

Лекція 7. Ферменти.

Ферменти або ензими- органічні каталізатори білкової або РНК природи, які утворюються в живих організмах, здатних прискорювати перебіг хімічних реакцій в організмі. Ферменти каталізують більшість хімічних реакцій, які відбуваються у живих організмах. Вони можуть мати від одного до кількох поліпептидних ланцюгів — субодиниць. Кожен із ферментів має один або більше активних центрів, які визначають специфічність хімічної реакції, що каталізується даним ферментом. Крім активного центру деякі ферменти мають *алостеричний центр*, який регулює роботу активного центру. Ферментативна реакція також може регулюватися іншими молекулами, як білкової природи, так й іншими — активаторами та інгібіторами. Всі біохімічні реакції відбуваються за участю ферментів за нормальним тиском, температурою, у слабкислому, нейтральному чи слаболужному середовищі.

Ферменти РНК-природи називаються рибозимами і вважаються первісною формою ферментів, які були замінені білковими ферментами в процесі еволюції.

Терміни «фермент» і «ензим» можна використовувати як синоніми. Але наука про ферменти називається ензимологією.

Історія дослідження. Термін «фермент» був запропонований у 17ст хіміком ван Гельмонтом для опису механізмів травлення. В кінці 18 -на початку 19 ст вже було відомо, що м'ясо перетравлюється шлунковим соком, а крохмаль перетворюється на цукор під дією слини. Проте механізм цих явищ був ще невідомий. В 19ст Луї Пастер, вивчаючи перетворення вуглеводів в етиловий спирт під дією дріжджів, дійшов до висновку, що цей процес (бродиння) каталізується якоюсь «життєвою силою», що знаходиться в дріжджових клітинах.

Понад сто років тому терміни «фермент» і «ензим» відображали різні погляди Луї Пастера з одного боку та Марселена Бертло і Юстуса Лібіха з іншого в теоретичній суперечці про природу спиртового бродиння. Власне «ферментами» (від лат. fermentum — «закваска») називали «організовані ферменти» (тобто саме живі мікроорганізми), а термін «ензим» (від грец. έν- — «в-» і ζύμη — «дріжджі», «закваска»), запропонований 1876р В. Кюне для «неорганізованих ферментів», що секретуються клітинами, наприклад, до шлунку (пепсин) або кишечника (трипсин, амілаза). За два роки по смерті Пастера 1897 року Едуард Бюхнер опублікував роботу «Спиртове бродиння без дріжджових клітин», в якій експериментально показав, що екстракт клітин дріжджів здійснює спиртове бродиння так само, як і незруйновані дріжджові клітини 1907р за цю роботу він був удостоєний Нобелівської премії.

Функції ферментів. Ферменти є біологічними каталізаторами, вони наявні в усіх живих клітинах і сприяють перетворенню одних речовин (субстратів) на інші (продукти). Ферменти виступають в ролі каталізаторів практично в усіх біохімічних реакціях, що відбуваються в живих організмах — ними каталізується близько 4000 окремих біореакцій. Ферменти грають найважливішу роль у всіх процесах життєдіяльності, скеровуючи та регулюючи обмін речовин організму. Для ферментів характерним є те, що їх синтез та каталітична активність контролюється на генетичному рівні, а також за участю низькомолекулярних сполук-субстратів або продуктів реакції.

Подібно до всіх каталізаторів, ферменти прискорюють як пряму, так і зворотну реакцію, знижуючи енергію активації процесу. Хімічна рівновага при цьому не зсувається ні в прямий, ні в зворотний бік. Відмінність ферментів від небілкових каталізаторів полягає у їхній високій специфічності — константа дисоціації деяких субстратів з білком-ферментом може досягати менш ніж 10⁻¹⁰ моль/л.

Ферменти широко використовуються і в народному господарстві — у харчовій, текстильній промисловості, у фармакології.

Класифікація ферментів

За типом реакцій, що каталізують, ферменти підрозділяються на 6 класів згідно з ієрархічною класифікацією ферментів. Класифікацію було запропоновано Міжнародним союзом біохімії і молекулярної біології. Кожен клас містить підкласи, так що фермент описується сукупністю чотирьох чисел, розділених крапками. Наприклад, пепсин має код КФ 3.4.23.1. Перше число описує клас реакцій, що каталізує фермент:

КФ 1: Оксидоредуктази — ферменти, що каталізують окислення або відновлення.
Приклад: каталаза, алкогольдегідрогеназа

КФ 2: Трансферази — ферменти, що каталізують перенесення хімічних груп з однієї молекули субстрата на іншу. Серед трансфераз особливо виділяють кінрази, що переносять фосфатну групу, як правило, з молекули АТФ.

КФ 3: Гідролази — ферменти, що каталізують гідроліз хімічних зв'язків. Приклад: естерази, пепсин, трипсин, амілаза, ліпопротеїнліпаза

КФ 4: Ліази — ферменти, що каталізують розрив хімічних зв'язків без гідролізу з утворенням подвійного зв'язку в одному з продуктів.

КФ 5: Ізомерази — ферменти, що каталізують структурні або геометричні зміни в молекулі субстрата.

КФ 6: Лігази — ферменти, що каталізують утворення хімічних зв'язків між субстратами за рахунок гідролізу АТФ. Приклад: ДНК-полімераза

Ферменти прискорюють як пряму, так і зворотну реакції, тому, наприклад, ліази здатні каталізувати і зворотну реакцію — приєднання по подвійних зв'язках. Тим не менш напрямок реакції може залучати кілька субстратів і бути таким, що зворотна реакція практично не відбувається.

Найменування ферментів. Зазвичай ферменти іменують за типом реакції, яку він каталізує, додаючи суфікс -аза до назви субстрату (наприклад лактаза — фермент, що бере участь в перетворенні лактози). Таким чином, у різних ферментів, що виконують одну функцію, буде однакова назва. Такі ферменти розрізняють по інших властивостях, наприклад, по оптимальному рН (лужна фосфатаза) або локалізації в клітині (мембранна АТФ-аза). На сьогоднішній момент описано і кілька складніших типів кінетики ферментів. Наприклад, якщо реакція вимагає кількох молекул субстрата або різних субстратів, часто реакція протікає через утворення третинного комплексу. Для дії багатьох ферментів також типове утворення перехідних комплексів (станів), що описується «механізмом пінг-понг».

Структура і механізм дії ферментів. Активність ферментів визначається їхньою тривимірною структурою. Як і всі білки, ферменти синтезуються у вигляді лінійного ланцюжка амінокислот, який згортається певним чином. Кожна послідовність амінокислот згортається особливим чином, і молекула (білкова глобула), що виходить, володіє унікальними властивостями. Кілька білкових ланцюжків можуть об'єднуватися у білковий комплекс. Найбільші рівні структури білків — третинна та четвертинна структури — руйнуються при нагріванні або під дією деяких хімічних речовин. Щоб каталізувати реакцію, фермент повинен зв'язатися з одним або кількома субстратами. Білковий ланцюжок ферменту згортається таким чином, що на поверхні глобули утворюється щілина або западина, до якої приєднуються молекули субстрату. Ця область називається ділянкою (сайтом) зв'язування субстрата. Зазвичай вона збігається з активним центром ферменту або знаходиться поблизу від нього. Деякі ферменти містять також ділянки зв'язування кофакторів або іонів металів. У деяких ферментів присутні також ділянки зв'язування малих молекул, що не беруть безпосередньої участі в реакції і часто, але не обов'язково, є субстратами або продуктами метаболічного шляху, в який входить фермент. Вони зменшують або збільшують активність ферменту, що створює можливість для зворотного зв'язку або регуляції роботи ферменту. Для активних центрів деяких ферментів характерне явище кооперативності.

Специфічність. Ферменти зазвичай проявляють високу специфічність по відношенню до своїх субстратів. Це досягається частковою комплементарністю форми, розподілу зарядів і гідрофобних областей на молекулі субстрата і в ділянці зв'язування субстрата на ферменті. Ферменти демонструють високий рівень стереоспецифічності (просторової специфічності), регіоселективності (специфічності орієнтації) і хемоселективності (специфічності до хімічних груп). Ферменти, в основному, — не жорсткі, а гнучкі молекули. Активний центр ферменту може змінити конформацію після зв'язування з ним субстрата. Бічні групи амінокислот активного центру займають таке положення, яке дозволяє ферменту виконувати свою каталітичну функцію. В деяких випадках молекула субстрата також міняє конформацію після скріплення в активному центрі. На відміну від моделі «ключ-замок», модель індукованої відповідності пояснює не тільки специфічність ферментів, але і стабілізацію перехідного стану.

Модифікації. Багато ферментів після синтезу білкового ланцюга зазнають модифікацій, без яких фермент не проявляє свою активність повною мірою; такі модифікації називаються посттрансляційними. Один з найпоширеніших типів посттрансляційних модифікацій — приєднання хімічних груп до бічних залишків поліпептидного ланцюжка. Наприклад, приєднання фосфатної групи називається фосфорилуванням, воно каталізується ферментом-кіназою. Багато ферментів еукаріот глікозовані, тобто модифіковані олігомерами вуглеводної природи.

Ще один поширений тип посттрансляційних модифікацій — розщеплення поліпептидного ланцюжка. Наприклад, хімотрипсин (протеаза, що бере участь в травленні), утворюється при відщепленні поліпептидної ділянки з хімотрипсиногена. Хімотрипсиноген є неактивним попередником хімотрипсина і синтезується в підшлунковій залозі. Неактивна форма транспортується до шлунку, де перетворюється на хімотрипсин. Такий механізм необхідний для того, щоб уникнути пошкодження підшлункової залози та інших тканин до надходження ферменту в шлунок. Неактивний попередник ферменту називають також «зімогеном».

Кофактори ферментів. Деякі ферменти виконують каталітичну функцію самі собою, без додаткових компонентів. Проте є ферменти, яким для здійснення каталізу необхідні компоненти небілкової природи. Кофактори можуть бути як неорганічними молекулами (іони металів, залізо-сірчані кластери та інші), так і органічними (наприклад, флавін або гем). Органічні кофактори, які постійно (назавжди) зв'язані з ферментом, називають також простетичними групами. Кофактори органічної природи, що здатні відділятися від ферменту, називають коферментами. Фермент, який вимагає наявності кофактора для здійснення каталітичної активності, але не зв'язаний з ним, називається апоферментом. Апофермент в комплексі з кофактором носить назву голоферменту. Більшість кофакторів пов'язана з ферментом нековалентними, але досить міцними взаємодіями. Є і такі простетичні групи, що зв'язані з ферментом ковалентно, наприклад, тіамінпірофосфат в складі ферменту піруватдегідрогенази.

Гормони

Термін "гормон" походить від грецького *hormao*, що означає "збуджувати", "приводити в рух". — це біологічно-активна хімічна речовина, що виділяється ендокринними залозами безпосередньо у кров і впливає на певні органи і тканини-мішені або на організм в цілому. Гормони є гуморальними (ті що переносяться з кров'ю) регуляторами певних процесів у певних органах і системах. снують й інші визначення, згідно з якими трактування поняття гормон ширше: «сигнальні хімічні речовини, що виробляються клітинами тіла і впливають на клітини інших частин тіла».

Значення. Гормони використовуються в організмі для підтримки його гомеостазу, а також для регуляції багатьох функцій (росту, розвитку, обміну речовин, реакції на зміни умов середовища), беруть участь у всіх важливих процесах життєдіяльності організму, зокрема

у розмноженні, рості, диференціації і розвитку, адаптації до змін надходження поживних речовин, рідини, електролітів.

Всі гормони реалізують свою дію на організм або на окремі органи і системи за допомогою спеціальних рецепторів цих гормонів. Рецептори гормонів діляться на 3 основні класи:

- рецептори, пов'язані з іонними каналами в клітині (іонотропні рецептори)
- рецептори, що є ферментами, або пов'язані з білками-передавачами сигналу з ферментативною функцією (метаботропні рецептори, наприклад GPCR)
- рецептори ретиноївої кислоти, стероїдних і тиреоїдних гормонів, які зв'язуються з ДНК і регулюють роботу генів.

Для всіх рецепторів характерний феномен саморегуляції чутливості за допомогою механізму зворотному зв'язку-при низькому рівні певного гормону автоматично компенсаторно зростає кількість рецепторів у тканинах та їх чутливість до цього гормону — процес, що називають сенсibiliзацією (а також ап-регуляцією (посилення, від англ. up-regulation), або сенситизацією (англ. sensitization)) рецепторів. І навпаки, при високому рівні певного гормону відбувається автоматичне компенсаторне зниження кількості рецепторів в тканинах та їх чутливості до цього гормону — процес, що називається десенсибилізацією (а також даун-регуляцією (від англ. down-regulation — зниження), або десенситизацією (англ. desensitization)) рецепторів. Збільшення або зменшення вироблення гормонів, а також зниження, або збільшення чутливості гормональних рецепторів і порушення гормонального транспорту призводить до ендокринних захворювань.

Механізми дії. Коли гормон, що знаходиться в крові, досягає клітини-мішені, він вступає у взаємодію із специфічними рецепторами; рецептори «прочитують послання» організму, і в клітині починають відбуватися певні зміни. Кожному конкретному гормону відповідають виключно «свої» рецептори, що знаходяться в конкретних органах і тканинах, — тільки при взаємодії гормону з ними утворюється гормон-рецепторний комплекс. Механізми дії гормонів можуть бути різними. Одну з груп складають гормони, які з'єднуються з рецепторами, що знаходяться усередині клітин, як правило, у цитоплазмі. До них належать гормони з ліпофільними властивостями -наприклад, стероїдні гормони (статеві гормони, глюко- і мінералокортикоїди), а також гормони щитовидної залози. Будучи жиророзчинними, ці гормони легко проникають через клітинну мембрану і починають взаємодіяти з рецепторами у цитоплазмі, або ядрі. Вони слабо розчинні у воді, при транспортуванні по крові зв'язуються з білками-носіями.

Гормон-рецепторний комплекс починає взаємодіяти з хроматином, який знаходиться в клітинних ядрах і складається з ДНК і білка, і тим самим прискорює або сповільнює роботу тих, або інших генів. Вибірково впливаючи на конкретний ген, гормон змінює **концентрацію відповідною РНК і білка, і разом з тим коректує процеси метаболізму.**

Біологічний результат дії кожного гормону вельми специфічний. Хоча у клітині-мішені гормони змінюють зазвичай менше 1% білків і РНК, цього виявляється цілком достатньо для отримання відповідного фізіологічного ефекту.

Більшість інших гормонів характеризуються трьома особливостями:

- вони розчиняються у воді;
- не зв'язуються з білками носіями;
- починають гормональний процес, як тільки з'єднуються з рецептором, який може знаходитися в ядрі клітки, її цитоплазмі, або розташовуватися на поверхні плазматичної мембрани.

Виконавши своє завдання, гормони або розщеплюються в клітинах-мішенях, або в крові, або транспортуються до печінки, де розщеплюються, або, нарешті, видаляються з організму в основному з сечею (наприклад, адреналін).

Гормони, загальна характеристика, класифікація.

Гормони гіпофіза, Гормони щитовидної, паращитовидної, підшлункової, статевих залоз,

гормони наднирникових залоз.

Синтезуються гормони у спеціалізованих клітинах ендокринних залоз (ендокринний — секретуючий всередину), секретуються із них у кров у відповідь на специфічні сигнали, доставляються кров'ю до тканин-мішеней, де викликають специфічну біологічну чи фізіологічну активність. Концентрація гормонів в крові дуже низька, від мікромолярної (10⁶ моль/л) до пікомолярної 10¹² моль/л), але кількість молекул, яка відповідає цій концентрації, величезна — 10¹¹-10¹⁷ молекул/л, практично трильйони молекул у 1 літрі крові. Ця величезна кількість молекул гормонів робить можливим їх вплив на кожен окрему клітину організму. Але гормони діють не на всі клітини, а лише на клітини-мішені, що містять специфічні білки-рецептори, які зв'язують молекули гормонів із високою вибірковістю. Рецептори локалізовані у плазматичній мембрані клітин або їх цитоплазмі чи ядрі. Крім гормонів, які виділяються у кров і діють на тканини, що віддалені від місця утворення, є гормони, які проявляють свою дію у тому ж органі, в якому вони синтезуються, тобто на невеликій відстані від місця синтезу (паракринна дія), або навіть діють на клітини, що їх секретують (автокринна дія). До гормонів місцевої дії відносять гормони шлунково-кишкового тракту, простагландини, тромбосани і лейкотрієни, серотонін і гістамін.

Морфологічна, хімічна, фізіологічна класифікації гормонів. За морфологічною класифікацією гормони поділяють залежно від місця їх синтезу, наприклад, гормони гіпофіза, щитовидної залози, підшлункової залози, надниркових залоз, статевих залоз тощо.

Більшість гормонів відноситься до білково-пептидних. Стероїдну структуру мають гормони кори надниркових залоз і статеві гормони, а похідними амінокислот є тиреоїдні гормони щитовидної залози і гормони мозкового шару надниркових залоз. Можна виділити ще четверту групу гормонів — похідні арахідонової кислоти (простагландини, тромбосани і лейкотрієни). Білково-пептидні гормони, на відміну від інших гормонів, мають видову специфічність.

Регуляція синтезу і секреції гормонів

Ендокринні залози є складовою частиною системи нейрогуморальної регуляції організму. Під впливом різноманітних зовнішніх і внутрішніх подразників виникають електричні імпульси (потенціали дії) у спеціалізованих дуже чутливих рецепторах, що передаються доцентровими нервовими волокнами до клітин ЦНС. Після обробки інформації в ЦНС сигнали передаються на периферію. Під прямим контролем нервової системи знаходяться гіпоталамус і мозкова речовина надниркових залоз. Інші ендокринні залози зв'язані з нервовою системою опосередковано через гормони гіпоталамуса і гіпофіза. У відповідь на сигнали із ЦНС гіпоталамус синтезує і секретує гіпоталамічні регуляторні гормони двох типів — ліберини і статини, які через систему порталного кровообігу гіпофіза надходять до клітин аденогіпофіза. Кожний гіпоталамічний гормон регулює секрецію якогось одного гормону передньої частки гіпофіза. Ліберини стимулюють секрецію гормону гіпофіза, а статини пригнічують. Гормони аденогіпофіза, які називаються тропними або тропінами, виділяються в кров, транспортуються до певної ендокринної залози, стимулюють утворення і секрецію нею гормонів. Гормони периферичних залоз діють на органи і тканини-мішені, викликаючи відповідні фізіологічні й біологічні зміни. Із точки зору переносу інформації багатоступеневий процес можна розглядати як " посилення потоку інформації".

Синтез і секреція гормонів всіх видів регулюються механізмами, що працюють за принципом позитивного і негативного зворотних зв'язків. Так, концентрація у крові гормонів периферичних залоз чи тропних гормонів гіпофіза впливає на секрецію гормонів гіпоталамуса і гіпофіза. Наприклад, підвищений вміст у крові тироксину гальмує секрецію тиреоїберину гіпоталамусом і тиреотропіну гіпофізом. На швидкість секреції гормонів

ендокринними залозами впливають також наявні у крові продукти метаболізму, іони. Секреція деяких гормонів підпорядковується певним біологічним ритмам. Таким чином, як тільки гормон починає діяти на чутливу до нього клітину чи групу клітин, одночасно виникає сигнал, котрий гальмує дію гормону. Цим сигналом є або підвищений вміст іншого гормону, або корекція показника гомеостазу, зміна якого була первинною причиною активації певної залози. У результаті надлишкового чи недостатнього утворення гормонів розвиваються ендокринні захворювання. Підвищення продукції гормонів може бути наслідком злоякісного перетворення клітин ендокринної залози. Зниження продукції гормонів зв'язане з незворотними пошкодженнями чи загибеллю клітин залози.

ГОРМОНИ ГІПОТАЛАМУСА. В різних ділянках (нейронах) гіпоталамуса синтезуються гіпоталамічні регуляторні гормони — рилізінг-фактори (з англ. реліз — звільняти) або, за сучасною номенклатурою, ліберини і статини. За хімічною структурою це — низькомолекулярні пептиди. Гормони гіпоталамуса проникають у кров ворітної системи гіпофіза і з нею надходять в аденогіпофіз. Виділення їх гіпоталамусом здійснюється під впливом нервових імпульсів, а також внаслідок змін концентрацій у крові певних гормонів (за принципом зворотного зв'язку). Ліберини стимулюють секрецію гормонів гіпофіза, а статини — гальмують.

ГОРМОНИ ГІПОФІЗА. Розрізняють гормони передньої, проміжної і задньої частини гіпофіза. Задня частина є похідною від нервової системи (нейрогіпофіз), і в ній гормони не утворюються, а надходять по аксонах нервової клітини із гіпоталамуса. Тут вони депонуються і виділяються в кров'яне русло. Обидва гормони нейрогіпофіза (вазопресин і окситоцин) за хімічною структурою є низькомолекулярними пептидами, як і гіпоталамічні ліберини і статини. Синтез гормонів передньої частки аденогіпофіза і виведення її у кров запускається ліберинами гіпоталамуса через аденілатциклазну систему.

ГОРМОНИ ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ. Інсулін — це невеличкий глобулярний білок, який складається із двох поліпептидних ланцюгів. Швидкість секреції інсуліну залежить від концентрації глюкози в крові. При нормальному рівні глюкози в крові натще (3,33-5,5 ммоль/л) секреція інсуліну мінімальна. Під час споживання їжі підвищення концентрації глюкози в крові викликає збільшення секреції інсуліну. Біологічні ефекти інсуліну. Рецептори інсуліну відкриті в багатьох типах клітин. Головними мішенями дії інсуліну є клітини м'язів, печінки, жирової тканини. Отже, інсулін пригнічує утилізацію жирів і стимулює їх синтез. Можна зробити висновок, що одна із важливих функцій інсуліну полягає у зміні катаболізму вуглеводів і жирів для забезпечення організму енергією. При високій концентрації глюкози інсулін включає утилізацію вуглеводів і гальмує катаболізм жирів. І навпаки, при низькій концентрації глюкози низький вміст інсуліну в крові викликає утилізацію жиру в усіх тканинах, крім мозку. Інсулін стимулює синтез білків і нуклеїнових кислот, зумовлює позитивний азотний баланс. Разом із соматотропіном інсулін стимулює ріст організму.

Цукровий діабет. При недостатності інсуліну внаслідок пошкодження В-клітин різними факторами (вірусами, хімічними речовинами, антитілами до структур В-клітин), спадкової неповноцінності інсулярного апарату, генетичних дефектів структури інсуліну чи білків-рецепторів інсуліну розвивається цукровий діабет. Розрізняють інсулінозалежні та інсулінонезалежні форми цукрового діабету.

ГОРМОНИ МОЗКОВОГО ШАРУ НАДНИРКОВИХ ЗАЛОЗ. Гормони мозкової речовини надниркових залоз адреналін і норадреналін є похідними амінокислоти тирозину. Адреналін, норадреналін і їх попередник дофамін об'єднуються під назвою "катехоламіни". Вони утворюються не тільки у хромафінних клітинах мозкового шару надниркових залоз, а і в симпатичних нервових закінченнях, де служать медіаторами. Норадреналін функціонує у синапсах постгангліонарних волокон нервової системи і у різних відділах ЦНС. Дофамін і адреналін — медіатори ЦНС. Синтез катехоламінів регулюється за

принципом негативного зворотного зв'язку. Гормони мозкової речовини надниркових залоз проявляють різноманітні ефекти на організм, які реалізують через взаємодію їх з рецепторами типів α і β . Взаємодія адреналіну з бета-адренорецепторами плазматичної мембрани органів-мішеней активує аденілатциклазу, запускаючи через цАМФ і протеїнкінази каскадний механізм фосфорилування специфічних білків. Зв'язування адреналіну з α_2 -рецептором призводить до зменшення в клітині цАМФ. Через аденілатциклазну систему адреналін активує глікогенфосфорилазу печінки і м'язів, триацилгліцеринліпазу жирової тканини, інактивує глікогенсинтетазу. Розпад глікогену печінки забезпечує підвищення рівня глюкози в крові, а розпад жирів у жировій тканині — концентрації жирних кислот. Таким чином, мобілізуються субстрати для використання скелетними м'язами і міокардом для роботи у стресових ситуаціях. У м'язових клітинах розпадається як депонований глікоген, так і глюкоза, що надходить з крові, з утворенням молочної кислоти. Норадреналін має порівняно невеликий вплив на розпад глікогену і споживання кисню, а ліполіз стимулює, як адреналін.