

## PON1 אנזים מצויין

החלבון **Serum paraoxonase and arylesterase 1 (PON1)** הוא אנזים המיוצר בכבד ומשחרר לזרם הדם. בין התהליכים בהם משתתף אנזים זה ניתן למנות עיכוב חימצון (שינוי כימי) ופירוק של החומר LDL המכונה "כולסטרול רע".

כדי להבין את חשיבותו של האנזים PON1 יש להבין תחילה מהו הכולסטרול ומדוע די באזכור שמו כדי לגרום לחשש אצל אנשים.

הכולסטרול הוא סוג של חומר שומני המיוצר בכבד ומשמש בגופנו לבנייה של חומרים שונים שלהם תפקוד חיוני בתאים וברקמות. בין החומרים העיקריים שכולסטרול הוא אחת מאבני הבניין שלהם ניתן למנות: פוספוליפידים, הורמונים שונים (בכללם הורמוני המין טסטוסטרון, אסטרוגן ופרוגסטרון) מלחי המרה וויטמין D.

בשל היותו חומר שומני אין הכולסטרול יכול לנוע בחופשיות במערכת ההובלה. מספר חלבונים שנוצרים בכבד "עוטפים" את מולקולות הכולסטרול ליצירת מבנים הנקראים ליפופרוטאינים וכך "מסיעים" אותן בזרם הדם אל האיברים בהם הכולסטרול נחוץ.

שניים מהליפופרוטאינים הידועים הם ה-LDL, וה-HDL.

ל-LDL, שבחוסר צדק קוראים לו ה"כולסטרול הרע", תפקוד חיוני ב"הסעת" הכולסטרול מהכבד לאיברי המטרה. תפקודו של ה-HDL לעומת זאת, הוא הסעת עודפי הכולסטרול מהתאים חזרה לכבד, שם הוא עובר מחזור, מתפרק לכולסטרול "נקי" ולחלבון מחדש, וממרכיבים אלה נוצרים חומרים אחרים, לפי צרכי הגוף.

### שאלה 1

**א. ציין את תפקודם של שניים מבין החומרים שבבנייתם משתתף הכולסטרול והסבר את חשיבותם לתפקוד תקין של התאים. (4 נקודות)**

**ב. מהו היתרון של יצירת מבנים ה"מסיעים" את הכולסטרול במערכת ההובלה? (3 נקודות)**

בהתייחס לתפקידם של ה-HDL וה-LDL לא ניתן לקבוע שהאחד הוא "כולסטרול טוב" והשני הוא "כולסטרול רע". אם כך, מהו מקור הכינויים השכיחים האלה בחיי היום יום שלנו? ככל שרמת ה-HDL ורמת ה-LDL נשמרות בטווח ריכוזים מסוים בדם, אין שום בעיה. אך כשיש סטייה מערכי ההומיאוסטזיס ונוצר עודף של LDL, עודפי הכולסטרול מהסוג LDL גורמים להיצרות כלי הדם ולהפרעה בזרימת דם תקינה.

להיצרות כלי הדם נדרשים כמה תנאים, וביניהם חימצון של ה-LDL, שגורם לשינוי במבנה הליפופרוטאין ומאפשר את הצטברותו בתוך תאי דם לבנים בולעניים, ששוקעים על דפנות כלי הדם ביחד עם תאים נוספים וסידן. המשקע נקרא פלאק - רובד טרשתי.

המשקע שגורם להיצרות כלי הדם מסוכן בעיקר בכלי הדם הכליליים, אלה אותם עורקים שמתפצלים מאבי העורקים ומגיעים אל הלב.

## שאלה 2

טרשת עורקים היא המחלה הנגרמת כשמצטבר משקע של שומנים, תאים וסידן בדפנות העורקים. א. בין הגורמים הסביבתיים לטרשת העורקים נמצא העישון. בעשן הסיגריות ישנם רדיקלים חופשיים שהם חומרים הגורמים לחימצון של מולקולות שונות. הסבר את הקשר בין עישון לסכנה ללקות בטרשת עורקים. (4 נקודות)

ב. הסבר מדוע היווצרות טרשת העורקים מסוכנת דווקא בעורקים הכליליים. (4 נקודות)

מחלות כלי דם כליליים והסיבוכים הנלווים אליהן הם בין גורמי התמותה העיקריים במדינות המפותחות. בסקר רחב היקף שנערך בסין נבדקה כמות האנזים PON1 ורמת פעילותו בדמם של יותר מ-2000 נשים וגברים בגילאי 18 - 75, משני אזורים בסין: צפון סין ודרומה. כל הנבדקים היו מאותו מוצא אתני, ונבדלו אילו מאילו בעיקר בהרגלי התזונה ובאורח החיים (רגוע או אינטנסיבי). המשתתפים חולקו לשתי קבוצות: קבוצת חולים בטרשת עורקים וקבוצת האנשים שאינם חולים בטרשת עורקים. המשתתפים בכל קבוצה מוינו על פי מגדר (גברים ונשים) וגיל, כך שמספר בני אותו גיל מכל מגדר היה שווה בין שתי הקבוצות. החוקרים בדקו מספר גורמים אותם השוו בין הבריאים והחולים. בהשוואות שנערכו נמצאו, בין היתר, הממצאים המתוארים בטבלה הבאה:

**טבלה 1:** השוואת נתונים שונים אצל בעלי טרשת עורקים ואצל בריאים בצפון סין ובדרומה.

דרום סין (800 נבדקים)		צפון סין (1656 נבדקים)		מאפייני האוכלוסיה הנבדקת
חולים בטרשת עורקים	אינם חולים בטרשת עורקים	חולים בטרשת עורקים	אינם חולים בטרשת עורקים	
22.0	16.7	19.7	12.5	סובלים מסוכרת (%)
56.5	42.3	57.3	50.6	סובלים מלחץ דם גבוה (%)
44.3	33.8	48.6	35.2	מעשנים (%)
2.4	2.3	2.4	2.3	רמת כולסטרול LDL בדם (מיקרומול לליטר)
1.1	1.3	1.1	1.3	רמת כולסטרול HDL בדם (מיקרומול לליטר)

### שאלה 3

- א. ציין שלושה גורמים שנשמרו קבועים בהשוואה בין שתי הקבוצות (החולים בטרשת עורקים ושינים חולים בטרשת עורקים) והסבר חשיבותו של אחד מהם. (6 נקודות)
- ב. כתוב שלוש מסקנות שניתן להסיק מההשוואה המוצגת בטבלה, נמק כל אחת מהמסקנות שציינת. (9 נקודות)

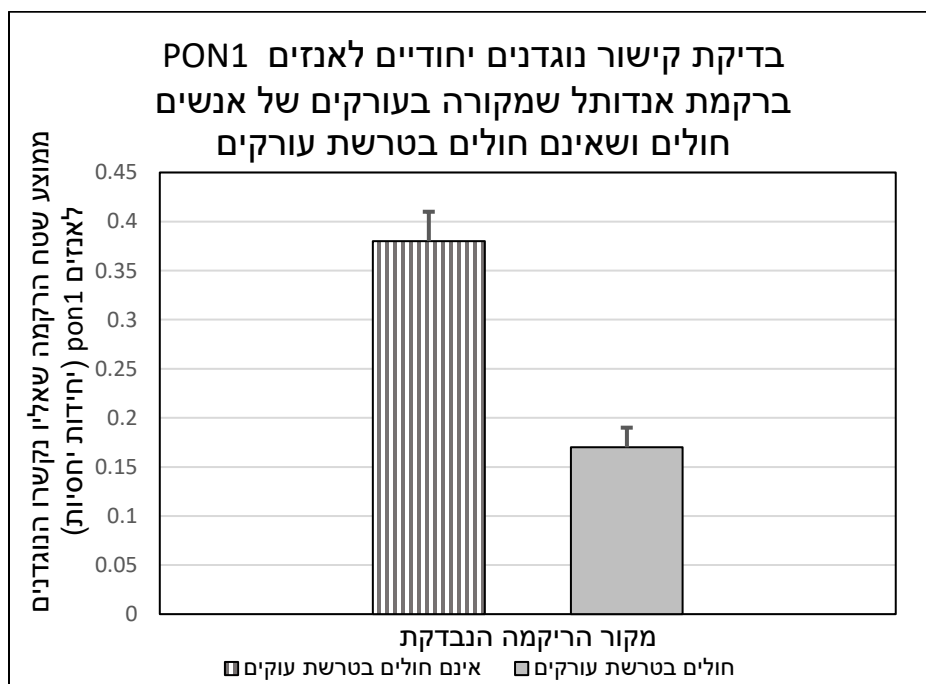
בבדיקת רמת הפעילות של האנזים PON1 אצל משתתפי הסקר נמצא שאצל רוב החולים בטרשת האנזים פעיל פחות מאשר אצל רוב הבריאים. ניתן לשער שההבדל בפעילות האנזים, בין אנשים שאינם חולים בטרשת עורקים ובין החולים בטרשת עורקים, נובע משתי צורות שונות של האנזים, שנוצרו כתוצאה משינוי קל ברצף החומצות האמיניות הבונות את החלבון.

האנזים PON1 נמצא כאמור בנוזל הדם וחודר לתאי האנדותרל המצפים את כלי הדם. בשל תרומתו למניעת חימצון LDL החוקרים רצו לבחון את נוכחותו בדפנות העורקים. לשם כך נדגמו פיסות רקמה מעורקים של אנשים חולים במחלות כלי דם כליליים ומעורקים של אנשים ללא היסטוריה של מחלות כלי דם.

הבדיקה נעשתה באמצעות קיבוע הרקמה על זכוכית נושאת והוספת נוגדנים מסומנים ייחודיים הנקשרים לאנזים PON1. לאחר מספר דקות נשטפו עודפי הנוגדנים שלא נקשרו לרקמה ונערכה תצפית מיקרוסקופית לאיתור נוגדנים מסומנים על פני הרקמה.

השטח הצבוע (שטח מכוסה בנוגדנים מסומנים) חושב מתוך כלל שטח הרקמה שנבדקה והתוצאות מוצגות להלן:

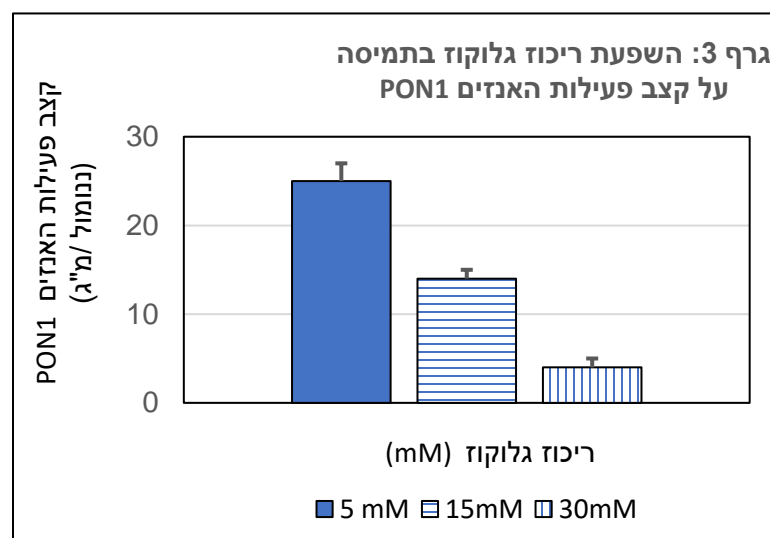
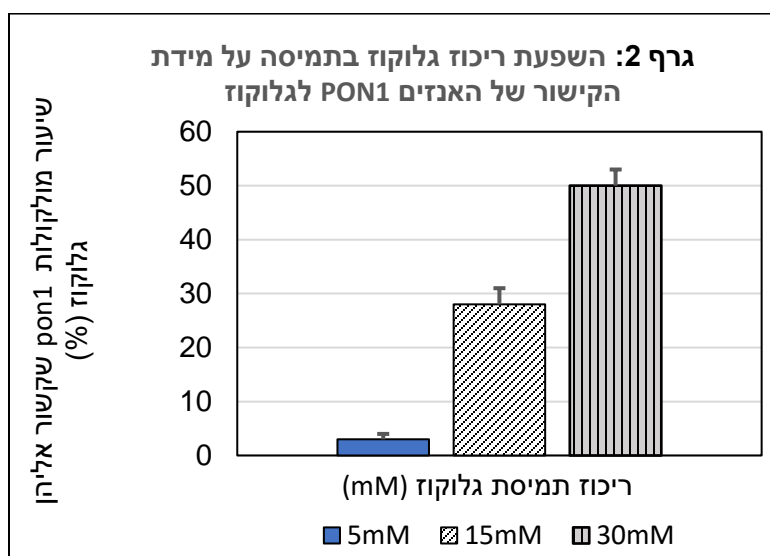
### גרף 1:



#### שאלה 4

- א. הסבר את הקשר שעשוי להיות בין שינוי קל ברצף חומצות האמיניות באנזים PON1 ובין שינוי קצב פעילות האנזים. (3 נקודות)
- ב. הסבר את הקשר בין שטח הרקמה שאליו נקשר האנזים PON1, מידת חימצון ה- LDL ומחלת טרשת העורקים. (8 נקודות)

במחקר נוסף רצו החוקרים לבדוק את הקשר בין רמת גלוקוז בדם לבין קצב פעילות האנזים PON1. במצב של היפרגליקמיה (עודף גלוקוז בדם) נקשרות מולקולות של גלוקוז למולקולות של חלבונים שונים בדם, בהם גם המוגלובין ו- PON1. החוקרים הוסיפו מולקולות של האנזים PON1 לתמיסות גלוקוז למשך 3 ימים ובדקו את שיעור קישור הגלוקוז למולקולות האנזים ואת רמת פעילות האנזים על פי קצב היווצרות תוצרי פעילותו. תוצאות הניסוי מוצגות בגרף 2 ובגרף 3:



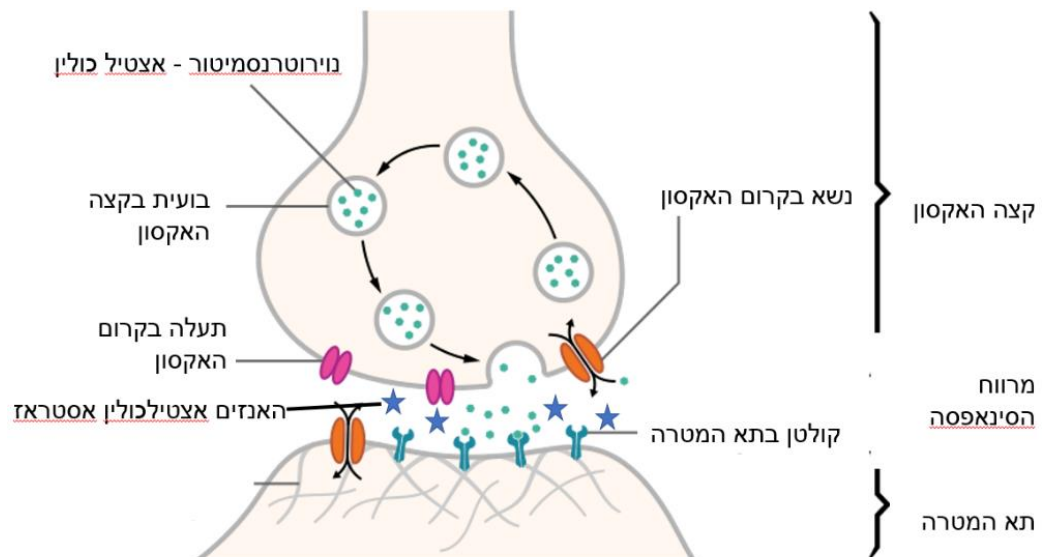
## שאלה 5

- א. מה היו שני המשתנים התלויים שנבדקו בניסוי? (2 נקודות)
- ב. כתוב שתי מסקנות מהניסויים שתוצאותיהם מתוארות בגרף 2 ובגרף 3. (4 נקודות)
- ג. הסבר כיצד המסקנות שכתבת בסעיף ב' מאפשרות להסביר חלק מתוצאות הסקר המתוארות בטבלה 1. (6 נקודות)

האנזים PON1 ייחודי בכך שביכולתו לפרק מגוון גדול של סובסטרטים, כולל חומרים שאינם נמצאים בגוף באופן טבעי, כגון תרכובות זרחן אורגני שמשמשות כמרכיב בחומרי הדברה שונים ובגז עציבים. תרכובות הזרחן האורגני מעכבות באופן בלתי הפיך את פעילות האנזים אצטילכולין אסטרזאז בסינפסות העצביות. אנזים זה מפרק את הניורטרנסמיטר אצטילכולין\* במיוחד בשריר הסרעפת ובמוח. עיכוב האנזים אצטילכולין אסטרזאז עלול לגרום לשיתוק שרירים שונים עד כדי הפסקת הנשימה ומוות. בנוסף לכך, במקרים בהם הנפגע נשאר בחיים, גורמים רעלים אלו גם לנזקים תנועתיים וקוגניטיביים באופן זמני ואפילו קבוע.

\***אצטילכולין** הוא ניורטרנסמיטר הפעיל במערכת העצבים המרכזית שהפרשתו לסינפסות המצויות בשרירים גורמת לכיווץ שרירים.

## שאלה 6: לפיך איור המתאר את המתרחש בסינפסה עיצבית בעת מעבר אות



היעזר באיור ורשום ארבעה שלבים בשרשרת האירועים, לפי סדר כרונולוגי, מרגע החשיפה לחומר הרעל (חומרי הדברה או גז עצבים) ועד לשלב של הפסקת הנשימה. (8 נקודות)

תוכל להוסיף שלבים כרצונך:



1. חשיפה לרעל

2.

3.

4.

5.

6. הפסקת פעולת הנשימה

כיום אין טיפול יעיל נגד הרעלה בגז עצבים. החומר אסור אמנם לשימוש על פי אמנת האג אך למרבה הצער קיים חשש שגורמים שונים ישתמשו בו כנשק כימי ולכן עוסקים חוקרים רבים בניסיון למצוא טיפול יעיל להרעלה מחומר זה. חוקרים ממכון וויצמן, כמו גם חוקרים נוספים ברחבי העולם, בוחנים את האפשרות להשתמש באנזים PON1 כתרופה נגד גז עצבים.

## שאלה 7

א. האנזים PON1 יכול לשמש כתרופה במצבים של הרעלת חומרי הדברה מסוג זרחן אורגני או חשיפה לגז עצבים. הסבר מדוע השימוש בו הוא בהזרקה לדם ולא לקיחה דרך הפה. (4 נקודות)

ב. התייחס למידע על האנזים PON1 והסבר מדוע ניתן להזריקו לדם כתרופה ובמה הוא עשוי להיות יעיל יותר ממעבש שנקשר באופן בלתי הפיך למולקולות הרעל? (8 נקודות)

בבואם לחקור את האפשרות להשתמש באנזים כתרופה עמדו בפני החוקרים שתי בעיות:

1. מידת יעילותו של האנזים בפירוק זרחן אורגני אינה גבוהה כנדרש מתרופה נגד הרעלה.

2. כדי להכין תרופה יש להשיג כמות גדולה של האנזים שניתן לשמור בתנאים מבוקרים במעבדה לאורך זמן.

הפתרון נמצא בדרך של הכנת אנזים מהונדס - בידוד הגן לאנזים והחדרתו לתאי החיידק E.coli. החיידקים מייצרים את האנזים ומפרישים אותו לתמיסת הגידול בכלי בו הם מצויים. שינויים קלים ברצף הגן המקודד ל PON1 הביאו ליצירת מספר צורות של האנזים ולהן כושר פירוק שונה של זרחן אורגני.

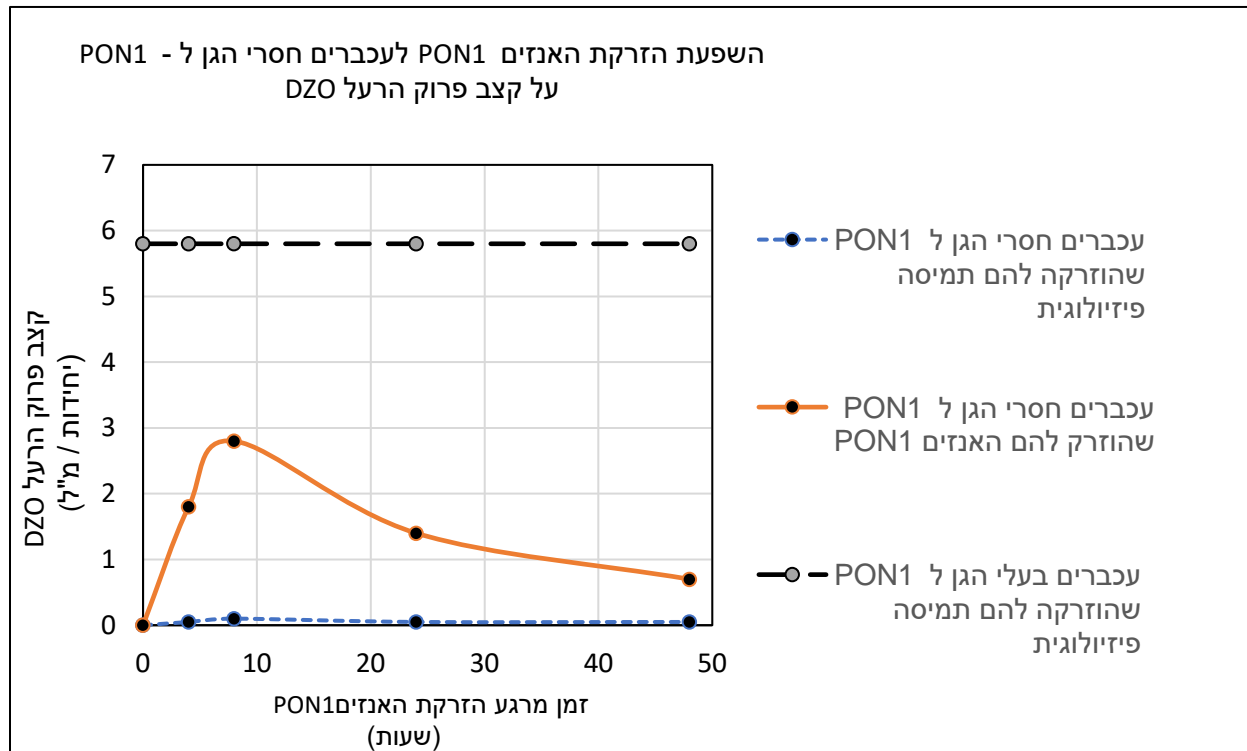
לאחר שהחוקרים קיבלו כמות מספקת של האנזים השתמשו בו לבדיקת פעילותו בגופם של עכברים.

תחילה הוזרק האנזים שהופק מהחיידקים לדמם של עכברים חסרי הגן לייצור PON1 ונערך מעקב בן 48 שעות לבדיקת עמידותו וקצב פעילותו. במהלך הניסוי נלקחו מהעכברים מספר בדיקות דם. לכל דגימה הוסיפו חומר הדברה, תרכובת זרחן אורגני בשם DZO, ובדקו את קצב פירוקו.

במקביל נבדקה רמת הפירוק של חומר הדברה זה בדגימות דם שנלקחו מעכברים בעלי הגן לייצור של PON1. בתום הבדיקות הושארו העכברים במעקב ולא נמצאו תופעות לוואי של הזרקת האנזים לדמם.

תוצאות הניסוי מוצגות בגרף הבא:

#### גרף 4:

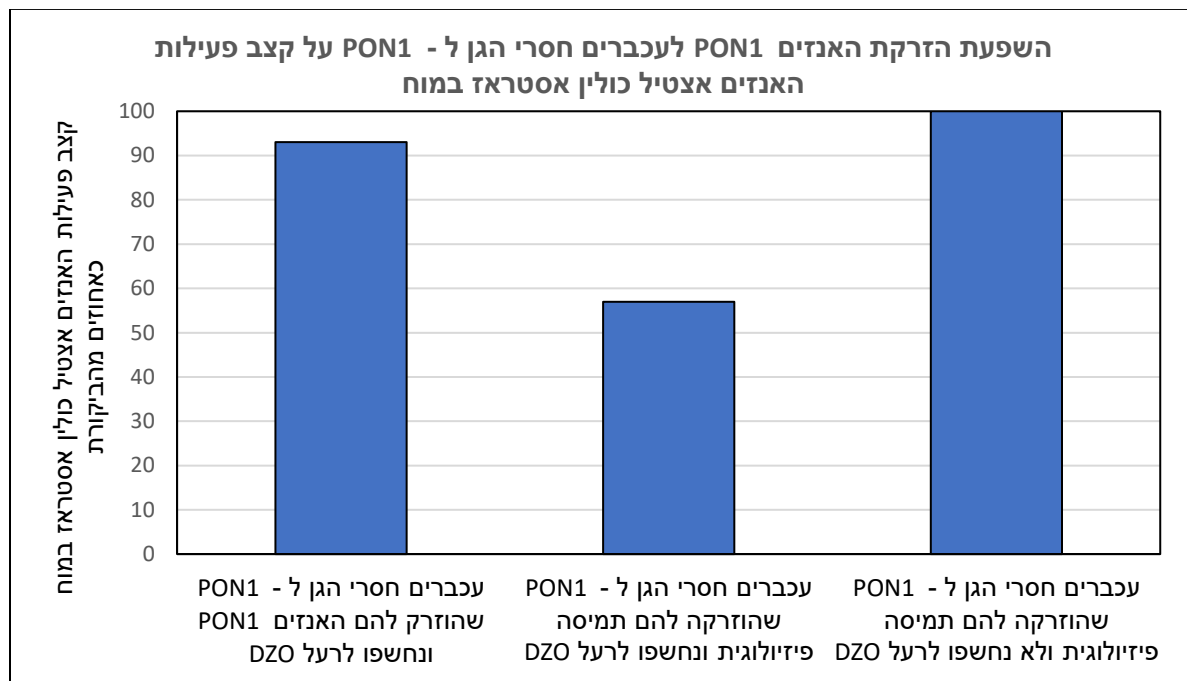


בניסוי המשך (שתוצאותיו אינן מוצגות כאן) החוקרים העלו את כמות האנזים שהוזרק לעכברים חסרי הגן ל-PON1,

ואז נמצא שרמת הפירוק של הרעל DZO שנמדדה 8 שעות לאחר ההזרקה הייתה גבוהה מזו שנמצאה בעכברים בעלי הגן ל-PON1.

בשלב השני נחשפו העכברים לרעל DZO ונבדקה מידת הפגיעה בפעילות האנזים אצטילכולין אסטראז במוחם של העכברים. רמת הפגיעה נמדדה כאחוז מרמת הפעילות של אצטיל כולין אסטראז במוחם של עכברים שהם שלא הוזרק להם הרעל. תוצאות הניסוי מוצגות באיור הבא:

## גרף 5:



## שאלה 8

- א. מדוע השתמשו בניסוי זה בעכברים חסרי הגן לייצור PON1 ? (6 נקודות)
- ב. הסבר מהי חשיבות הטיפול בקבוצת העכברים בעלי הגן לייצור PON1 (גרף 4) שהוזרקה להם תמיסה פיזיולוגית במערך ניסוי זה? (5 נקודות)
- ג. כתוב מסקנה אחת לניסוי שתוצאותיו מתוארות בגרף 4 ומסקנה אחת לניסוי שתוצאותיו מתוארות בגרף 5.

(4 נקודות)

## שאלה 9

- א. הסבר מהי תרומת הניסוי שתוצאותיו מתוארות בגרף 5 להבנת התוצאות של הניסוי המתואר בגרף 4? (8 נקודות)
- ב. האם ניתן להסיק מניסויים אלה שהאנזים PON1 יכול לשמש כתרופה נגד גז עצבים? נמק את קביעתך. (6 נקודות)
- היכולת לייצר כמות גדולה של חלבון על ידי החדרת הגן המקודד לתוך חיידקים והיכולת ליצור צורות שונות של האנזים PON1 בעלות קצב פעילות גבוה יותר, עשויים להיות פתח לייצור תרופות יעילות נגד הרעלת חומרי הדברה וגז עצבים, כמו גם נגד טרשת העורקים.

בהצלחה