

ЛЕКЦІЯ 5

Тема: Активність ферментів в онтогенезі.

План:

1. Будова та властивості ферментів
2. Механізм дії ферментів
3. Фактори, що впливають на активність ферментів
4. Зміни ферментного складу в онтогенезі

1. Будова та властивості ферментів

При м'язовій діяльності та відновленні організму значно змінюється швидкість біохімічних реакцій, що пов'язано зі змінами активності або кількості ферментів. Ферменти використовують для діагностики та як лікуванні препарати.

Ферменти – це білки, що є біологічними каталізаторами, які регулюють швидкість біохімічних реакцій.

Специфічні властивості ферментів:

1. Прискорюють реакції у більшому ступені, ніж неорганічні каталізатори
2. Не змінюються в процесі реакції.
3. Не змінюють точки рівноваги і напрямку реакції.
4. Каталізують реакції в мікрокількостях.
5. Специфічність дії
6. Чутливість до температури
7. Чутливість до рН

За будовою вони бувають: **прості** (складаються тільки з білкової частини) та **складні** – (до складу входить також небілкова частина).

Будова складних ферментів:

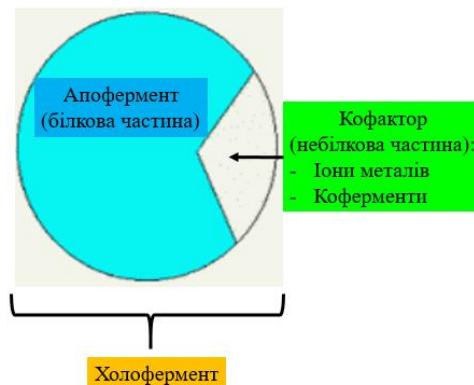


Рисунок 1 – Будова складного ферменту

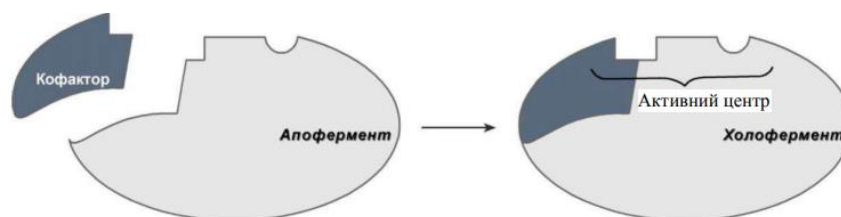


Рисунок 2 - Схема формування складного ферменту (холоферменту)

Коферменти відповідно до їх хімічної природи поділяють на дві групи: вітамінні та невітамінні. Найчастіше коферментами виступають похідні вітамінів.

Та частина молекули ферменту, яка сполучається із субстратом, називається активним центром ферменту. Активний центр складних (двокомпонентних) ферментів містить у своєму складі як кофермент, так і ту частину апоферменту, що просторово прилягає до нього. Кофермент при цьому може відповідати за утворення зв'язку із субстратом, формування третинної або четвертинної структури апоферменту і каталітичне перетворення субстрату. В активному центрі ферменту умовно розрізняють так звану каталітичну ділянку, де відбувається каталітичне перетворення субстрату, і контактну, або якірну, що зв'язує фермент з субстратом.

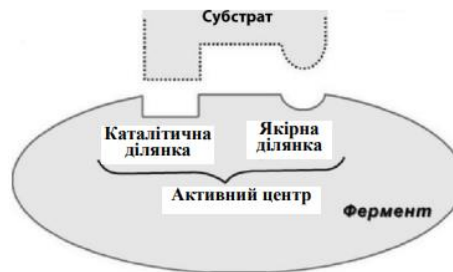


Рисунок 3 – Ділянки активного центру

За утворення активного центру ферменту, як і за його каталітичну дію, відповідає третинна структура білкової молекули. Отже, при порушенні третинної структури (денатурація) просторово роз'єднуються поєднані амінокислотні залишки, що утворювали активний центр і, як наслідок, фермент втрачає активність.

Крім активних центрів, у ферментах можуть бути ще так звані алостеричні центри (від грец. allos – інший, другий; stereo – просторовий, структурний). Алостеричні центри служать місцем впливу на фермент різних регуляторних чинників, тому їх ще називають регуляторними центрами, а речовини, що взаємодіють з алостеричним центром, отримали назву ефекторів.

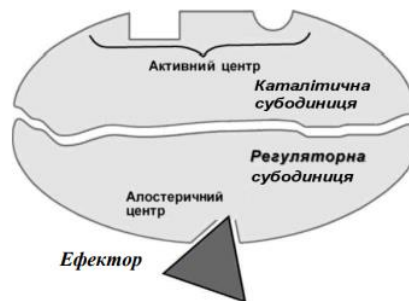
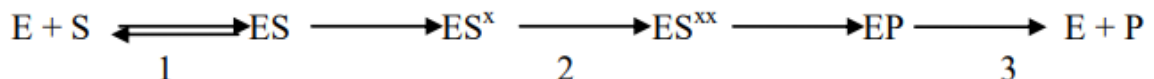


Рисунок 4- Алостеричний фермент

Схематичне зображення алостеричного ферменту. Приєднання до алостеричного центру ефектора призводить до певних структурних змін в активному центрі та, як наслідок, до пригнічення або підвищення активності ферменту. Ефекторами можуть служити продукти ферментативних реакцій, гормони, медіатори нервової системи, метали. Фермент може мати декілька алостеричних центрів. Важливо зазначити, що алостеричні й активні центри у ферментах просторово відокремлені, тобто знаходяться один від одного на певній відстані.

2. Механізм дії ферментів:

Ферменти взаємодіють із своїм субстратом з утворенням фермент-субстратного комплексу (ES), який розпадається на фермент та продукт реакції (P) за таким рівнянням:



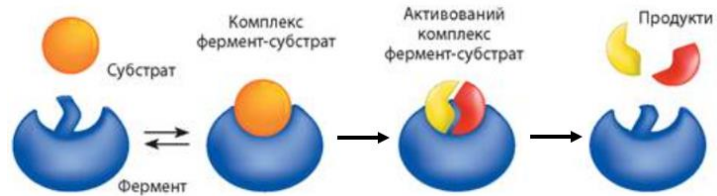


Рисунок 5 – Механізм дії ферментів

1-а стадія – зв'язування субстрату з активним центром ферменту, тобто утворення фермент-субстратного комплексу (ES);

2-а стадія – перетворення первинного фермент-субстратного комплексу на один або декілька активних фермент-субстратних комплексів (ES_x та ES_{xx});

3-я стадія – відокремлення продуктів реакції від активного центру ферменту і вивільнення ферменту та продукту (E та P).

Після перетворення речовини фермент не змінюється і може знову каталізувати реакції.

У загальному вигляді все зводиться до комплементарної взаємодії ферменту та субстрату. При цьому функціональні групи субстрату взаємодіють з відповідними функціональними групами ферменту. Наявність субстратної специфічності пояснюють дві гіпотези:

1. Теорія Фішера (модель «жорсткої матриці», «ключ-замок», 1897) - активний центр ферменту суворо відповідає конфігурації субстрату і не змінюється при його приєднанні. Ця модель добре пояснює абсолютну специфічність, але з групу.



2. У 1958 р. Деніел Кошланд запропонував модифікацію моделі «ключ-замок». Ферменти переважно не жорсткі, а гнучкі молекули. Активний центр ферменту може змінити конформацію після зв'язування субстрату. Бічні групи амінокислот активного центру приймають таке положення, що дозволяє ферменту виконати свою функцію каталітичну. У деяких випадках молекула субстрату змінює конформацію після зв'язування в активному центрі. Ця модель отримала назву «рука-рукавичка».



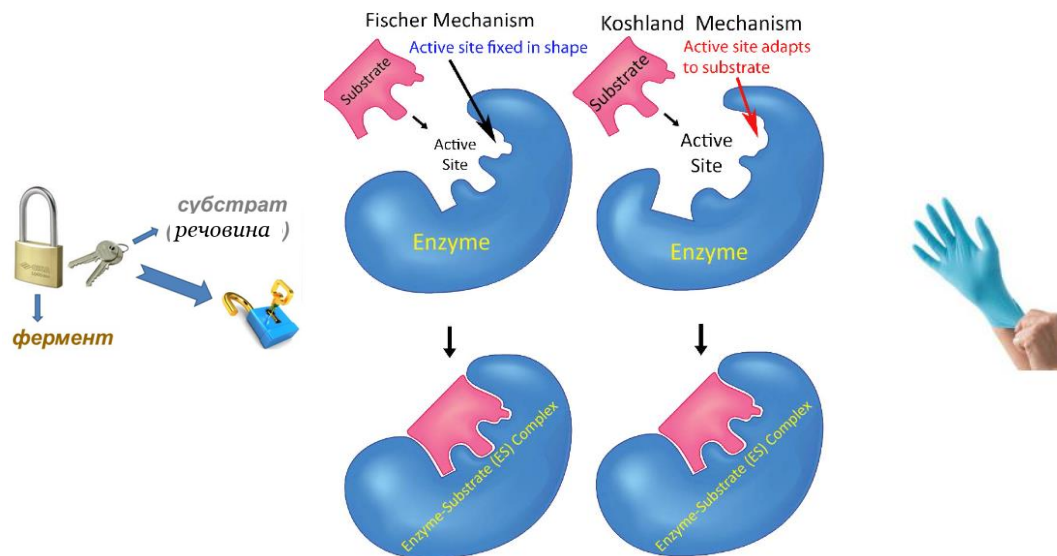


Рисунок 6 – Модель «замка і ключа» Фішера (зліва) та модель індукованої відповідності Кошланда

3. Фактори, що впливають на активність ферментів:

Робота ферментів залежить від конфентрації субстрату (S) (а), температури (б), величини рН (в).

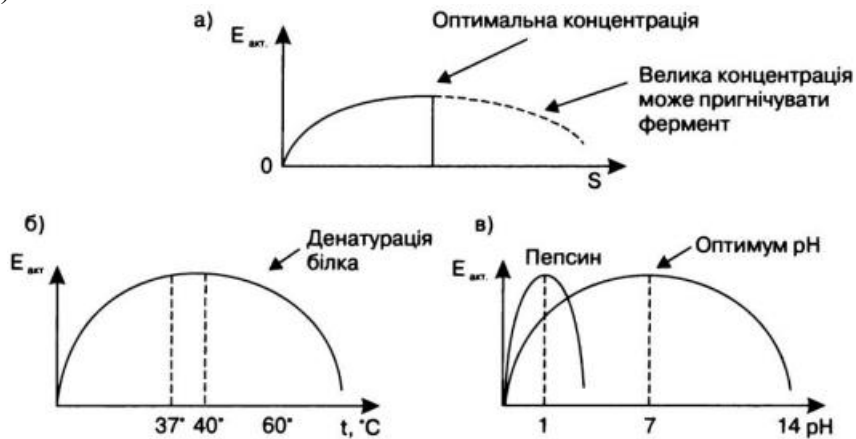


Рисунок 7 – Вплив різних факторів на активність ферментів

Одноразові фізичні навантаження змінюють активність різних ферментів у клітинах. Систематичні тренування підвищують активність ферментів, особливо енергетичних систем. Наприклад, активність ферментів гліколізу у м'язах спортсменів різних видів спорту збільшується на 10-40 %, а ферментів аеробного енергоутворення на 100-150 %. Також м'язова адаптація до тренувань пов'язана зі збільшенням кількості окремих ферментів.

Фізичні перевантаження, патологічні зміни у тканинах організму викликають вихід внутрішньоклітинних ферментів у кров та перерозподіл їх між тканинами, що визначається під час діагностування.

4. Зміни ферментного складу в онтогенезі

Ферментний склад клітин визначається функціональними особливостями органів та

тканин. У ядрі клітини міститься генетична інформація про синтез великої кількості білків (ферментів).

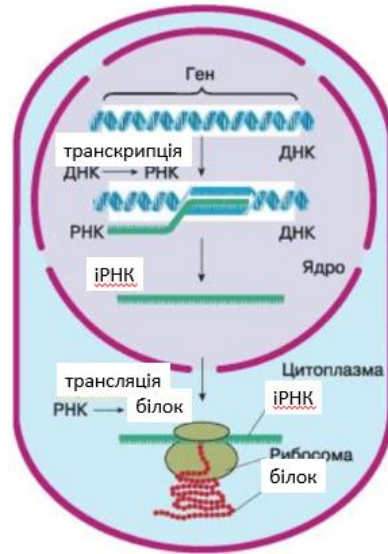


Рисунок 8 – Реалізація генетичної інформації

Однак клітини ніколи не синтезують усі ферменти одночасно. Кількість та різноманітність білків і, зокрема, ферментів визначається ступенем їхньої участі у метаболізмі. У процесі зростання змінюється метаболічна активність тканин, тобто змінюється швидкість обміну речовин та окремих метаболічних шляхів, тому в ході розвитку від заплідненого яйця до дорослого організму спостерігається виражена динаміка експресії ферментів.

Експресія генів - це процес, в ході якого спадкова інформація від гена (послідовності нуклеотидів ДНК) перетворюється на функціональний продукт - РНК або білок. У данному випадку – фермент.

Це означає, що синтез ферментів відбувається у різних тканинах із різною швидкістю. Крім того, у клітині синтезуються тільки ті ферменти та в таких кількостях, які необхідні для виконання фізіологічних функцій саме на даному етапі онтогенезу, у конкретній метаболічній ситуації. Цей факт є відображенням метаболічної адаптації організму, особливостей функціонування органів та систем на певному етапі онтогенезу.

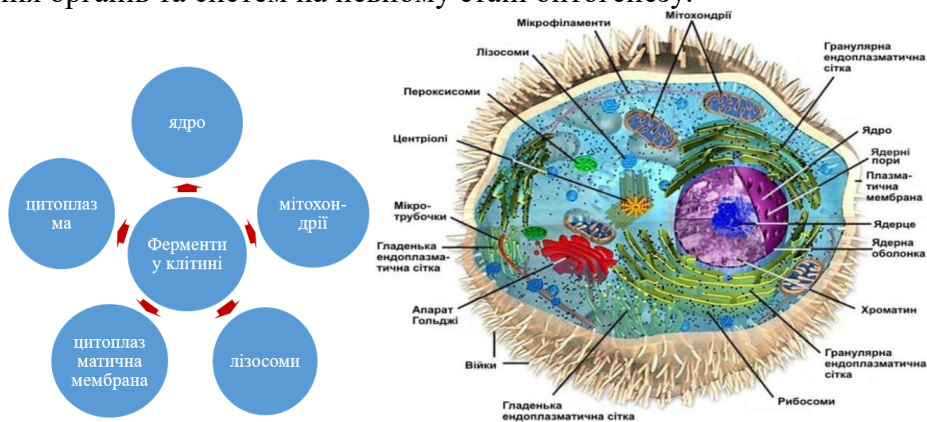


Рисунок 9 – Локалізація ферментів у клітині

Вікові зміни метаболізму, що включають зміну ферментного складу та активності

ферментів у клітинах, йдуть паралельно з диференціюванням тканин та зумовлені генетичними та епігенетичними механізмами, тобто. є наслідком диференціальної експресії генів, процесу, що під істотним впливом чинників довкілля.

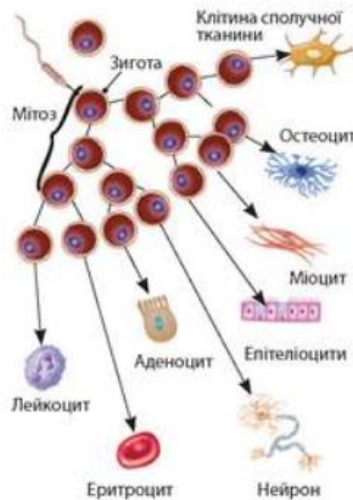


Рисунок 10 – Схема диференціації клітин

В результаті диференціальної експресії одні гени репресуються, а з інших продовжується зчитування генетичної інформації. На різних етапах розвитку відбувається включення нових регуляторних генів і, як наслідок цього, поява ферментів (або ізоферментів), притаманних більш зрілим тканинам, відповідно до значущості та функції ферменту в клітині.

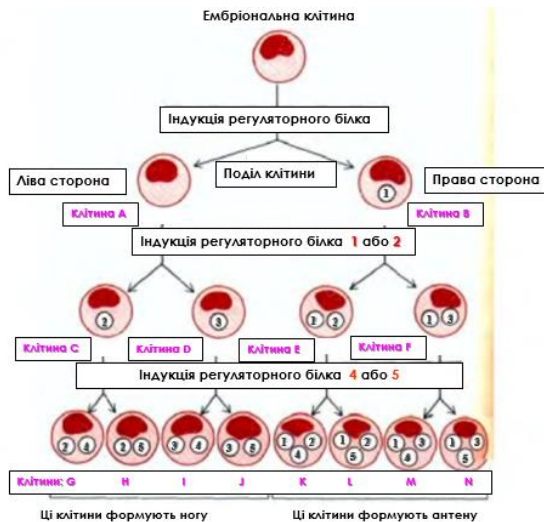


Рисунок 11 – Комбінаційна регуляція активності генів дрозофіли

Активність ферментів у тканинах може варіювати внаслідок:

- 1) зміни їхньої кількості (внаслідок збільшення чи зменшення швидкості синтезу чи розпаду),
- 2) зміни якісного складу (набору) ферментів (зникнення одних ферментів, поява інших):

а) Деякі ферменти відсутні на ранніх (**доембріональних**) стадіях розвитку. Наприклад, **незапліднена яйцеклітина** знаходиться як би в дремаючому, нефункціонуючому стані; отже, вона **не потребує активного перебігу метаболічних шляхів, що забезпечують клітину енергією**. Тому в незаплідненій яйцеклітині не містяться цитохромоксидази (фермент дихального ланцюга, що беруть участь в утворенні АТФ) та лактатдегідрогеназу (ЛДГ,

фермент гліколізу - метаболічного шляху, що також здійснює енергозабезпечення клітини). Однак ці ферменти експресуються (з'являються) відразу після запліднення яйцеклітини, як тільки починається розвиток ембріона (розподіл клітин).

б) У печінці плода практично відсутні реакції глюконеогенезу (шлях синтезу глюкози з неуглеводних попередників та проміжних продуктів обміну речовин), оскільки у внутрішньоутробному періоді плід постійно отримує глюкозу трансплацентарно з крові матері. Здатність печінки до глюконеогенезу швидко підвищується після народження за рахунок експресії ключових ферментів цього метаболічного шляху, що дає можливість підтримувати рівень глікемії у проміжках між їдою.

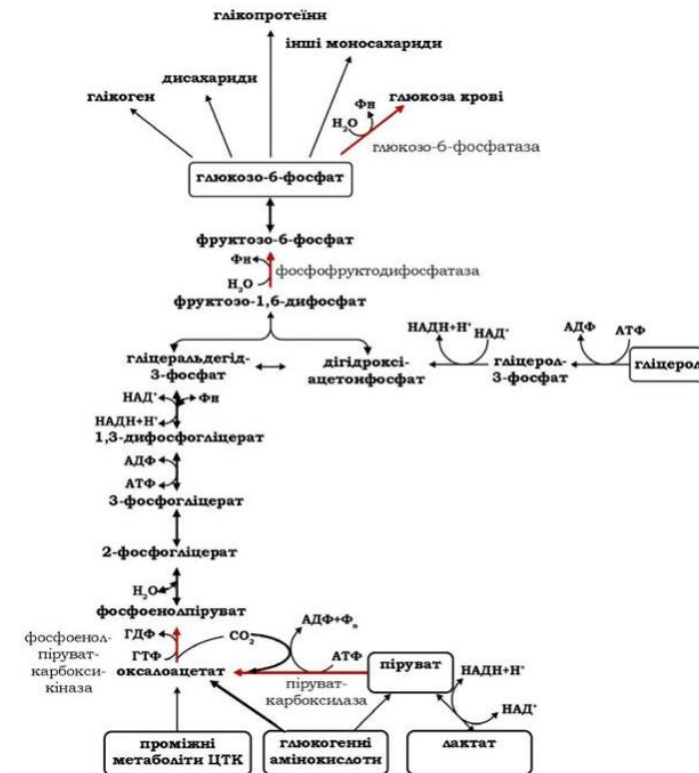
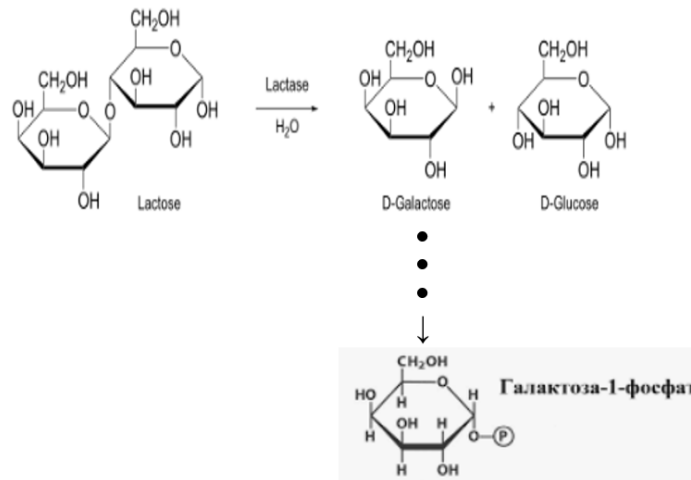


Рисунок 12 – Глюконеогенез

в) У клітинах печінки у новонароджених швидко відбувається збільшення активності галактокінази, що спричинено надходженням в організм великої кількості дисахариду лактози (глюкоза+галактоза), що міститься у материнському молоці. У внутрішньоутробному періоді цей фермент у тканинах відсутній.



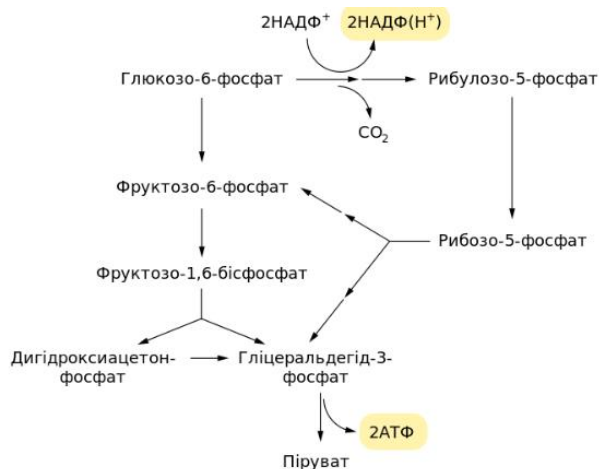
Галактокіназа - фермент, що полегшує фосфорилювання α -D-галактози до галактозо-1-фосфату за рахунок однієї молекули АТФ.

г) У ранньому неонатальному періоді активність низки ферментів знижується, особливо тих, які пов'язані з специфічними особливостями обміну речовин, розвитком органів та тканин у внутрішньоутробному періоді. До цієї групи належать ДНК-полімерази, ферменти анаеробного гліколізу та пентозофосфатного шляху (ПФП).

ДНК-полімераза (фермент синтезу ДНК) надзвичайно активна у внутрішньоутробному періоді та на першому році життя дитини у зв'язку з високою інтенсивністю поділу клітин і, отже, високою потребою у подвоєнні генетичного матеріалу. Із уповільненням темпу поділу клітин активність цього ферменту знижується.

Анаеробний гліколіз, що активно протікає у плода та новонародженого, і забезпечує стійкість організму до гіпоксії, поступово змінюється до 3-4 місяця життя аеробним гліколізом, що більш ефективно забезпечує потреби організму в енергії.

Активність ферментів ПФП у плода в 2 рази вища, ніж у новонародженого, що зумовлено необхідністю синтезу фосфопентоз (компонентів нуклеїнових кислот), а також НАДФН, що беруть участь у синтезі жирних кислот та холестерину – компонентів мембран клітин, що проліферують.



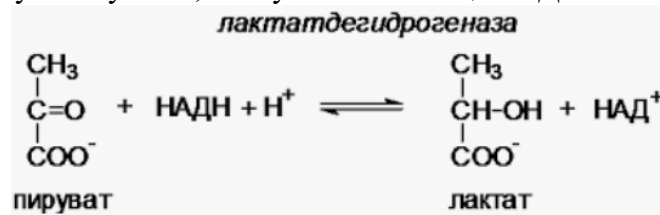
Синтаза жирних кислот особливо активна у тканинах плода у внутрішньоутробному періоді, коли цей фермент забезпечує напрацювання жирних кислот для побудови фосфоліпідів мембран та накопичення жирової тканини до моменту народження. Відразу після народження активність цього ферменту знижується (оскільки у новонародженого активно протікає ліполіз) і залишається низькою протягом усього періоду

грудного вигодовування (бо харчування молоком забезпечує надходження в організм дитини необхідної кількості готових жирних кислот). Після припинення грудного вигодовування активність синтази жирних кислот знову зростає.

З віком у дитини підвищується активність ферментів окиснення жирних кислот та окисного фосфорилування. Це свідчить про наростання в тканинах інтенсивності обмінних процесів, загалом, та окислювально відновлювальних процесів – зокрема.

Активність оксидоредуктаз у різних органах змінюється неоднаково. Найбільш значно вона збільшується у печінці. Активність багатьох ферментів, підвищуючись після народження, досягає рівня дорослих у час, залежно від органу, тканини, і навіть від особливостей генотипу дитини.

д) У результаті *індивідуального розвитку організму*, внаслідок виборчої експресії генів, **з'являються тканинспецифічні спектри ізоферментів**. У дорослих у серці міститься ізоформа лактатдегідрогенази ЛДГ1, у печінці – ЛДГ5. У тканині печінки та міокарді ембріона переважає фракція ЛДГ3. У процесі зростання активність ЛДГ1 у міокарді наростає, а в печінці кількість цього ізоферменту знижується, поступаючись місцем ЛДГ5.



е) У сироватці крові у новонароджених та дітей першого року життя підвищено активність низки ферментів, внаслідок більш високої проникності клітинних мембран. Принаймні зниження проникності мембран активність цих ферментів наближається до рівня дорослих. Це має місце щодо аспаратамінотрансферази, лужної фосфатази, фруктозо-1,6-дифосфатальдолази, креатинкінази, лактатдегідрогенази.

Одним із потужних факторів, що впливають на становлення активності ферментів органів і тканин організму, що росте, є **харчування**. У дітей з внутрішньоутробною гіпотрофією (ЗВУР, затримка внутрішньоутробного розвитку), що розвивається внаслідок недостатнього надходження компонентів їжі або гіпоксії, активність травних ферментів та ферментів плазми значно знижується. Істотно відрізняється активність ферментів в еритроцитах, лейкоцитах та плазмі крові у здорових доношених новонароджених від показників у недоношених дітей, а також у новонароджених, які народилися у стані асфіксії та гіпоксії.