farklılık gösteren enzimlere **İzoenzimler** denir. Kontrol mekanizmasında önemli rol oynarlar.

Örneğin laktat dehidrogenaz (LDH) (Piruvat \longleftrightarrow Laktat) enzimi elektroforetik olarak birbirinden farklı fakat molekül ağırlıkları aynı (134.000) 5 fraksiyona ayrılır. Bu 5 izoenzim de molekül ağırlıkları aynı (33.500) olan 4 polipeptid zinciri ihtiva eder. Ancak bu zincirlerin kombinasyonları farklıdır.

Farklı sayı ve dizilişteki aminoasitlerden oluşan M (kas) ve H (kalp) zincirleri 5 farklı şekilde bir araya gelerek izoenzimleri meydana getirir. İskelet kasında çok bulunan LDH izoenzimi 4 M zinciri taşır ve M₄ olarak gösterilir. Kalpte çok bulunan şekli ise 4 H zinciri taşır ve H₄ olarak gösterilir. Diğer dokularda da M₃H, M₂H₂, MH₃ gibi M ve H zincirlerinin çeşitli sayıda birleşmelerinden oluşan LDH izoenzimleri bulunur.

Enzim Üniteleri

Enzim konsantrasyonları aktivite üniteleri ile belirtilir. Bir mg proteindeki enzim ünitesi sayısına spesifik aktivite denir. Bu, enzimin saflığının ölçüsüdür. Enzim saflaştıkça spesifik aktivite artar.

Spesifik aktiviteden başka bir de molar veya moleküler aktivite vardır. Önceleri çevirme sayısı da denilen bu terim, bir tek enzim molekülü tarafından optimal şartlarda bir dakikada çevrilen substrat molekülü sayısıdır. En yüksek molar aktiviteye sahip enzim karbonik anhidraz C dir.

Bazı enzimlerin 20-38 °C da molar aktiviteleri;

Karbonik anhidraz C	36.000.000
Katalaz	5.600.000
Fosfoglukomutaz	1.240
Suksinat dehidrogenaz	1.150

Enzim üniteleri zaman içinde farklı şekillerde belirtilmiştir. Önceleri Bodanski, Karmen, Wroblewski gibi araştırmacı isimleri kullanılmış,

1961 yılında toplanan enzim komisyonu üniteleri standardize etmeye çalışmış ve **bir internasyonal ünite tarifini "optimal ısı(25 °C), pH ve substrat konsantrasyonunda bir dakikada bir mikromol ($\mu\text{mol/dk}$) substratın çevrilmesini katalize eden enzim miktarı"** olarak belirlemiştir. IU sembolü ile gösterilen bu ünite 1972 yılında yeniden düzenlenmiş ve "**bir saniyede bir mol (mol/sn) substratı çeviren enzim aktivitesi"** bir katal olarak isimlendirilip "**kat**" sembolü ile gösterilmiştir.



Enzimatik Analizler İçin Numune Seçimi ve İşlenmesi

Klinik laboratuvarlarında enzim aktivitelerinin tayini çeşitli materyaller üzerinde yapılır. Bunlar

- tüm kan,
- serum,
- plazma,
- serebrospinal sıvı,
- idrar,
- duodenal sıvı,
- safra,
- mide suyu
- gaitadır

Antikoagulantların bazı enzimler üzerine toksik etkileri olduğundan, enzimatik analizlerde serumda çalışılması tercih edilir.

Örneğin, sitrat amilazı inhibe eder fakat fumarazı aktive eder. Okzalit, laktat dehidrogenazı, heparin de kreatin kinazın aktivitesini azaltır. Florid birçok enzimleri inhibe ederken, EDTA bazılarını inhibe bazılarını aktive eder.

Eritrositler birçok enzim yönünden zengin olduğundan kanın alınmasından, serumun ayrılmasına kadar olan safhalarda hemolize sebep olmak, serumda yanlış değerler elde edilmesine neden olur.

Serumun ayrılması için laboratuvarlarda genellikle kanın 37 oC lik su hamamına konulması enzim tayinlerinde tavsiye edilmez.

Amilaz, lipaz ve transaminazlar, oda ısısında birkaç gün dayandıkları halde, asit fosfataz alkali solusyonda oda ısısında süratle inaktive olur.

Kan plazması veya serum pH sı pıhtı ile temasta iken çabuk değişmez.

Diğer taraftan serumun dondurulması izositrat dehidrogenaz gibi bazı enzimlerin kısmen inaktive olmasına sebep olur. Bu bakımdan enzim tayinlerinin hemen yapılmasının mümkün olmadığı hallerde serumun, 0-4 oC de saklanması tavsiye edilir.

Enzimatik Analizlerin Prensipleri

Enzim tayinleri optimum pH da ve yeterli substratın mevcudiyetinde yapıldığı zaman başlangıçtaki reaksiyon hızı enzim miktarı ile orantılıdır.



Tıpta Enzimolojiden Yararlanılması

Enzimlerin nicelik ve nitelik tayinlerinin yapılması suretiyle hastalıkların ve kalıtsal anomalilerin teşhisleri yapılabilmekte ve prognoz hakkında fikir edinilmektedir. Enzim tayinlerinin hastalıkların teşhisindeki önemi çeşitli sebeplerle hücrelerden serbest hale geçen enzimlerin kandaki miktarlarının artması esasına dayanır. Bu sebepler;

1-Hücre membran permeabilitesinin artışı

2-Hücre ölümü

3-Enzim teşekkülünün artışı

4-Normal itrah (atılım) yollarının tıkanması

5-Sirkülasyon bozukluğu



1. Hücre membran permeabilitesinde artış, enfeksiyon etkenlerinin hücreyi tahribi ve membranda fonksiyonel harabiyet yapması neticesinde intrasellüler enzimlerin ekstrasellüler sıvıya ve buradan da kana geçmesi ile olur. Hücre solunumundaki bozukluk (anoxia) da membran disfonksiyonuna ve enzimlerin hücreden çıkışına sebep olur.

2. Hücrelerin ölümünde, yırtılmasında membran permeabilitesinin değişmesine nazaran daha bariz serum enzim artışı meydana gelir. Bu durum bilhassa subsellüler organellerle ilgili enzimlerde görülür.



3. Enzim teşekkülünde artışa bağlı olan serum enzim aktivitesinin artışı çok sık görülmez. Fakat neoplazi ve hiperplazilerde, metabolik hızın artığı haller ve hasta dokuların rejenerasyonu sırasında görülür

4. Enzimlerin eliminasyonuna mani olan tıkanmalar da enzim aktivitesinde artışa sebep olur. Ekstrasellüler ve vasküler kompartımanlardan enzimlerin eliminasyonu idrar veya safra ile atılma veya vücutta inaktive edilme yoluyla olur. Bazı enzimler hücreler tarafından reabsorbe edilirler. Bu ekskresyon veya inaktivasyon yollarında bir harabiyet meydana gelirse serum enzim aktivitesi artar. Bilier tıkanmada karaciğer orjinli alkali fosfataz artışı ve böbrek yetmezliğinde serum amilaz artışı bunlara örnektir.

5. Dolaşım bozukluğu serumda enzimlerin eliminasyonunun gecikmesi sebebiyle serum enzimlerinde artışa neden olur.

- Enzim aktivitelerinin tayininin teşhisteki önemi organ spesifitesine bağlıdır. Bir enzim sadece bir organ için spesifik ise o enzimin tayini klinikman büyük önemi haizdir.

- Tıpta bazı hastalıkların tedavisinde de enzim preparatlarından ilaç olarak yararlanılmaktadır. Halen enzimlerle tedavide daha çok ekzoenzimlerden yararlanılmaktadır. Özellikle midede sindirim bozukluklarında proenzim olarak pepsinojeni kapsayan preparatlardan veya ince barsakların üst kısmında yine sindirime yardımcı olmak amacıyla pankreas enzimleri ihtiva eden preparatlardan faydalanılmaktadır. Asparajinaz enziminin lökeminin tedavisinde kullanılması üzerinde durulmaktadır.

Birçok enfekte nekrotik yaralar, yanıklar ve diğer lezyonlar fibrinöz ve purulent materyal ihtiva ederler. Bu materyalin enzimatik olarak yok edilmesi klinik olarak yapılmaktadır. Ya fibrinolizin ve bir aktivatör veya aktive edilmiş enzim fibrini eritir, streptokoklardan veya pankreas dokusundan elde edilen deoksiribonükleaz lökositleri eritir. Bu iki enzim genellikle birlikte tatbik edilir ve tedavi edilecek satıhla enzim birkaç saat yakın temasda bırakılır. Bunlar antiseptik aktiviteye sahip değildir, musin ve kollajeni sindiremezler.



- α kimotripsin, katarakt operasyonlarında göz merceğinin asıcı ipliklerini (zonular threads) eritmek için kullanılır. Bu enzimin intravenöz enjeksiyonu yangı ve trombozların tedavisinde kullanılmaktadır.



Enzimlerin Endüstride Kullanılması

Gıda endüstrisinde pastörizasyon ve sterilizasyonun uygun şekilde yapılıp yapılmadığını tespit için enzim tayinlerinden faydalanılır. Örneğin sütte bulunan alkali fosfataz enzimi, pastörizasyon için gerekli olan ısıda inaktive olur. Dolayısıyla pastörizasyondan sonra ALP enzimi tayini, pastörizasyonun uygun ısıda yapılıp yapılmadığını gösterir.

Pastörizasyon: 72 oC'de 15 sn,
65 oC'de 30 dk,
80-81 oC'de 1-3 dk



Gıdalardaki bakteriyel kontaminasyonun derecesi de, gıdada normal olarak bulunmaması gereken mikrobiyel enzimlerin tayini ile tespit edilebilir. Örneğin sütte çok az miktarda bulunan redüktazlar bakteriler tarafından büyük miktarda üretilirler. Redüktazlar anaerobik şartlarda metilen mavisinin, renksiz loykometilen mavisine indirgenmesini katalize ettiklerinden kolayca tayin edilebilirler.

Ekinler çok rutubetli yerlerde muhafaza edilirse veya hasat zamanı yağmurlu geçerse buğday tohumlarında filizlenme meydana gelir. Tohumlarda α amilaz aktivitesi tayini filizlenmenin derecesini gösterir. Çünkü bu şekilde bekletilen tohumlarda α amilaz ve bazı proteolitik enzimlerde artış meydana gelir. Bu artış da nişasta ve proteinlerin yıkılmasına sebep olur.



Glukoz izomeraz enzimi etkisiyle glukozun fruktoza çevrilmesi de ekonomik olan bir tatlandırıcı elde etmek bakımından ticari olarak uygulanan bir enzimatik işlemdir. Böyle bir işleme tatlılık derecesi 70 olan glukozdan tatlılık derecesi 170 olan bir tatlandırıcı elde edilmiş olur.

Bitkisel bir proteaz olan ve papaya meyvesinden ekstrakte edilen papain et yumuşaticısı olarak kullanılır. Papain ve diğer proteazlar bira endüstrisinde, dūřuk ısıda protein ve tannin komplekslerinin presipitasyonunu önlemede kullanılır.

Deri ve tekstil endüstrisinde bakteriyel proteazlar deriden yūnūn gevřetilerek ayrılmasında kullanılır.



ENZİM AKTİVİTELERİNİN BELİRLENMESİNİN KLİNİK ÖNEMİ

Doku metabolizmasındaki enzimlerin serumda da görülebileceğinin tespit edilmesiyle, günümüzde birçok hastalık, plazma veya serumdaki enzim örneklerinin belirlenmesiyle teşhis edilebilmekte ve hatta hastalığın seyri ya da tedaviye alınan yanıt hakkında bilgiler elde edilebilmektedir.

Kan plazmasındaki hücre enzimlerinin düzeylerinin yükselmesi; hücre zarı permabilitesinin artışı, hücre ölümü, enzim teşekkülünün artışı, normal atılım yollarının tıkanması ve sirkülasyon bozukluğu olgularında görülür.

Örneğin kalp infarktüsünün oluşumundan yaklaşık 4 saat sonra myokart kasının nekrozuna bağlı olarak serbest kalan enzimler (CK) kan plazmasında görülmeye başlarlar ve 2-3 gün sonrada en yüksek düzeylere ulaşmaya başlarlar. Daha sonra serumdaki enzimlerin yıkılımı ve uzaklaştırılması gerçekleştiğinden, bu düzeyler düşmeye başlar.

1-LİPAZ: ince barsaklarda görev yapan triasil gliserinleri parçalayan pankreas kökenli bu enzimin serum düzeyleri pankreas kanalının tıkanmasında ve akut pankreatitlerde yükselir.



2- α -AMİLAZ: Pankreasın ekstrotik kısmında ve parotis bezinde oluşturulan bu enzim, nişasta ve glikojen yapısındaki α -1-4 glikozitik bağları koparır. Bu sekretorik enzimin plazma yada serum düzeyleri paratis yada pankreas kanallarının tıkanmasında veya bu dokuların akut yangınlarında yükselir. Enzimin moleküler ağırlığı oldukça küçük olduğundan (45000) idrarlada atılabilir ve bir pankreatitis'de kuşkulandığı hallerde enzimin idrar düzeyleride ölçülmelidir.



3-PSEUDOKOLİN ESTERAZ: Bu enzim kolinin esterlerini hidrolize eder. K.C'de sentezlenen enzim kana salınır. Karaciğer sirozu gibi, karaciğerin ağır harabiyetlerinde protein sentezinin aksaması sonucu kandaki düzeyleri düşer.Nekrotik sendromda serum düzeylerinde yükselmeler görülür.



4-ALANİN AMİNO TRANSFERAZ(ALT, GLUTAMAT PİRUVAT TRANSAMİNAZ,GPT): Bu enzim özellikle karaciğerde yüksek aktivitede bulunur ve öncelikle enfeksiyöz k.c hastalıklarının teşhisinde ve seyrinin kontrolünde kullanılır. Daha düşük aktivitede kalp ve iskelet kaslarında da bulunur. Bu hücrelerin hasarında, serum düzeylerinde yükselmeler görülür. Özellikle iskelet kaslarının yaygın harabiyetlerinde büyük hücre kütlelerinin hasarına bağlı olarak serum düzeylerinde daha büyük bir artış görülür.

(GPT enzimi, glutamik asitten bir NH_2 grubunu piruvik asite transfer etmeye ve alanin aminoasiti oluşurken yine α -ketogutarik asit ortaya çıkmaktadır. 4-26 IU/L.)

5-ASPARTAT AMİNO TRANSFERAZ(AST, GLUTAMAT OKZALASETAT TRANSAMİNAZ,GOT):

Özellikle kalp kası, iskelet kasları ve k.c. olmak üzere çoğu dokularda yüksek aktivitelere bulunur. Fakat öncelikle kalp kası enfarktüslerinin teşhislerinde kullanılır. İskelet kaslarının transmatik bozukluklarında serum düzeyleri GPT den daha fazla yükselir.

“sGOT aktivitesi myokart enfarktüsünde yükselmektedir.Bu enzimin yükselmesi bir kc. hastalığı olan viral hepatitte de artmaktadır. Buna karşılık sGPT aktivitesi ise sadece kc hastalığında artmakta, fakat myokart enfarktüsünde herhangi bir değişiklik olmamaktadır.”

(GOT enzimi glutamik asitteki bir NH_2 grubunu, akzalik asite transfer ederek aspartik asite dönüştürmekte ve geriye α -ketogutarik asit kalmaktadır. İnsanda 5-28 IU/L.)

6- γ -glutamil trans peptidaz (γ -GT, GGT): Özellikle k.c., böbrek, pankreas olmak üzere paraneoplastik organlarda, dalak ve ince bağırsaklarda yüksek aktiviteye sahiptir. Öncelikle k.c. ve safra kanalları hastalıklarının teşhisinde kullanılır.K.C. hastalıklarında çoğu kez serum düzeyleri ilk yükselen enzimdir ve diğer kan parametrelerinin normale döndüğü iyileşme dönemlerinde bu enzim aktivitelerinin hala yüksek olduğu görülür.



7-Alkali Fosfataz (ALP): Bu enzim kemiklerde (özellikle osteoblast aktivitesinin yükselmesinde) , k.c. de, safra kanalı epitellerinde, ince bağırsak mukozasında ve plasentada yüksek aktiviteye sahiptir. Osteoblast aktivitesinin yükselmesiyle karakterize kemik hastalıklarında (ön büyüme çağındaki osteoblast aktivitelerinin yükselmelerinde, kemik metastazlarında), hiperparatiroidismus'da, safra kanalı hastalıklarında, kolestazlarda (safra kanalı tıkanıklığı) ve gebeliğin 3. çeyreğinde enzimin serum aktiviteleri yükselir. Bu enzimin farklı organlardan köken alan bir çok izoenziminin varlığı bilinir.Günümüzde hangi organdan köken aldığını belirlemeye yarayan izoenzim yöntemleri vardır.

8-Asit Fosfataz :Fosfat esterlerini parçalayan bu enzim, en yüksek prostat bezinde bulunmasına karşın ,böbrekler, dalak, kemikler (östeoblastlar içinde) ve eritrositlerde de bulunur. (Trombosit ve eritrositlerdeki aktivitesi oldukça dikkat çekicidir.)

Prostattan köken alan izoenzim, L-tartaratla inhibe edilebildiğinden prostattan köken alan kısım kolaylıkla belirlenebilir ve prostat kanserlerinin teşhisinde önemlidir.



9-Laktat dehidrojenaz (LDH): Tüm dokularda bulunan enzimin en yüksek aktivitesi kalp kası, k.c. ,iskelet kasları, eritrositler ve trombositlerde saptanmıştır. Bir kalp kası infarktüsünden sonra serum düzeyleri en güç düşen enzim olduğundan (infarktüsten 2-3 gün sonra max. düzeye çıkar ve 8-10 gün sonra yüksek serum aktivitesi vardır) klinik bir belirti olmaksızın geçirilen infarktüslerin teşhisinde kullanılır.

LDH aktivitesinin tayini sGOT'den sonra daha etkin bir klinik tanı olmaktadır.Kalp rahatsızlıklarından dolayı kalp enzimi LDH-1 (H4) enziminin kan dolaşımındaki düzeyi artarken, k.c. ve iskelet kası rahatsızlıklarında LDH-5 (M4) aktivitesi artmaktadır.

10-Kreatin Kinaz(CK) : Bu enzim kalp kası, iskelet kası ve beyinde oldukça yüksek aktivite gösterir. Kalp krizinden 4 saat sonra serum aktiviteleri yükselen tek enzim olduğundan kalp krizlerinin erken tanısında önem taşır. Fakat her türlü kas yaralanmaları, yangısal kas hastalıkları, şok ve ağır zehirlenmelerdeki kas hastalıklarında da serum aktiviteleri yükselir.

Kalp krizinin erken teşhisi CK-MB izoenzimlerinin kullanılmasıyla çok hassas bir şekilde yapılabilmektedir. Normal plazmadaki CK düzeyi içindeki oranı %5'i geçmeyen CK-MB 'ı oranı, myokart harabiyetlerinden sonraki ilk 48-60 saat içinde %20'lere yükselmektedir.

11-Glutamat dehidrojenaz (GLDH) : Karaciğer Mitokondriumlarda lokalize bu enzim özellikle k.c.'de yüksek aktivitede bulunur ve serum GLDH düzeyleri k.c. hastalıklarının teşhisinde önem taşır. Keza mitokondriumlarda lokalize olduğundan sadece hücrelerin tam yıkımında hücre dışına çıkabilir ve hücre nekrozlarının oluştuğuna işaret eder. Alkolden ileri gelen yağlı k.c.'de de serum GLDH düzeyleri yükselir.



Ayrıca buraya kadar bahsedilen enzimler;

genellikle hücresel enzimler olup ve hücre içi amaçlarda kullanılırlar. Bunlardan başka bir de primer fonksiyon yerleri kan serumu olan başlıca iki enzim bulunmaktadır. Bunlar **SERULOPLAZMİN** ve **KOLİNESTERAZ**'dır.

1-Seruloplazmin: Ferroksidaz aktivitesi gösteren bir plazma proteini olan enzim düzeyi, Wilson Hastalığında (Cirrhotic Liver) normalin oldukça altına düşmektedir.



2-Kolinesteraz: Kan serumunda bulunan kolinesteraza TİP II kolinesteraz ya da PSEUKOLİNESTERAZ adı verilmektedir (Ancak bu şekilde sinir dokusunda bulunan TİP I kolinesteraz ayırd edilmektedir).

Serum enzimi asetil kolini substrat olarak kullanmaktadır, eğer karaciğer hastalığı ortaya çıkacak olursa serum kolinesteraz düzeyi normalin altına düşer.



KOENZİMLER-KOFAKTÖRLER

ENZİM

(holoenzim)

İnaktif protein

(Apoenzim)

Kofaktör

Esansiyel İyonlar

(inorganikler)

Koenzimler

(organikler)

Aktivatör iyonlar

(gevşek olarak bağlı)

Metalloproteinlerin
metal iyonları

(Sıkı olarak bağlı)

Kosubstratlar
(gevşek bağlı)

Prostetik gruplar
(Sıkı olarak bağlı)

Pek çok enzimatik reaksiyonda bazı enzimler katalitik aktivite gösterebilmek için substratın yanında koenzim veya kofaktör olarak organik ve esansiyel iyonlar olarak da inorganik maddelere ihtiyaç duyarlar.

Koenzimler genellikle bir atom veya atom grubu için akseptör veya donör rolü oynayarak, bu grupları küçük substrat molekülünden alarak veya ilave ederek grup transferlerinde, izomerizasyon reaksiyonlarında, oksidoredüksiyon reaksiyonlarının başarılmasında önemli rol oynamaktadırlar.

Bir substrat ve koenzimi enzimatik reaksiyonda birbirinden ayırmak bazen oldukça zordur. Çünkü reaksiyon esnasında hem substrat hem de koenzim yapı bakımından değişikliğe uğramaktadır. Tek ayırıcı özellik olarak, substratlar sonraki reaksiyon basamaklarında daha fazla değişikliğe uğrarlarken, koenzimler tekrar eski formlarına dönerler. Örneğin glikoz anaerobik şartlarda bir dizi değişikliğe uğrayarak laktik aside kadar değişirken, koenzimi olan NAD ancak okside ve redükte hale dönüşmekte ve daha fazla bir değişikliğe uğramadan kalmaktadır.

Yani koenzimler enzimatik reaksiyonda geçici bir değişikliğe uğrarlar fakat bir sonraki basamakta tekrar eski haline dönerler.

Koenzimler apoenzimle birleşme durumlarına göre 2 ye ayrılırlar: a- Kosubstrat b- Prostetik grup

a- Kosubstrat; Enzime gevşek olarak bağlı olup, reaksiyon sırasında değişikliğe uğrar ve aktif bölgeden ayrılır. Kosubstratın orjinal hali enzimatik reaksiyonu takip eden diğer bir enzimatik reaksiyonla sağlanır. Böylece kosubstrat hücre içinde bir siklus geçirir.

Reaksiyondaki normal substrat ise daha ileri değişikliğe uğrar. Normal bir substrat ile kosubstrat arasındaki fark aşağıdaki reaksiyonla daha açık izah edilebilir.



b- Prostetik grup enzime sıkı olarak bağlıdır. Enzimin koenzim bağlama bölgesinde proteine bağlı olarak kalır.

Kosubstrat ise dissosiye olarak ayrılır. Aktif bölgeyi teşkil eden iyonik aminoasit artıklarında olduğu gibi prostetik grup katalitik reaksiyon sırasında orjinal formuna rejenere olur. Aksi taktirde holoenzim katalitik olarak aktif kalmaz.

Koenzime ihtiyaç gösteren reaksiyonlar ; oksidoredüksiyonları, grup transferlerini, izomerizasyon reaksiyonlarını, kovalent bağların olduğu reaksiyonlar (IUB sınıflarından 1,2,5 ve 6)' ı kapsar. Sindirim enzimleri tarafından katalize olunan hidrolitik reaksiyonları içine alan litik reaksiyonların koenzime ihtiyacı yoktur (3 ve 4).

Koenzimler kaynaklarına göre 2'ye ayrılırlar :

1- Metabolik koenzimler,

2- Vitaminlerden kaynaklanan koenzimler.

1- Metabolik Koenzimler

ATP gibi bazı metabolik koenzimler (ATP, UTP, CTP ve

GTP), metabolitlerden sentezlenir. ($ATP \rightarrow ADP \rightarrow AMP$)

Ör: Uridin difosfo glikoz(UDP-Glikoz), glikojen ve selülozun

biyosentezinde glikoz kaynağıdır ve şeker gruplarının transferinde

yer alırlar.



2-Vitaminlerden Kaynaklanan Koenzimler

Hayvan hücrelerinde koenzimlerin çoğu gıdalardaki B vitamini ön maddelerinden sentezlenir. B vitamini kompleksi suda eriyen vitaminleri kapsar ve başlıca kaynağı bitkiler ve mikroorganizmalardır. Karnivor hayvanlar B vitamini ihtiyaçlarını etten sağlarlar.

Aşağıda başlıca vitaminlerden kaynaklanan koenzimler, her bir koenzimin metabolik rolü görülmektedir.



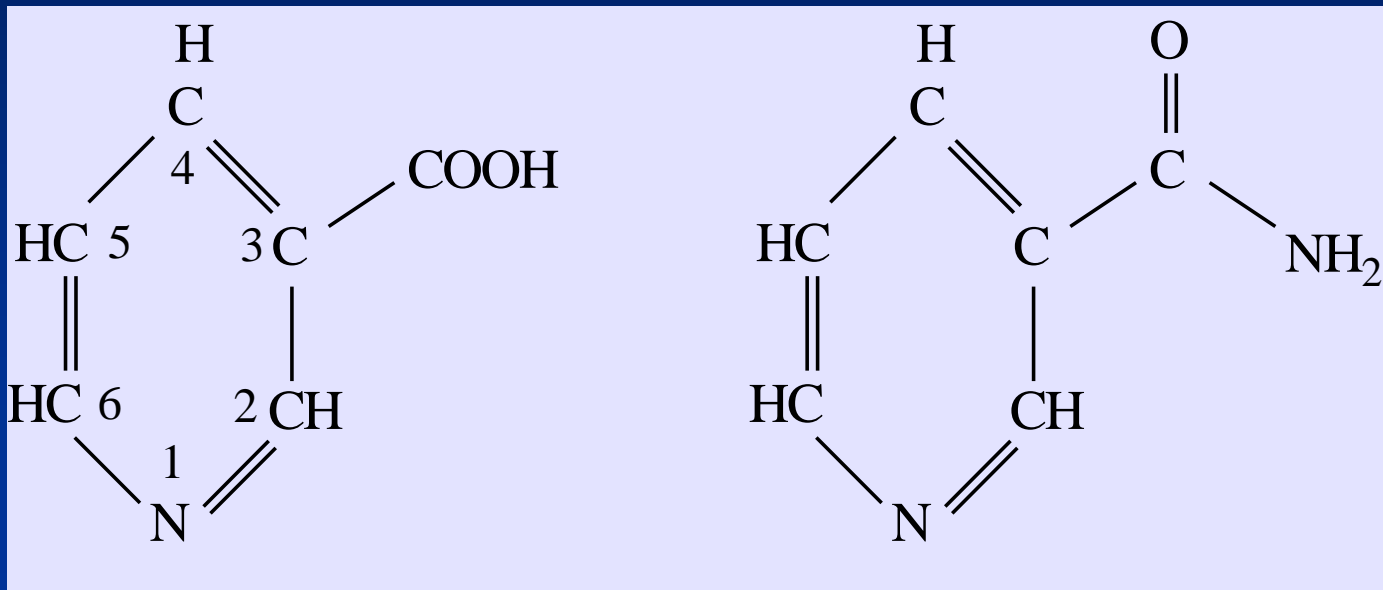
Vitamin	Koenzimler	Başlıca metabolik yol	Etki mekanizması
Niasin Nikotinik asit, B₃	Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD ⁺), nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP ⁺) ve diğer indirgenmiş şekilleri	İki elektron transferini kapsayan oksidasyon redüksiyon reaksiyonları	Kosubstrat
Riboflavin (B ₂)	Flavin mononükleotid (FMN), flavin adenin dinükleotid (FAD) ve bunların indirgenmiş şekilleri.	Bir ve iki elektron transferini kapsayan oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları	Prostetik grup
Tiamin (B ₁)	Tiamin pirofosfat (TPP)	Aldehit transfer reaksiyonları	Prostetik grup
Piridoksin (B ₆)	Piridoksal fosfat (PLP)	Aminoasitlere ve aminoasitlerden grupların transferini kapsayan reaksiyonlar	Prostetik grup
Biotin	Biositin	Substratların ATP' ye bağımlı karboksilasyonunu ihtiva eden reaksiyonlar veya substratlar arasında karboksil grubu transferini kapsayan reaksiyonlar	Prostetik grup
Folik asit	Tetra hidrofolat	Formil ve hidroksi metil Gruplarının transferini kapsayan reaksiyonlarla DNA da timine metil grubu Temini	Kosubstrat
Pantotenik asit	Koenzim A (Co A)	Akil grubu transferi reaksiyonları	Kosubstrat
Vitamin B ₁₂ (Kobalamin)	Adenozil kobalamin ve metil kobalamin	İntra moleküler yeniden düzenleme ve metil grubu transferi reaksiyonları	Prostetik grup

1- NAD⁺ ve NADP⁺

1930'ların ortalarında (Hans von Euler-Chelpin ve Otto Warburg'un laboratuvarlarında) izole edilmiş ve yapıları karakterize edilmiştir.

Aynı tarihlerde (Conrad Elvehjem ve D.Wayne Woolley köpeklerde siyah dil ve insanlarda bunun karşılığı olan pellegra (deri ve mukoza lezyonları) üzerinde çalışırken antipellegra faktörü olarak nikotinik asidi (ekseri niasin olarak geçer) idendifiye etmişlerdir.





Nikotink asit
(Niasin)

Nikotinamid

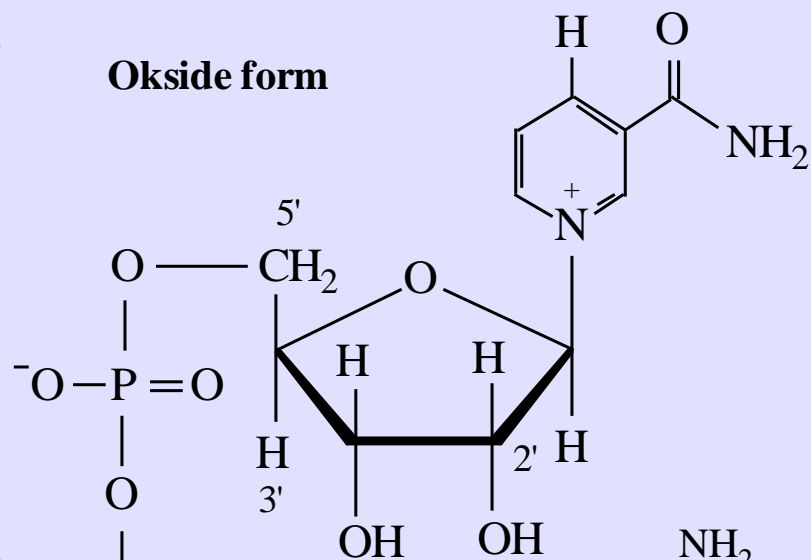
Nikotinik asit veya nikotinamidin hayvanlar tarafından dışarıdan gıda ile alınmaları gereklidir.

Bunlar NAD^+ ve NADP^+ koenzimlerinin ön maddeleridir. Bazı türlerde (ör.insanlarda) triptofan metabolizmasında NAD^+ meydana geldiğinden gıdadaki triptofan kısmen niasin veya nikotinamid ihtiyacını karşılar.

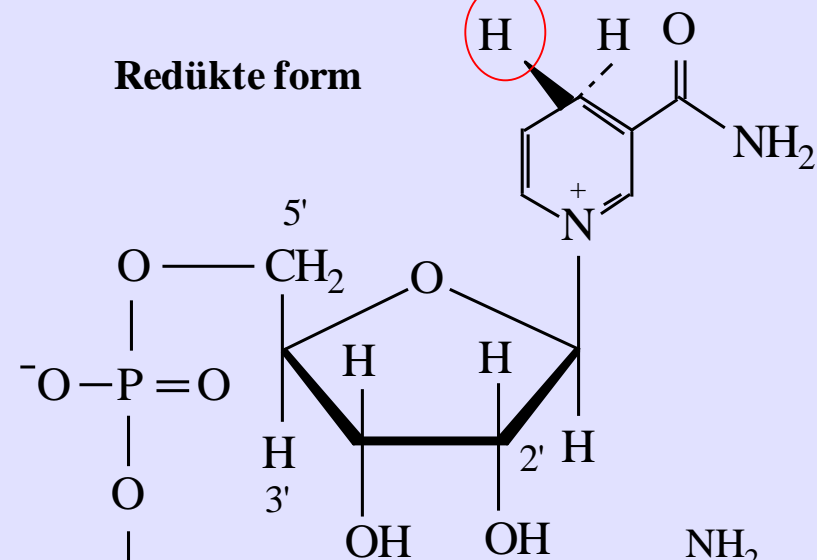


Nikotinamid
mono
nukleotid
(NMN)

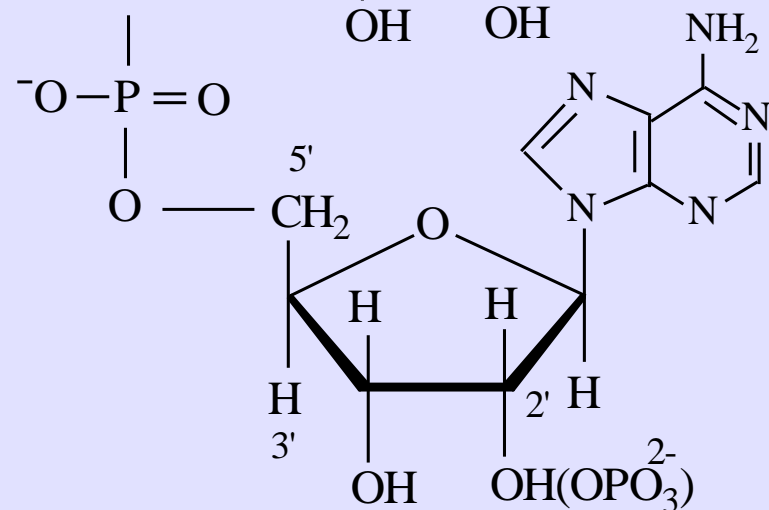
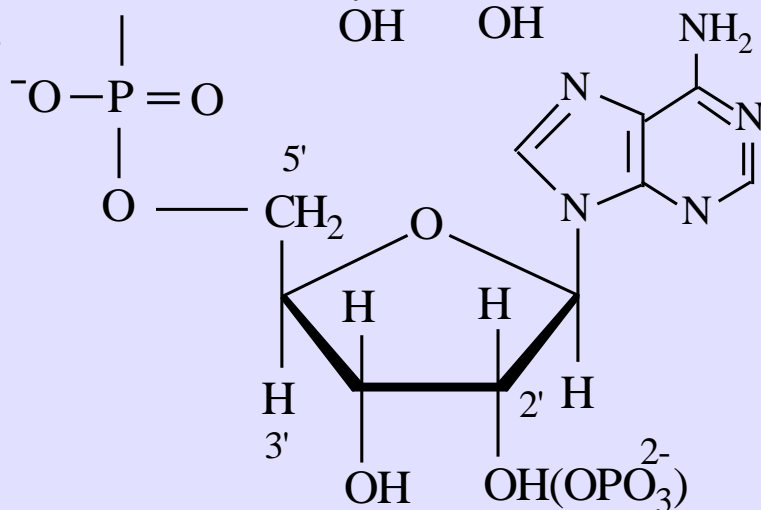
Okside form



Redükte form



Adenozin
mono
fosfat
(AMP)



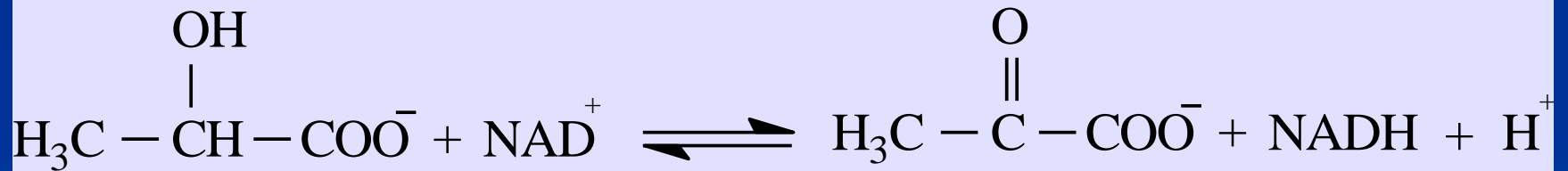
NAD^+ (NADP^+)

NADH (NADPH)

Yapısal olarak nikotinik asit 3. karbonunda karboksil grubu taşıyan piridin'dir. Bundan dolayı **nikotinamid ihtiva eden koenzimlere genellikle piridin nükleotid koenzimler** denir.

Piridin nükleotid dehidrogenazlar NAD^+ veya NADP^+ nin nikotinamid grubunun 4. karbonuna iki elektron ve bir (protonu hidrid iyonu) H^+ atomu şeklinde transfer ederek substratlarının oksidasyonunu katalize ederler. Böylece indirgenmiş formları (NADH veya NADPH) meydana gelir. Bu şekilde piridin nükleotidleri kapsayan **oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarında** aynı anda çift elektron nakli vardır.

Ör. Laktat dehidrogenaz koenzim olarak NAD^+ ye gerek duyan bir enzimdir. Anaerobik glikoz yıkılmasının son ürünü olan laktatın reverzibl oksidasyonunu katalize eder. NAD^+ veya NADP^+ nin her ikisinin de indirgenmesinde bir proton şekillenir.

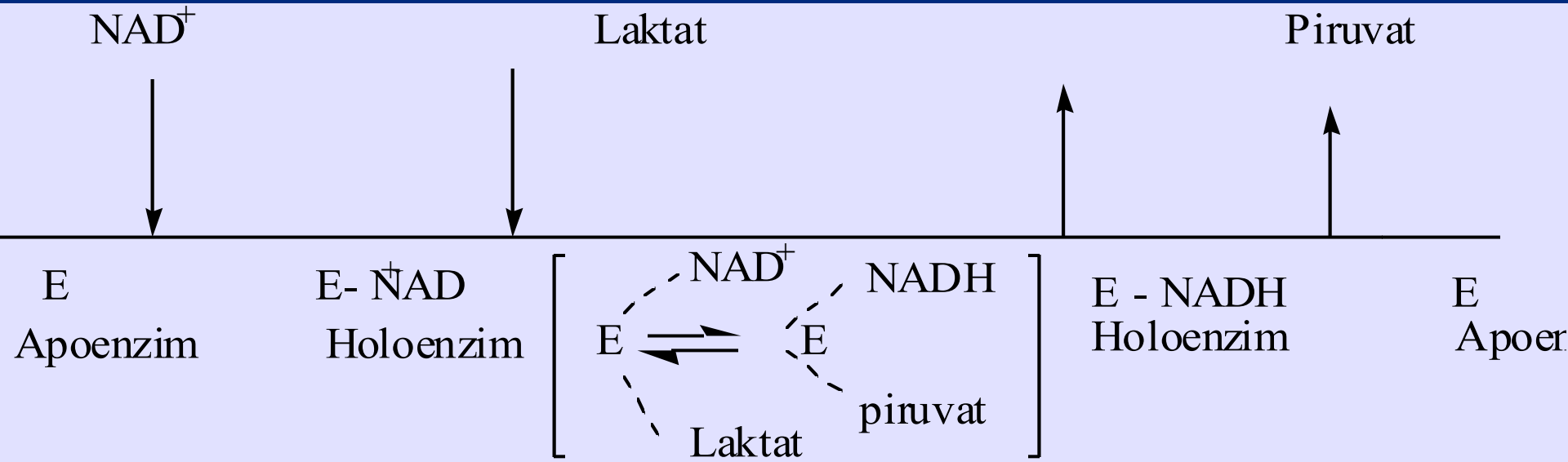


Laktat

Piruvat



Burada hem enzim hem de koenzim laktatın piruvata oksidasyonunun katalizine iştirak eder. Birçok dehidrogenaz da substrata bağlanmadan önce holoenzimi meydana getirmek üzere piridin nükleotid kosubstratına bağlanır.



Her ne kadar NAD^+ ve NADP^+ birbirinden sadece 2'-fosfat grubu ile ayrılırsa da, her birinin reaktif merkezinden uzakta katıldıkları reaksiyonlar önemli ölçüde farklıdır:

NAD^+ , daha çok katabolik veya parçalanma olayları ile ilgili, NADP^+ ise anabolik veya biyosentez olayları ile ilgilidir.

Ayrıca NADH ve NADPH 'dan indirgeyici güç olarak bahsedilir,

NADPH redüksiyon reaksiyonları için enerji ve H^+ sağlar.

NADH mitokondri içinde oksitlenebilir ve ATP şeklinde de kimyasal potansiyel enerji meydana gelir.

Sayıları 250 kadar olan dehidrojenazlar koenzim olarak nikotinamid nükleotide gereksinim duyarlar

2- FAD ve FMN

Flavin(flavius=sarı) mononükleotid (FMN, riboflavin-5-fosfat) ve flavinadenin dinükleotid(FAD), riboflavin(vit B₂)'in iki nükleotid koenzim formlarıdır

NAD⁺ ve NADP⁺ gibi FAD de adenin ve pirofosfat bağı taşır fakat onlardan farklı olarak pozitif yük taşımaz.

Oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarını katalize eden flavoenzimler veya flavoproteinler olarak bilinen enzimler, prostetik grup olarak FAD ve FMN'ye ihtiyaç duyarlar.

Bu enzimler yağ asitleri ve aminoasitlerin oksidatif degradasyonu ile ETZ'inde rol alırlar.

Oksidoredüktazların bir kısmı flavin prostetik grubuna ilave olarak, bir veya daha fazla metal iyonuna (Fe ve Mo gibi) gerek duyarlar ki bunlara metalloflavoproteinler denir.

FAD ve FMN sarı iken, indirgendikleri zaman izoalloksazanın konjuge çift bağınyı kaybetmesi sonucu meydana gelen $FADH_2$ ve $FMNH_2$ renksizdirler.

NADH ve NADPH çift elektron transferine katılırken, $FADH_2$ ve $FMNH_2$ tek ve çift elektron transferi yapabilirler. $FADH$ ve $FMNH$ oldukça radikaller olup bunlara flavosemikinonlar denir.



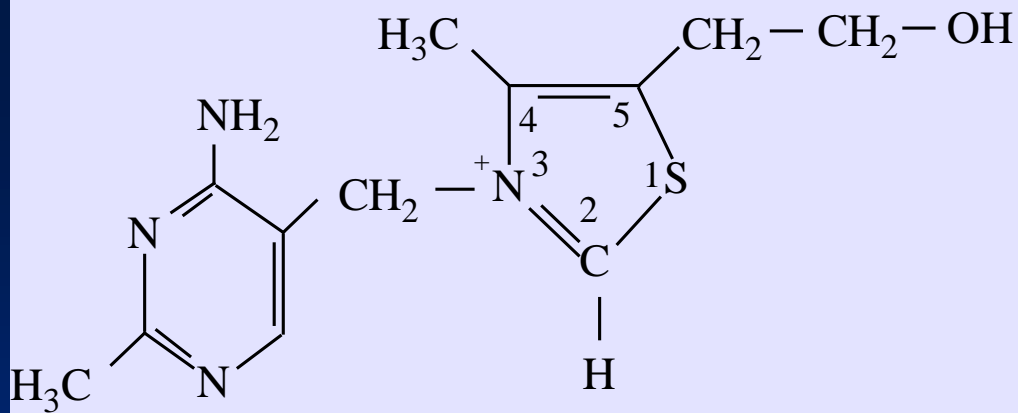
Riboflavin veya vitamin B₂, beş karbonlu bir alkol olan ribitol ile izoalloksazinden kurulmuştur. İzoalloksazindeki konjuge çift bağdan dolayı sarı renklidir. Riboflavin sütte, karaciğerde ve tohumlarda bol miktarda bulunur. Flavin mononükleotid (FMN, riboflavin 5' fosfat) ve flavin adenin dinükleotid (FAD), riboflavinin iki nükleotid koenzim formlarıdır.

NAD⁺ ve NADP⁺ gibi FAD de adenin ve pirofosfat bağı taşır fakat onlardan farklı olarak pozitif yük taşımaz. Oksidasyon redüksiyon reaksiyonlarını katalize eden flavoenzimler veya flavaproteinler olarak bilinen enzimler, prostetik grup olarak FAD veya FMN'ye ihtiyaç gösterirler.

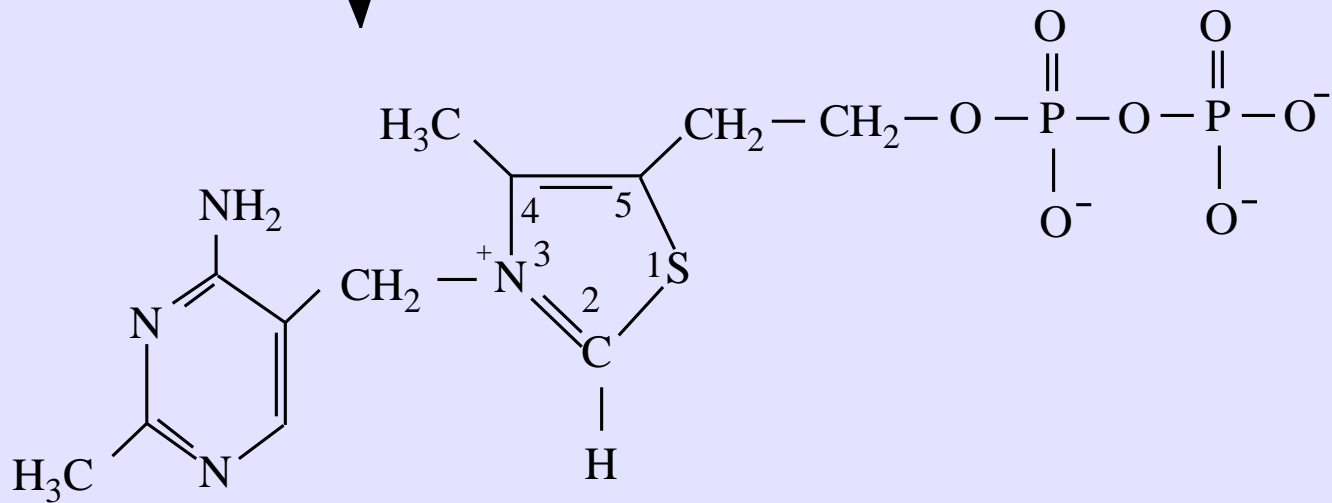
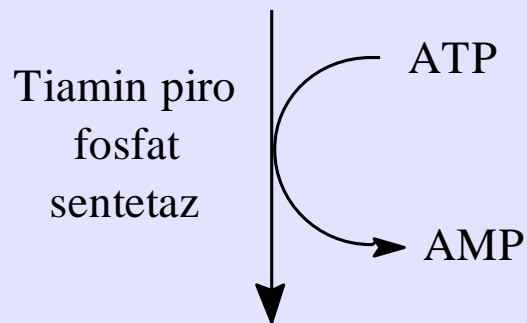
3-Tiyamin pirofosfat (TPP, eski adı kokarboksilaz)

Tiyamin pirofosfat (TPP), B₁ vitamininin koenzim formu olup, gıdalardaki tiyamine, ATP den pirofosforil grubunun tiyamin pirofosfat sentetaz enzimi ile transfer edilmesi ile sentezlenir. Koenzimin reaktif kısmı tiazolium halkasıdır.





Tiamin (Vitamin B₁)



Tiamin pirofosfat (TPP)

● Dekarboksilaz (karboksilyaz) ların çoğu koenzim olarak eskiden kokarboksilaz denilen TPP'a ihtiyaç gösterirler.

TPP ilk olarak piruvat dekarboksilazın prostetik grubu şeklinde mayadan izole edilmiştir. Maya piruvat dekarboksilaz aktivitesiyle piruvatı aset aldehite daha sonra da etanole indirger.

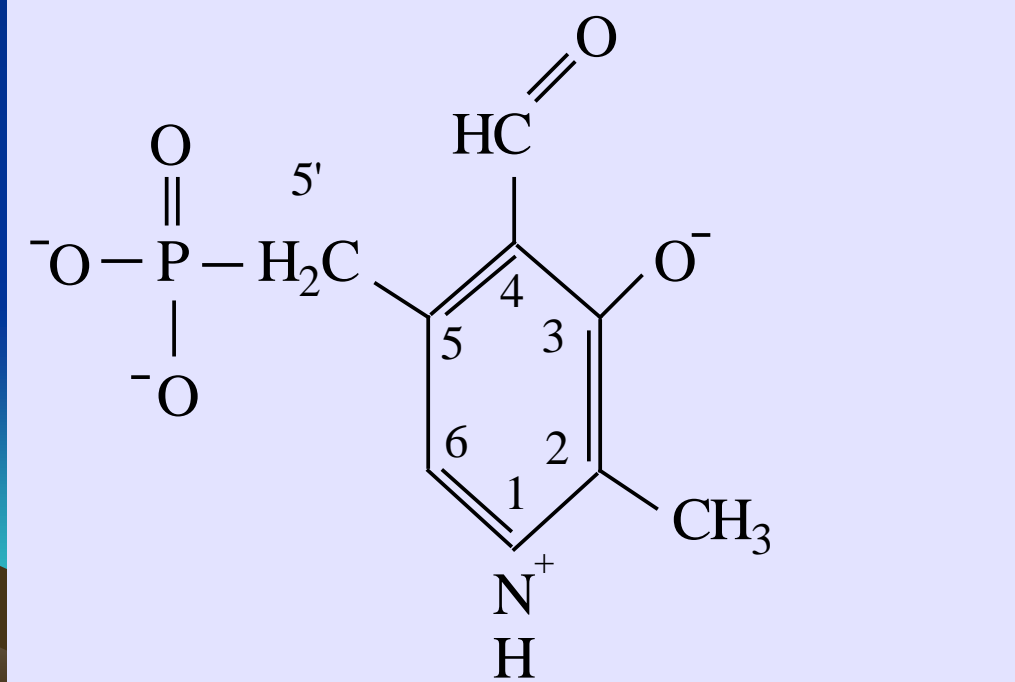
TPP, karbonhidrat metabolizmasında, aldehit gruplarının ayrıldığı veya transfer edildiği enzimle katalize edilen reaksiyonlarda koenzim görevi yapar. Bu reaksiyonlarda TPP' in tiazol halkası, kovalent olarak bağlı aktif aldehit grubu için geçici taşıyıcı görev yapar. Burada MgATP+2 de kofaktör olarak gereklidir.

Yine TPP α -keto asitlerin monooksidatif ve oksidatif dekarboksilasyonunda rol oynayan bir koenzimdir.

4-Pridoksal fosfat

Pridoksal fosfatın teşekkülünde önce ATP' nin fosforil grubunun enzimatik transferi ile gıdalardaki piridoksin(Vit B₆'nin üç önemli aktif formu: **pidoksin alkol grubu, pridoksal aldehid grubu, pridoksamin** (NH₂ grubu içerir) pridoksin 5' fosfata çevrilir, daha sonra bu da oksitlenerek, koenzim olan pridoksal 5' fosfat (PLP) meydana gelir.

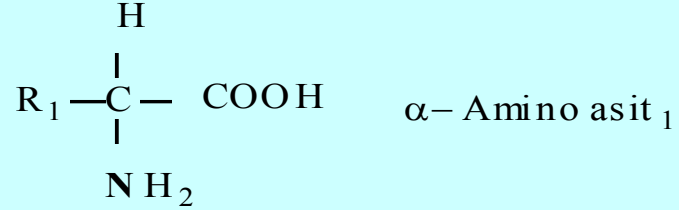
Koenzim pridoksal 5'- fosfatın (PLP) yapısı
Reaktif merkez aldehit grubudur.



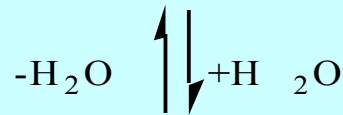
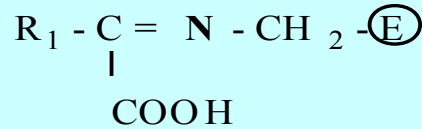
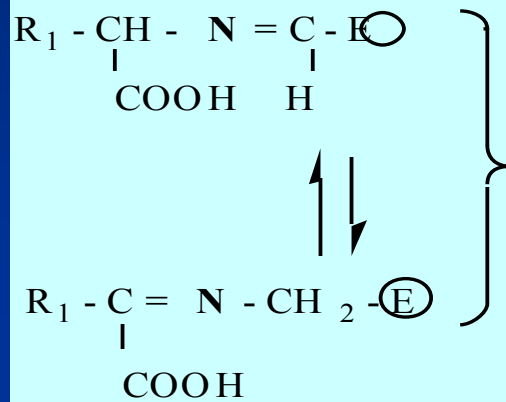
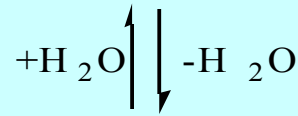
PLP, aminoasitleri kapsayan, çok sayıdaki enzimatik reaksiyonda (izomerizasyon, dekarboksilasyon ve yan zincirin ayrılması veya yer değiştirmesi reaksiyonları) prostetik grup olarak yer alır.

Koenzim olarak PLP'a ihtiyaç gösteren reaksiyonların çoğunu transaminasyon reaksiyonları teşkil eder. (Bir aminoasidin α - amino grubunun bir α - keto asidin α -karbon atomuna transferini kapsayan bu reaksiyonları katalize eden enzimlere transaminazlar veya aminotransferazlar denir). Bu reaksiyonlarda PLP'ın aldehit grubu, aminoasit ile enzime bağlı PLP arasında bir schiff bazi oluşturmak üzere aminoasit substratının amino grubu ile reaksiyona girer. Aminoasitten böylece NH_2 grubu ayrılır ve α -ketoasit meydana gelir.

(PLP transaminasyon dışında raseminasyon, dekarboksilasyon ve aminoasitlerin beta-C atomunda meydana gelen diğer reaksiyonları katalize eder.)



+



+



Aminotransferazlar da pridoksal fosfat'ın fonksiyonu.

5-Biotin:

COOH- gruplarının bir substrattan diğesine transferini katalize eder. Ör. Piruvat karboksilaz reaksiyonu.

Biotin,

1- karboksil transfer reaksiyonlarını katalize eden enzimler

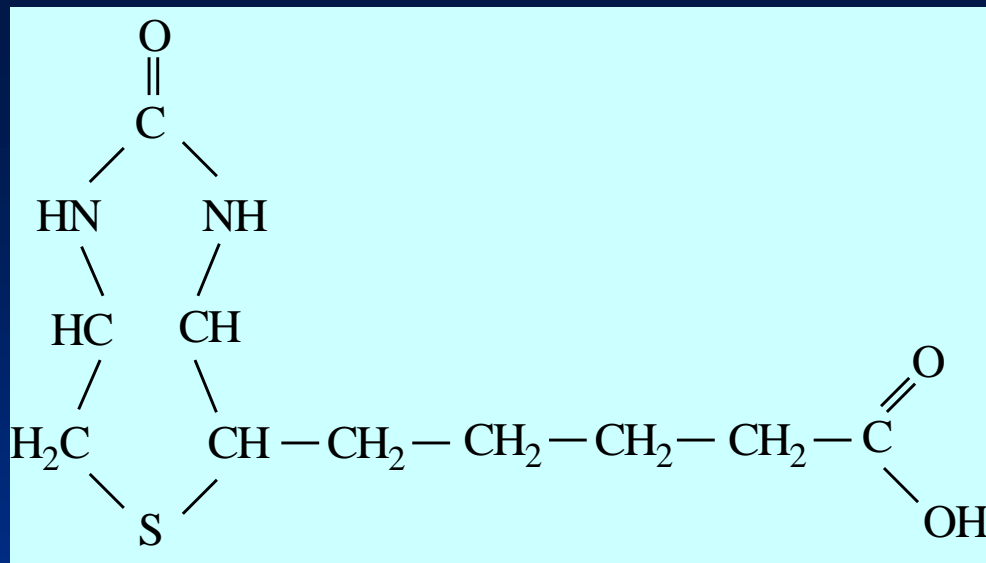
2- ATP ye bağı karboksilasyon reaksiyonlarını katalize eden enzimler için koenzim görevi yapar.

Koenzimi olduğı enzimin, aktif bölgesindeki lizinin amino grubu ile biotinin karboksilat grubu arasında bir amid bağıının oluşması ile kovalan olarak bağı biotinil - lizin artığı meydana gelir, buna biositin denir.

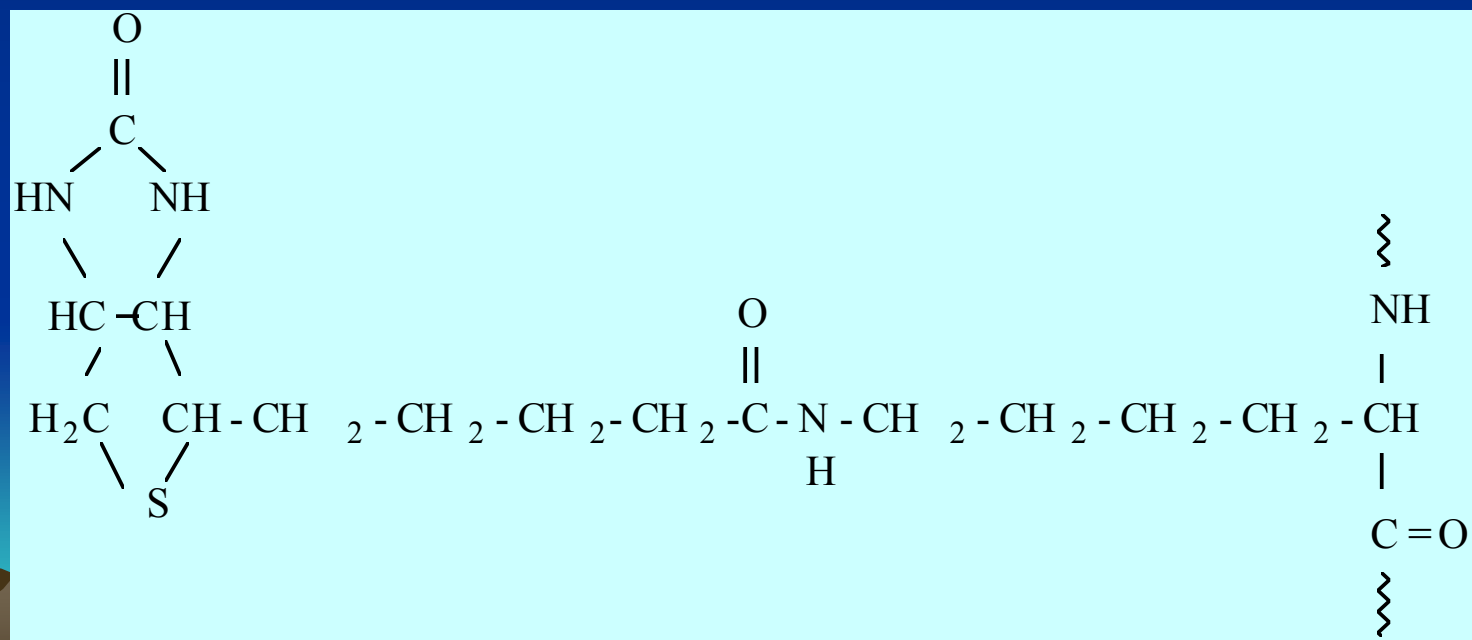


Burada piruvat karboksilaz, 3 karbonlu asit olan piruvatın birçok metabolik yolda substrat olan 4 C'lu okzalasetata, bikarbonat vasıtasıyla karboksilasyonunu katalize eder. Bu reaksiyon 2 safhada meydana gelir: Birinci safhada biotin, bikarbonat ve ATP' den karboksi biotin oluşur, sonra piruvatın enol formuna karboksibiotin'den karboksil grubu transferi yapılır ve biotin yeniden şekillenirken okzalasetat teşekkül eder.

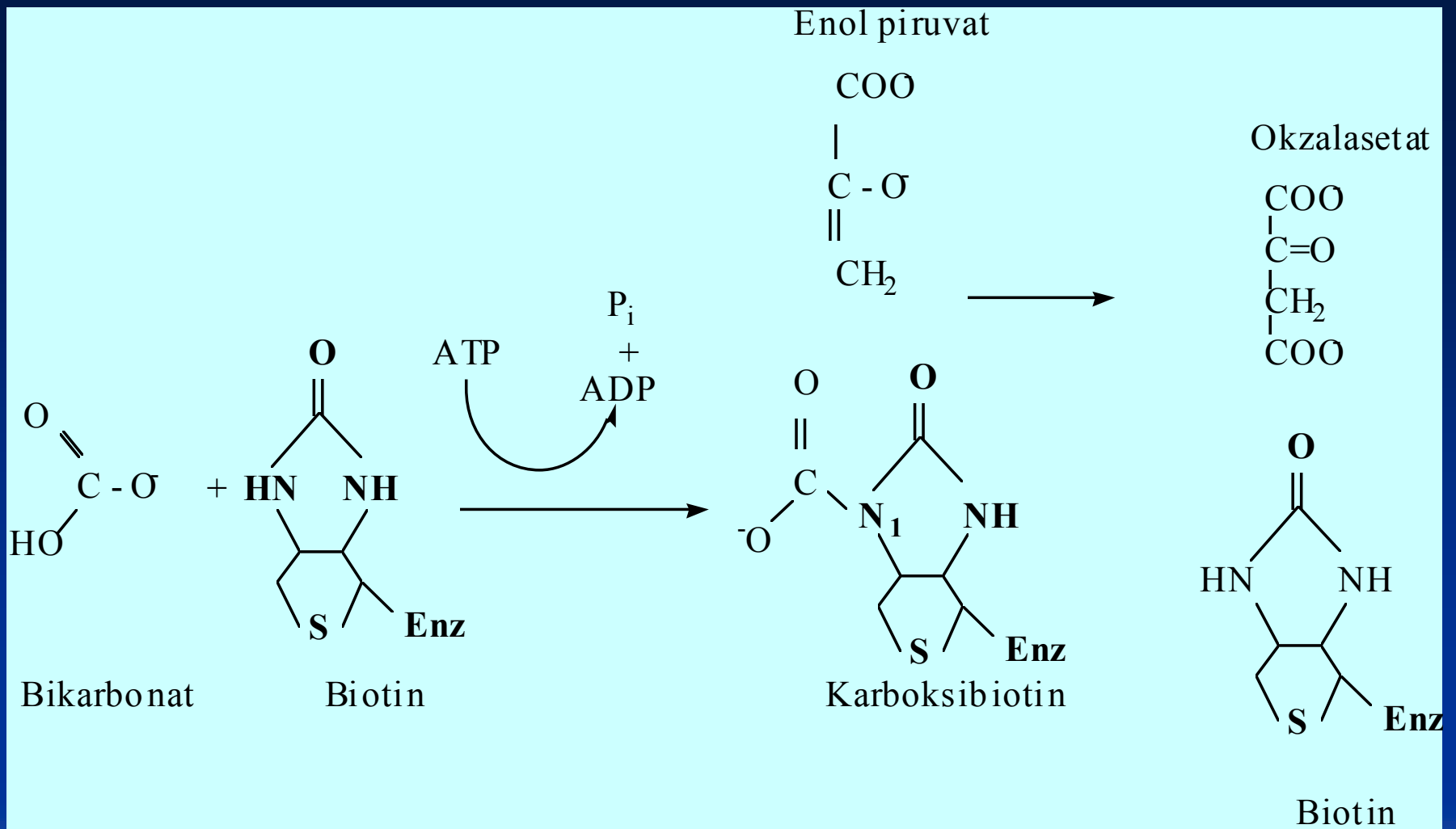




Biyotin Yapısı



Biyositin yapısı



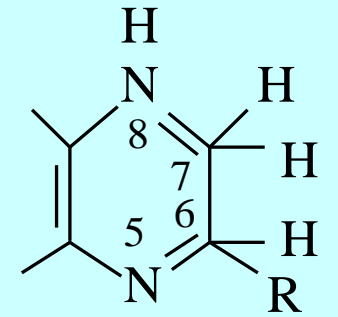
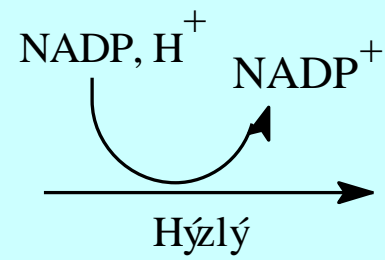
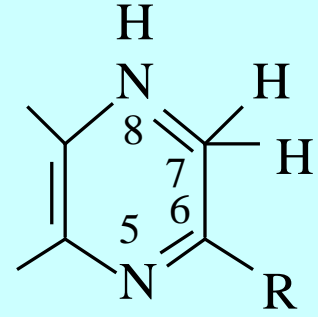
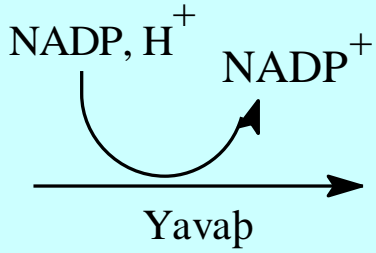
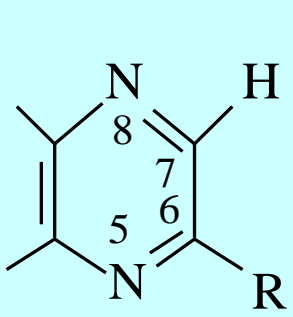
Piruvat karboksilaz reaksiyonunda biotin

6-Tetrahidrofolat (FH4)

Folik asitin koenzim formu olan tetrahidrofolat, folik asitin indirgenmesiyle meydana gelir ve FH₄ olarak gösterilir.

FH₄, bir C'lu birimlerin metabolizmasına katılır. Bir antikanserojen etki yapan methotexat, tetrahidrofolat'ın timidilat sentetaza bağlanmasını inhibe ederek etki yapar, sonuçta DNA sentezi yavaşlar veya tamamen durur ve böylece kanser hücrelerinin çoğalması da yavaşlatılmış olur.





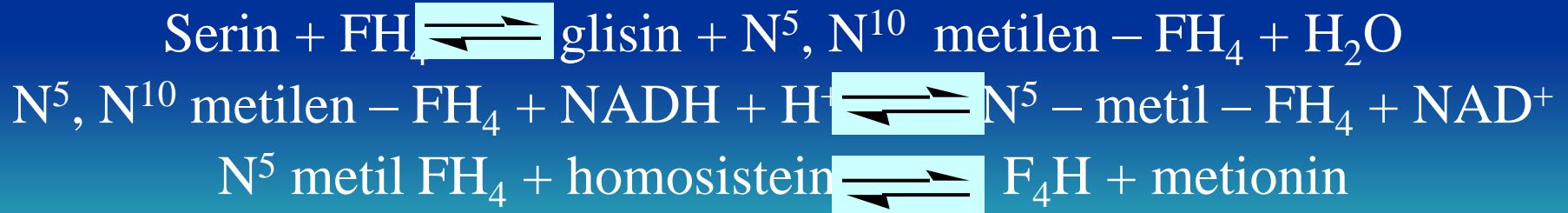
Folat

7,8-Dihydrofolat

5,6,7,8-Tetrahydrofolat

Dihydrofolat redüktazın başlıca metabolik fonksiyonu, deoksitimidin monofosfat'ın (dTMP) metil grubunun biyosentezi sırasında teşekkül eden dihydrofolatın indirgenmesidir. Tetrahydrofolat türevinin kullanıldığı bu reaksiyon DNA biyosentezi ve dolayısıyla hücre bölünmesinde önemli bir safhadır. Hücre bölünmesindeki önemli rolünden dolayı dihydrofolat redüktaz üzerinde kanser tedavisinde önemli bir kemoterapi hedefi olarak çalışılmaktadır.

FH4, hidroksimetil (-CH2OH), formil (-CHO) veya metil (-CH3) gruplarının bir metabolitten diğere transfer veya birbirine değişimini kapsayan birçok enzimatik reaksiyonda bu grupların ara taşıyıcısı olarak rol oynar. N⁵, N¹⁰- metilen tetrahidrofolat ve bunun türevleri, amino asit, purin ve pirimidin ara metabolizmasında yer alır. Örnek; serin aminoasitinin hidroksimetil grubu, tetrahidrofolatın N⁵, N¹⁰ metilen türevini meydana getirmek için enzimatik olarak ayrılır ve bu da N⁵ metil türevine indirgenir. N⁵ metil türevi ise metil grubunu homosisteine verir ve metionin meydana gelir. Burada tetrahidrofolat bir karbonlu gruba geçici bir taşıyıcılık yapmış olur.



(Keza bu reaksiyonlardan biri de timidilat sentetaz(dTMP-sentetaz) tarafından katalize edilir. Timidilat sentetaz inhibisyonu, DNA biyosentezini yavaşlatır ve bu suretle kanser hücrelerinin çoğalması önlenir.) Yine antikanser madde olan “methotexat “, tetrahidrofolat’tan meydana gelir. Bu madde tetrahidrofolat’ın görev aldığı biyokimyasal reaksiyonlar için güçlü bir inhibitördür.

FH_4 , hidroksimetil ($-CH_2OH$), formil ($-CHO$) veya metil (CH_3) gruplarının bir metabolitten diğerine transfer veya birbirine değişimini kapsayan birçok enzimatik reaksiyonda bu grupların ara taşıyıcısı olarak rol oynar.

Sülfanomid antibiyotikler, folik asidin kaynağı olan dihidroptorik asidin biyosentezini inhibe etmek suretiyle etki yapar. Bu koenzimden mahrum bakteriler hayatlarını sürdüremezler.

7-Koenzim A (CoA, CoASH)

(Pantotenik asidin koenzim şekli)

İlk olarak 1940'ların ortalarında biyolojik asetilasyonlar için gerekli bir kofaktör olarak tanımlanmıştır.

Bugün koenzim A'nın başlıca aktif(=açıl) grubu reaksiyonlarında rol oynadığı anlaşılmıştır.

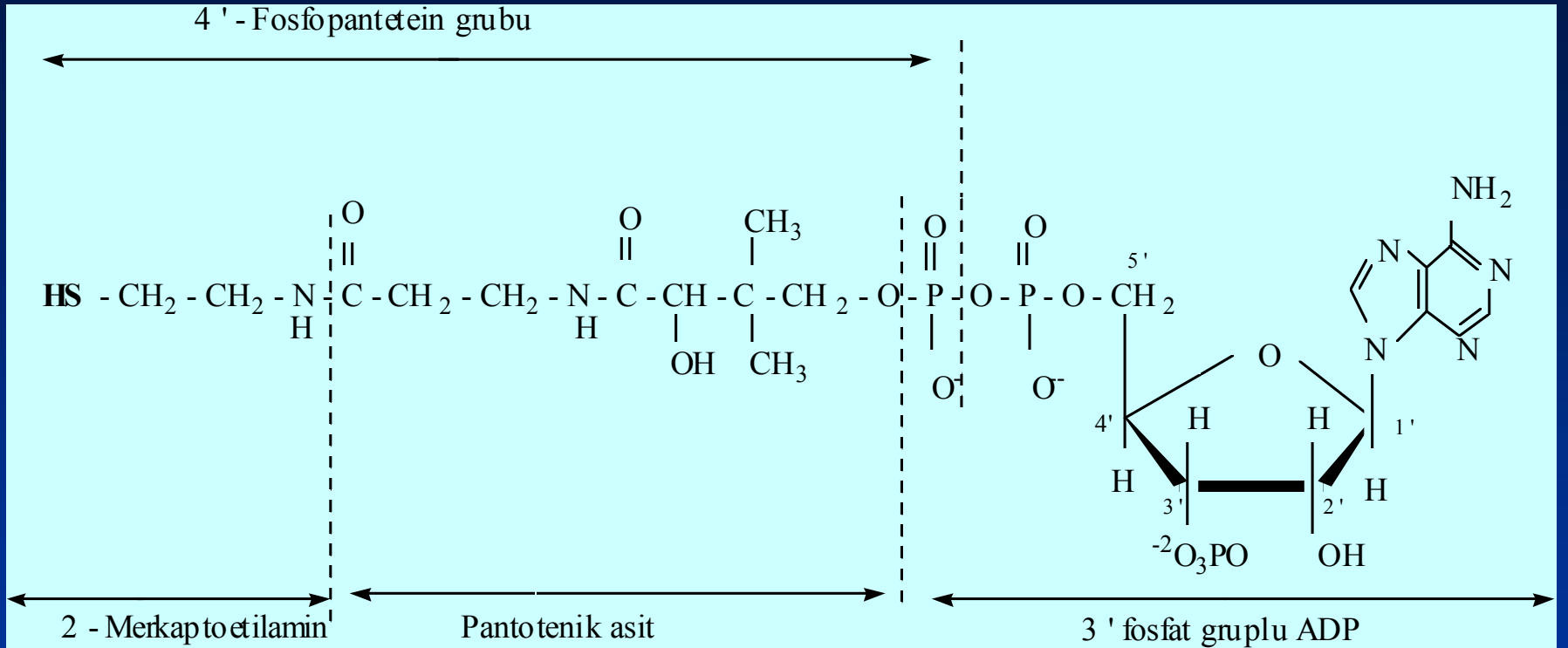
CoA yağ asidi oksidasyonlarında, yağ asidi sentezinde, piruvat oksidasyonunda ve biyolojik asetilasyonlardaki enzimatik reaksiyonlarda aktif grubu taşıyıcısıdır.





1940'ların sonunda Fritz Lipmann tarafından açıklanmış olan koenzim A' nın yapısında üç ana kısım bulunur. Bunlar;

- **Koenzimde akilasyon ve deakilasyon bölgesi olan -SH grubunun bulunduğu 2-merkaptoetil amin ünitesi,**
- **β -alaninin amidi ile pantoik asitten kurulu olan pantotenik asit ünitesi ve**
- **3 hidroksil grubunun fosforik asitle esterleşmiş olduğu ADP'dir.**



Koenzim A'nın yapısı



Yukarıdaki şekilde görüldüğü gibi molekülü iki fosforil grubu arasından bölerek CoA'dan, 3'-fosfo-AMP kısmı ayrılırsa geriye kalan, 2-merkaptoetilamin ve pantotenat artığı ihtiva eden fosfat esterine fosfopantetein denir.

Fosfopantetein 77 aminoasit artığından kurulu ufak bir protein olan akil taşıyıcı protein (ACP)'in prostetik grubudur. Prostetik grup 36 numaralı serin'in yan zincirinin oksijeninden ACP ile esterleşir. ACP'nin prostetik grubunun -SH grubu, yağ asiti biyosentezindeki ara ürünlerin akilasyon merkezi görevi yapar.

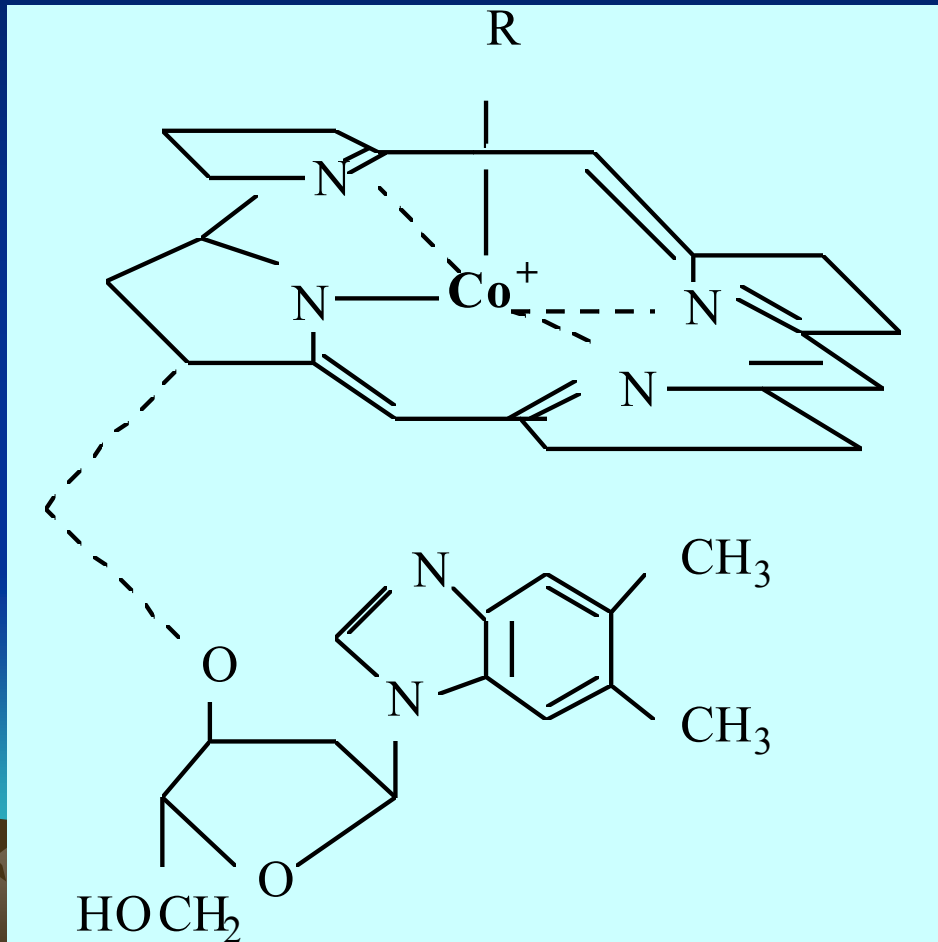
ACP de fosfopantetein grubu akil gruplarının biyolojik transferi için gerekli yapıdır.



8-Vit B₁₂

Adenozil kobalamin ve metil kobalamin

B₁₂ vitamininin kobalt atomuna 5'-deoksi adenozil grubu bağlanmışsa adenozil kobalamin, metil grubu bağlanmışsa metil kobalamin ismini alan koenzim formları vardır.



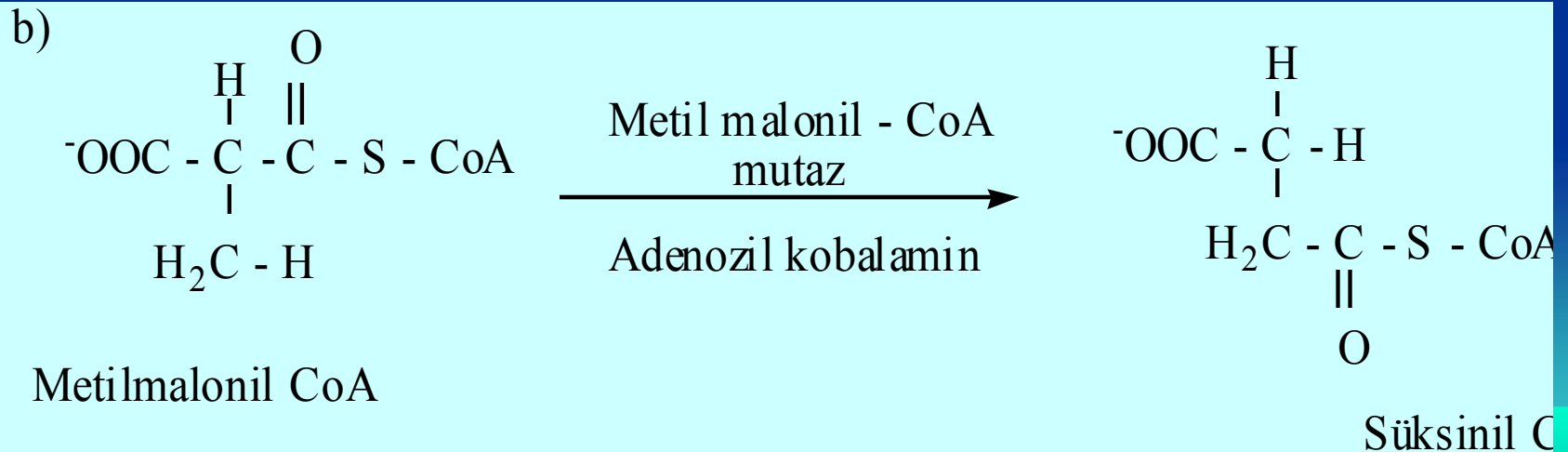
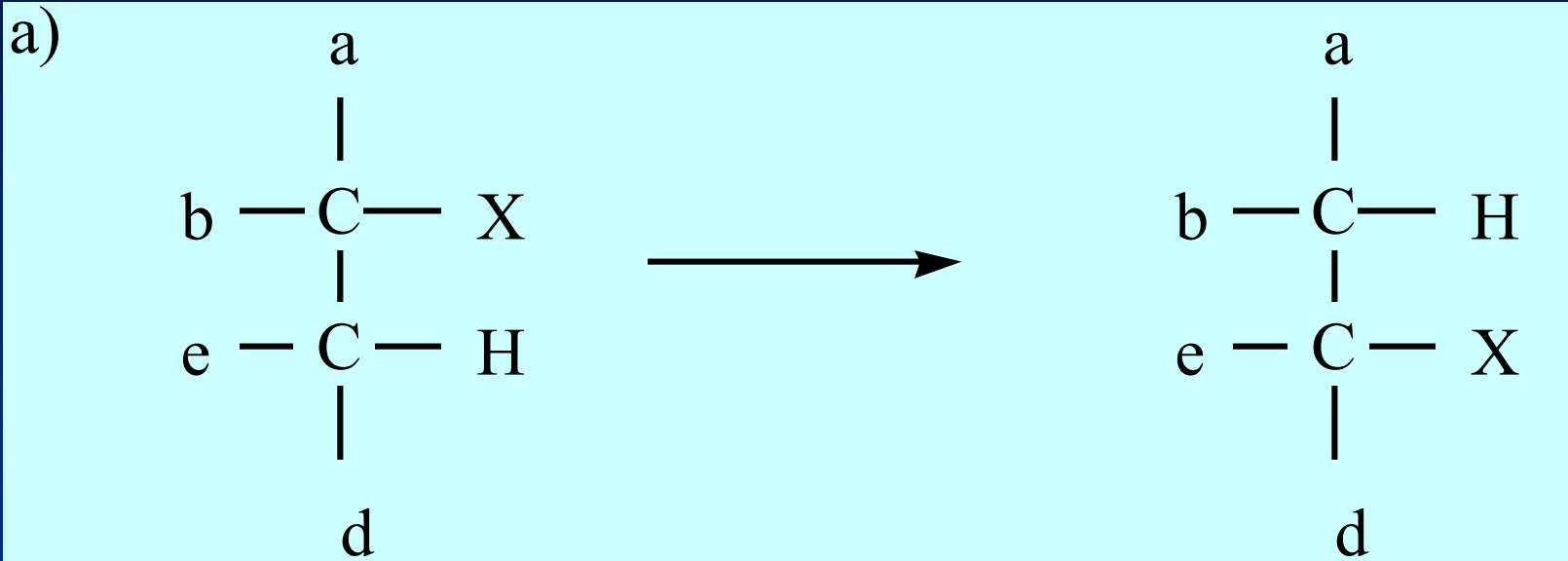
B12 vitamininin
kısaltılmış düz korrin
halkası

B₁₂ vitamininin çoğu absorbe edildikten sonra enzimatik redüksiyon ve ATP ile reaksiyon sonucu adenzil koenzim türevine çevrilir.

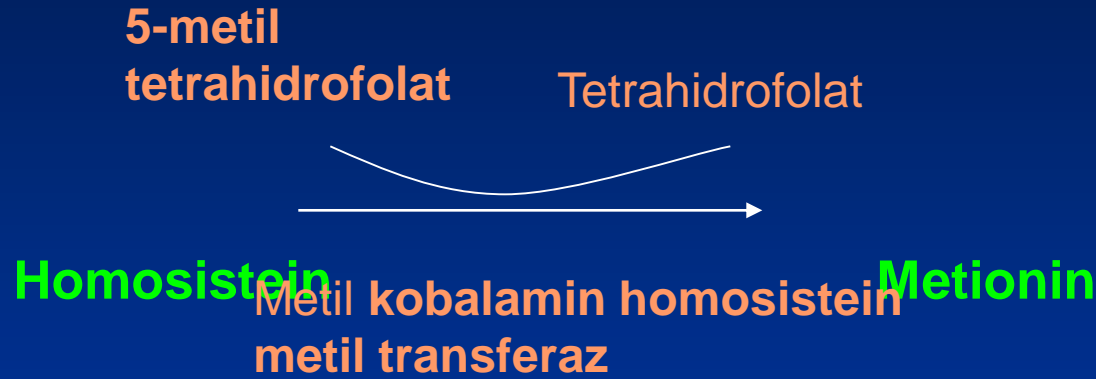
Adenzil kobalamin enzimle katalize edilen, molekül içi yeniden düzenleme reaksiyonlarında rol oynar. Bu reaksiyonlarda substrattaki H atomu, bunun bağlı olduğu karbona komşu olan karbona bağlı grupta yer değiştirir. Buna örnek olarak sitrik asit siklusu ara ürünü olan süksinil CoA'nın şekillenmesini sağlayan tek karbonlu yağ asitleri metabolizmasındaki metil malonil CoA mutaz reaksiyonu verilebilir.



Adenozil kobalamin enzimleri ile katalize edilen intramoleküler yer değiştirme reaksiyonları



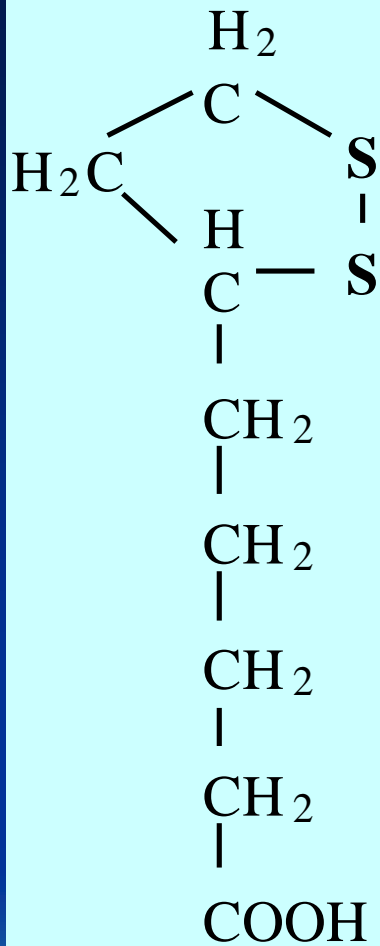
Metil malonil, N⁵ metil tetrahidrofolattan belirli metil alıcılarını metil grubu taşıyıcısı rolü oynar. Böyle bir reaksiyonla homosisteinden metionin meydana gelir.



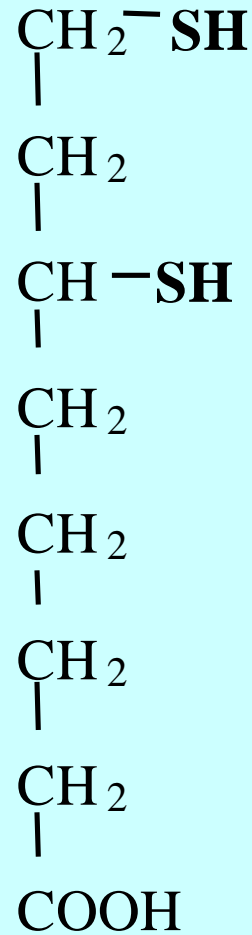
9-Lipoik Asit

Lipoik asit ilk olarak 1951 yılında Lester Reed ve arkadaşları tarafından 10 ton sığır karaciğerinden 30 mg miktarında elde edilmiştir. Sekiz karbonlu düz zincir ve halkalı bir disülfid yapısındaki okside formu ile bir de açık zincir şeklinde 6 ve 8. karbonlarında sülfidril grubu taşıyan dihidrolipoik asit formu vardır. Bu iki form oksidasyon-redüksiyon reaksiyonları ile kolayca birbirine çevrilebilir.





Lipoik asit
(Okside form)



Dihidrolipoik asit



Lipoik asit açıl taşıyıcı olup iki e taşımakla görevlidir. α -keto glutarat dehidrogenaz ile piruvat dehidrogenaz olarak bilinen iki multi enzim kompleksi içinde bulunur.

Lipoik asitin karboksilaz grubu, lizin'in amino grubuyla amid bağı ile bağlanırsa dihidrolipoillizin meydana gelir. Bu yapı piruvat dehidrogenaz kompleksi ve α -ketoglutarat dehidrogenaz kompleksinin protein yapı taşı olan dihidrolipoamid akil transferazlarda bulunur. Bu multi enzim kompleksleri sitrik asit siklusu ile ilgili olup, α -ketoasit dehidrogenazlar olarak rol oynarlar.

**Lipoik asit çeşitli koenzimlerin iştirak ettiği (NAD ve FAD gibi),
piruvatın diğer α -keto asitlere oksidatif dekarboksilasyonunda rol
oynayan koenzimlerden biridir.**



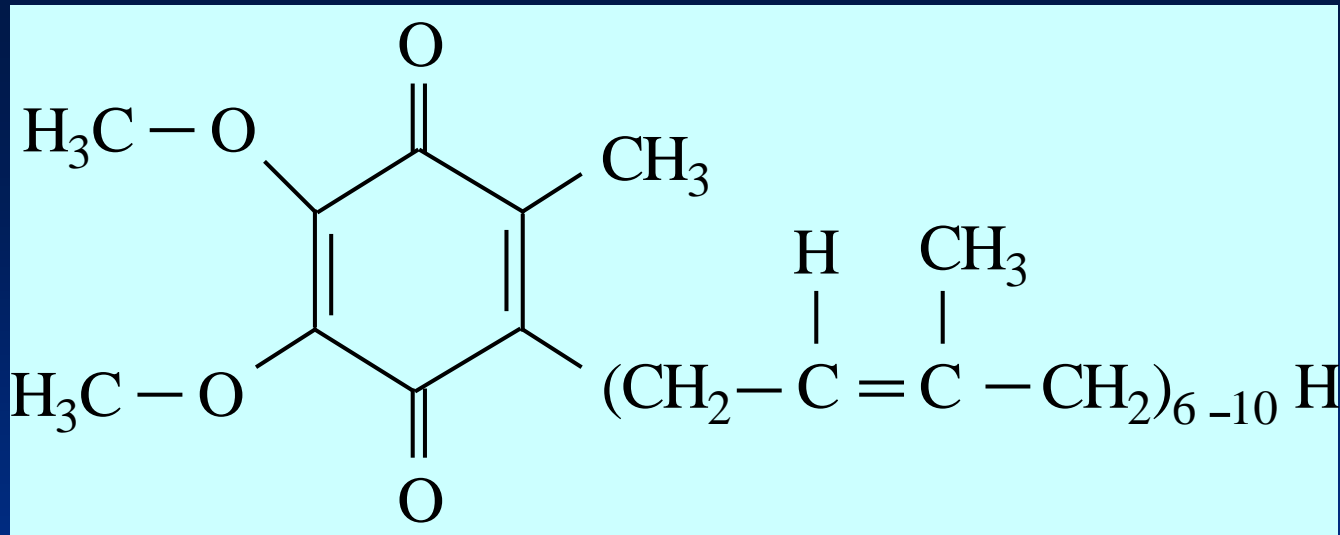
10-Ubikinon (Koenzim Q)

Koenzim Q insan dahil birçok organizma tarafından sentez edilir.

Bir vitamin değildir, fakat yapısı vit K ile benzerlik gösterir.

Mitokondria iç membranında ubikinon, elektronları membran içindeki enzim kompleksleri arasında nakleder. Sonra koenzim Q solunum zincirinde görev alan lipitde eriyebilir bir e ve proton taşıyıcısıdır.





Ubikinon

NAD⁺ veya flavinli koenzimlerden daha kuvvetli bir oksidatif etkiye sahiptir.

11-Bazı Aminoasit Artıklarının Modifiye Olmasıyla Meydana Gelen Prostetik Gruplar

Son zamanlarda belirli bazı enzimlerde aminoasit artıklarının katalitik rolleri olduğu tespit edilmiştir. Enzimin aktif bölgesindeki aminoasitlerde meydana gelen modifikasyonla, modifiye aminoasitler enzim için prostetik grup rolü oynarlar. Bunların en iyi incelenmiş olanı, bakteriyel histidin dekarboksilazın aktif bölgesinde, serin artığının piruvat artığına çevrilmesidir.



Koenzim Olarak Kabul Edilebilen Grup Transfer Proteinleri

Reaksiyonları kendileri katalize etmeyen fakat belirli

enzimlerin aktivasyonu için gerekli olan bazı proteinler de, koenzim

gibi rol oynarlar. Bu proteinlere grup transfer proteinleri veya

protein koenzimler denir. Bunlar genellikle düşük molekül ağırlığına

sahiptirler ve tipik enzimlerden ısıya daha dayanıklıdırlar.

Bunlar arasında **sitokrom c**, **ferrodoksin** ve **asil taşıyıcı**

protein (ACP) vardır.

