

(PON1) الإنزيم الممتاز

البروتين 1 **Serum paraoxonase and arylesterase (PON1)** هو إنزيم ينتج في الكبد ويُفرز في مجرى الدم. من بين العمليات التي يشارك فيها هذا الإنزيم نجد إعاقة أكسدة (تغيير كيميائي) وتفكيك المادة LDL المعروفة باسم "كوليسترول سيء". لفهم أهمية إنزيم PON1 ، يجب أولاً فهم ماهية الكوليسترول ولماذا يعتبر ذكر اسمه كافياً لإثارة القلق لدى الناس.

الكوليسترول هو نوع من المواد الدهنية التي ينتجها الكبد ويستخدم في أجسامنا لبناء مواد مختلفة التي لديها وظائف حيوية في الخلايا والأنسجة. من بين المواد الرئيسية التي يعتبر الكوليسترول أحد حجارة البناء الأساسية لها: فوسفوليبيدات، هرمونات مختلفة (بما في ذلك هرمونات جنسية تستوستيرون، إستروجين وبروجسترون) والأملاح الصفراوية لكيس المرارة وفيتامين D.

لا يمكن للكوليسترول أن يتحرك بحرية في جهاز النقل بسبب كونه مادة دهنية. عدد من البروتينات التي تُبنى في الكبد "تغلف" جزيئات الكوليسترول لتكوين جسيمات التي تسمى ليبوبروتينات (Lipoproteins) وهكذا تقوم "بنقلها" في مجرى الدم إلى الأعضاء التي تحتاج الكوليسترول.

اثان من الليبوبروتينات المعروفة هما LDL و HDL.

يلعب ال LDL، والذي يُطلق عليه ظُلماً "كوليسترول سيء"، دوراً حيوياً في "نقل" الكوليسترول من الكبد إلى أعضاء الهدف. من ناحية أخرى، تتمثل وظيفة HDL في نقل الجزيئات الفائضة للكوليسترول من الخلايا رُجوعاً إلى الكبد، حيث هناك يتم إعادة تدويره، أي يتم تفكيكه إلى كولسترول "نظيف" وبروتين، ومن هذه المكونات تُبنى مواد أخرى وفقاً لاحتياجات الجسم.

السؤال رقم 1

أ. اذكر وظيفة اثنين من المواد التي يُشارك في بنائها الكوليسترول، وفسّر أهميتها من أجل الأداء السليم للخلايا. (4 درجات)

ب. ما هي أفضلية بناء جسيمات التي "تنقل" الكوليسترول في جهاز النقل؟ (3 درجات)

فيما يتعلّق بدور HDL وLDL، لا يُمكن الجزم أن أحدهما هو "كوليسترول جيد" والآخر هو "كوليسترول سيء". إذا كان الأمر كذلك، فما هو مصدر هذه الألقاب الشائعة في حياتنا اليومية؟ طالما يتم الحفاظ على مستوى HDL ومستوى LDL ضمن مجال تراكيز معيّن في الدم، فلا توجد مشكلة. ولكن عندما يكون هناك انحراف عن قيم الاتزان البدني ويتكوّن فائض من LDL، يؤدي فائض الكوليسترول من نوع LDL إلى تضيق الأوعية الدموية وإلى خلل في جريان الدم الطبيعي.

يتطلّب تضيق الأوعية الدموية عدّة شروط، منها أكسدة LDL، والذي يؤدي إلى تغيير في مبنى الليبوبروتين ويسمح له بالتراكم داخل خلايا دم بيضاء بلعمية، والتي تترسّب على جدران الأوعية الدموية جنباً إلى جنب مع خلايا أخرى وكالسيوم. الراسب يُسمى Plaque -الصفائح المتصلبة.

تعتبر الترسّبات التي تُسبب تضيق الأوعية الدموية خطيرة بشكل خاص في الأوعية الدموية التاجية، وهي نفس الشرايين التي تتفرّع من الشريان الأورطي (الأبهر) وتصل إلى القلب.

سؤال 2:

تصلّب الشرايين مرض ينتج عن تراكم ترسّبات دهون، خلايا وكالسيوم على جدران الشرايين.

أ. من بين العوامل البيئية التي تؤدي إلى تصلّب الشرايين وُجِدَ التدخين. يوجد في دخان السجائر مواد تسمى "راديكالات حرّة" (Free Radicals) وهي تُسبب أكسدة جزيئات مختلفة. فسّر العلاقة بين التدخين وخطر الإصابة بتصلّب الشرايين. (4 درجات)

ب. فسّر لماذا يشكّل تصلّب الشرايين خطراً بالأخص في الشرايين التاجية. (4 درجات)

تعدّ أمراض الأوعية الدموية التاجية والمضاعفات المرتبطة بها من بين الأسباب الرئيسية للوفاة في الدول المتقدّمة. فحَصَّ إستطلاع واسع النطاق أجري في الصين كمية الإنزيم PON1 ومستوى نشاطه في دم أكثر من 2000 امرأة ورجل تتراوح أعمارهم بين 18-75 عاماً، من منطقتين في الصين: شمال الصين وجنوبها. كان جميع المفحوصين من نفس العرق، ويختلفون عن بعضهم البعض بشكل رئيسي في العادات الغذائية ونمط الحياة (هاديء أو مُكثف).

تمّ تقسيم المشاركين إلى مجموعتين: مجموعة من مرضى بتصلب الشرايين ومجموعة من الأشخاص ليسوا مرضى بتصلب الشرايين. تمّ تصنيف المشاركين في كل مجموعة حسب الجنس (رجال ونساء) والعمر، بحيث تساوى عدد الأشخاص ذوي نفس العمر من كل جنس بين المجموعتين. فحَصَّ الباحثون عدد من العوامل التي قارنت بين المعافين والمرضى. في المقارنات التي تمّ إجراؤها، وُجِدَتْ، من بين أمور أخرى، النتائج المعروضة في الجدول التالي:

الجدول 1: مقارنة بيانات مختلفة لدى الأشخاص المرضى بتصلب الشرايين والأشخاص المُعافين في شمال وجنوب الصين.

جنوب الصين (800 مفحوصين)		شمال الصين (1656 مفحوصين)		مُميّزات السكان المفحوصين
مرضى بتصلب الشرايين	ليسوا مرضى بتصلب الشرايين	مرضى بتصلب الشرايين	ليسوا مرضى بتصلب الشرايين	
22.0	16.7	19.7	12.5	لديهم مرض سكري (%)
56.5	42.3	57.3	50.6	لديهم ضغط دم مرتفع (%)
44.3	33.8	48.6	35.2	مُدخنون (%)
2.4	2.3	2.4	2.3	مستوى كوليسترول LDL في الدم (ميكرومول لكل لتر)
1.1	1.3	1.1	1.3	مستوى كوليسترول HDL في الدم (ميكرومول لكل لتر)

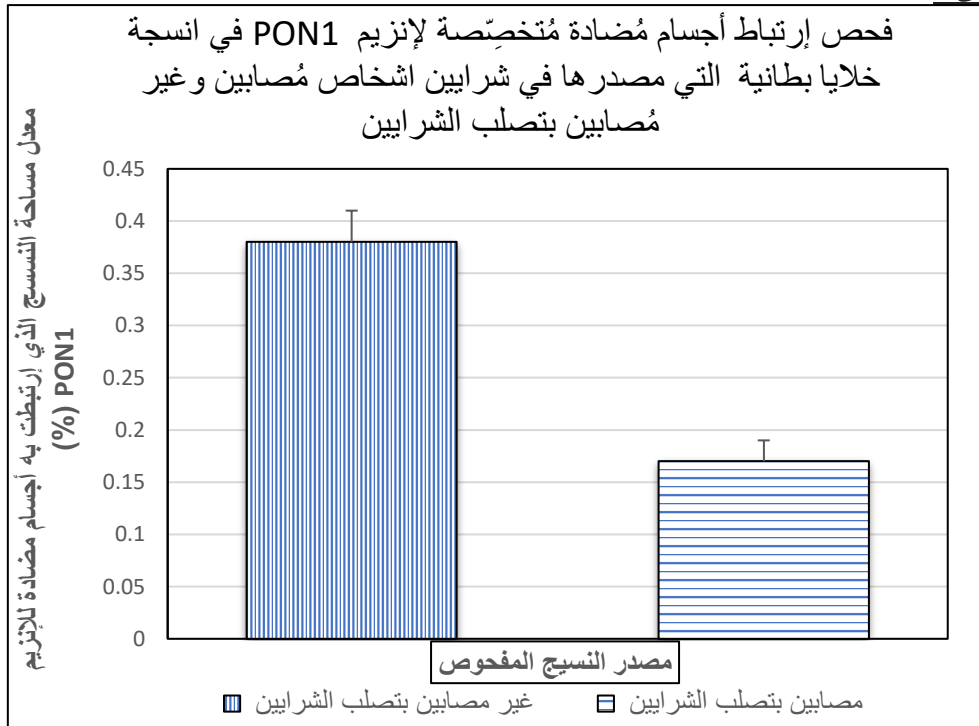
السؤال 3

- أ. أذكر ثلاثة عوامل حوِّظ عليها ثابتة بالمقارنة بين المجموعتين (مرضى تصلب الشرايين وغير المرضى بتصلب الشرايين) وفسّر أهمية أحد العوامل. (6 درجات)
- ب. اكتب ثلاثة استنتاجات التي يمكن استنتاجها من المقارنة المعروضة في الجدول، عيّل كل استنتاج من الاستنتاجات التي ذكرتها. (9 درجات)

في فحص مستوى نشاط الإنزيم PON1 لدى المشاركين في الاستطلاع وُجدَ انه لدى معظم المرضى الذين يعانون من تصلب الشرايين، يكون الإنزيم أقل نشاطاً مما لدى الأشخاص المعافين. يمكن الافتراض أن الاختلاف في نشاط الإنزيم، بين الأشخاص الذين لا يعانون من تصلب الشرايين وأولئك الذين يُعانون من تصلب الشرايين، ينبع من شكلين مختلفين للإنزيم، يتشكلان نتيجةً لتغيير طفيف في تسلسل الأحماض الأمينية التي يتكون منها البروتين.

تمَّ العثور على الإنزيم PON1 في سائل الدم وهو يخترق الخلايا البطانية التي تبطن الأوعية الدموية. نظراً لمساهمته في منع أكسدة LDL، أراد الباحثون فحص وجوده في جدران الشرايين. لهذا الغرض، تمَّ أخذ عينات من أنسجة شرايين أشخاص مُصابين بأمراض اوعية دموية تاجية ومن شرايين أشخاص الذين ليس لديهم تاريخ لأمراض اوعية دموية. تم إجراء الفحص عن طريق تثبيت النسيج على زجاجة حاملة وإضافة أجسام مضادة مؤشّرة ومتخصّصة التي ترتبط بالإنزيم PON1. بعد بضعة دقائق، تمَّ شطف الأجسام المضادة الزائدة التي لم ترتبط بالنسيج وتمَّ إجراء مشاهدة من خلال المجهر لتحديد أجسام مضادة مؤشّرة على سطح النسيج. تمَّ حساب المساحة المصبوغة (المساحة المغطاة بأجسام مضادة مؤشّرة) من إجمالي مساحة الأنسجة المفحوصة وتظهر النتائج أدناه:

رسم بياني 1



السؤال 4

أ. فسّر العلاقة التي قد تتواجد بين تغيير طفيف في تسلسل الأحماض الأمينية في إنزيم PON1 وتغيير في وتيرة نشاط الإنزيم. (3 درجات)

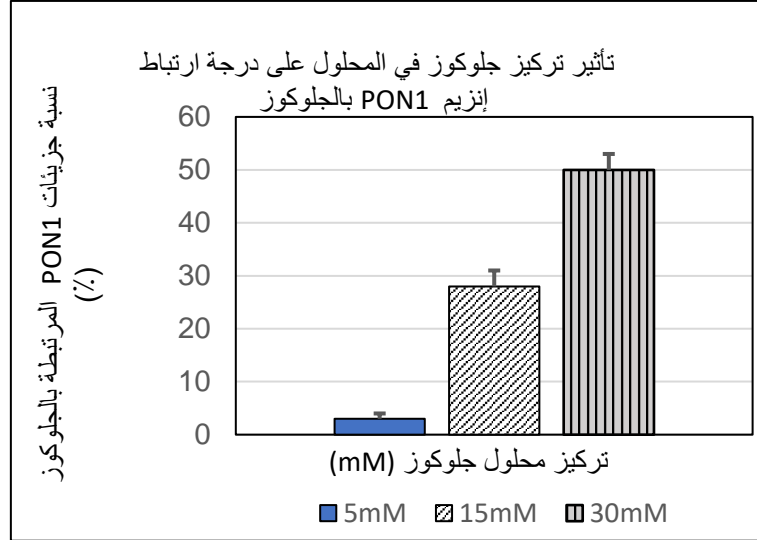
ب. فسّر العلاقة بين مساحة النسيج التي يرتبط بها إنزيم PON1، ودرجة أكسدة LDL ومرض تصلب الشرايين.

(8 درجات)

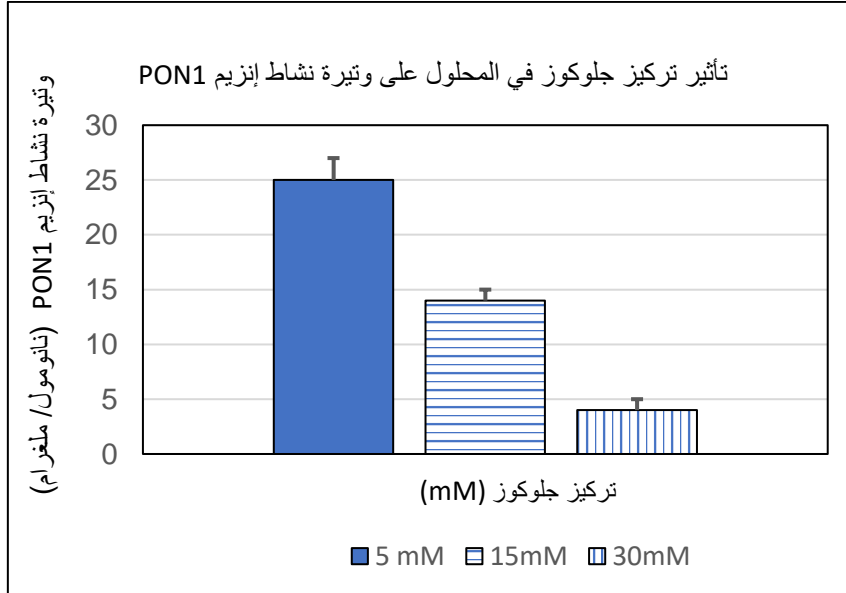
في دراسة أخرى، أراد الباحثون فحص العلاقة بين مستوى جلوكوز في الدم وبين وتيرة نشاط الإنزيم PON1. في حالة هيبرجلوكيميا (فائض جلوكوز في الدم) ترتبط جزيئات جلوكوز بجزيئات بروتينات مختلفة في الدم، بما في ذلك هيموجلوبين و PON1. أضاف الباحثون جزيئات إنزيم PON1 إلى محاليل جلوكوز لمدة 3 أيام وفحصوا نسبة ارتباط جلوكوز بجزيئات الإنزيم ومستوى نشاط الإنزيم وفقاً لوتيرة تكوين نواتج نشاطه.

نتائج التجربة معروضة في الرسم البياني 2 والرسم البياني 3 أدناه:

الرسم البياني 2:



الرسم البياني 3:



السؤال 5

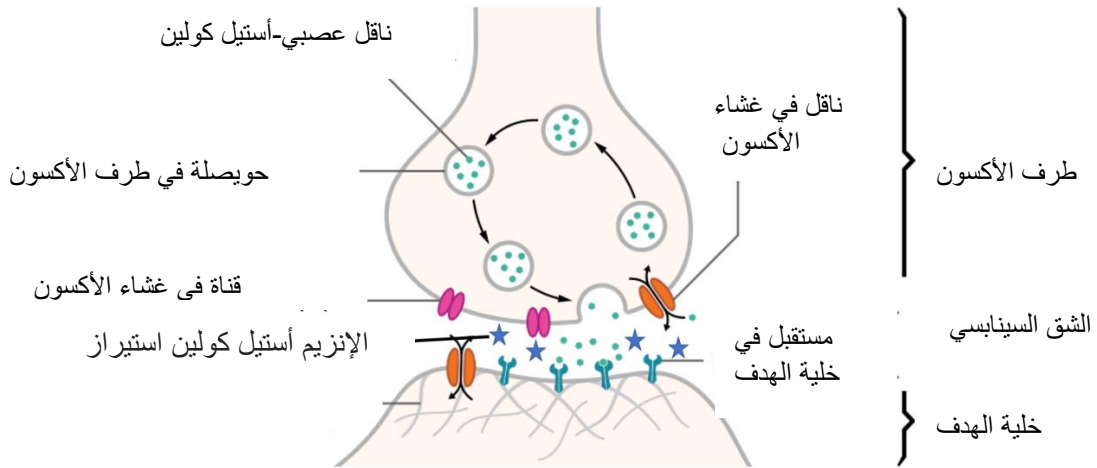
- أ. ما هما المتغيران المتعلقان اللذان فُحصا في التجربة؟ (درجتان)
- ب. اكتب استنتاجين من التجارب التي تم عرض نتائجها في الرسم البياني 2 والرسم البياني 3. (4 درجات)
- ج. فسّر كيف أنّ الاستنتاجات التي كتبتها في البند ب يُمكنها تفسير بعض نتائج الاستطلاع المعروضة في الجدول 1. (6 درجات)

يعتبر الإنزيم PON1 فريداً من حيث قدرته على تفكيك مجموعة كبيرة ومتنوعة من مواد الأساس (السويسترات)، بما في ذلك مواد غير موجودة في الجسم بشكل طبيعي، مثل مركبات الفوسفور العضوي التي تُستخدم كمُكوّن في مبيدات آفات مختلفة وفي غاز الأعصاب. تُثبّط وتُعيق مركبات الفوسفور العضوي بشكل غير عكسي نشاط إنزيم أستيل كولين استيراز في التشابكات العصبية (السينابسا). يقوم هذا الإنزيم بتفكيك الناقل العصبي أستيل كولين * خاصةً في عضلة الحجاب الحاجز وفي الدماغ. إعاقة الإنزيم أستيل كولين استيراز يمكن أن تؤدي إلى شلل عضلات مختلفة إلى درجة توقف التنفس والموت. بالإضافة إلى ذلك، في الحالات التي يبقى فيها المُصاب على قيد الحياة، تسبّب هذه السموم أيضاً أضراراً في الحركة والإدراك بشكل مؤقت وحتى دائم.

* **الأستيل كولين** هو ناقل عصبي نشيط في الجهاز العصبي المركزي الذي يؤدي إفرازه في التشابك العصبي (سينابسا) مع الخلايا العضلية إلى انقباض العضلات.

السؤال 6:

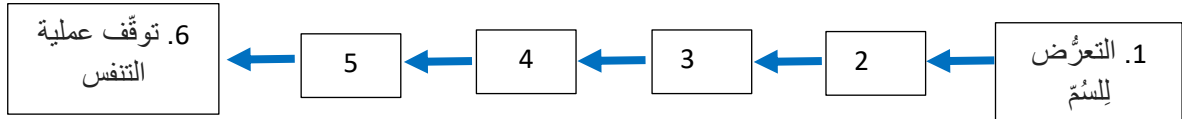
فيما يلي رسم توضيحي الذي يعرض ما يحدث في التشابك العصبي (السينابسا) عند مرور إشارة



إستخدام الرسم التوضيحي واكتب أربع مراحل في سلسلة الأحداث، بترتيب زمني، من لحظة التعرّض للسمّ (مبيدات

آفات أو غاز أعصاب) وحتى مرحلة توقف التنفس. (8 درجات)

يمكنك إضافة خطوات كما يحلو لك:



1. التعرّض للسمّ

2.

3.

4.

5.

6. توقّف عملية التنفس

لا يوجد حالياً علاج فعال ضد التسمم بغاز الأعصاب. على الرغم من أن المادة غير مسموح باستخدامها وفقاً لاتفاقية لاهاي، إلا أنه للأسف هناك مخاوف من أن تستخدمها عوامل مختلفة كسلاح كيميائي، لذلك يُحاول العديد من الباحثين إيجاد علاج فعال للتسمم من هذه المادة. يفحص باحثون من معهد وايزمان، بالإضافة إلى باحثين آخرين حول العالم، إمكانية استخدام إنزيم PON1 كعلاج ضد غاز الأعصاب.

السؤال 7

- أ. يمكن استخدام الإنزيم PON1 كدواء في حالات التسمم بمبيدات من نوع فوسفور عضوي أو التعرض لغاز الأعصاب. فسّر سبب استخدامه عن طريق حقنه في الدم وليس عن طريق الفم. (4 درجات)
- ب. تطرّق إلى المعلومات عن الإنزيم PON1 وفسّر لماذا يمكن حقنه في الدم كدواء وبماذا يمكن أن يكون أكثر فعالية من مُعيق الذي يرتبط بشكل غير عكسي مع جزيئات السّم؟ (8 درجات)

عندما جاءوا للبحث في إمكانية استخدام الإنزيم كدواء، واجه الباحثون مشكلتين:

1. مستوى نجاعة الإنزيم في تفكيك الفسفور العضوي ليست عالية كما هو مطلوب من دواء مُضاد للتسمم.
2. لتحضير دواء، يجب الحصول على كمية كبيرة من الإنزيم الذي يمكن تخزينه في ظروف خاضعة للرقابة في المختبر بمرور الوقت.

يكمن الحلّ في تحضير إنزيم مهندس - عزّل جين الإنزيم وإدخاله إلى خلايا بكتيريا *E. coli*. تُنتج البكتيريا الإنزيم وتفرزه إلى محلول التنمّية في الوعاء الذي تتواجد فيه. أدت تغييرات طفيفة في تسلسل الجين المكوّن لـ PON1 إلى تكوين عدّة أشكال من الإنزيم والتي تمتلك قدرة تحليل مختلفة لفسفور عضوي.

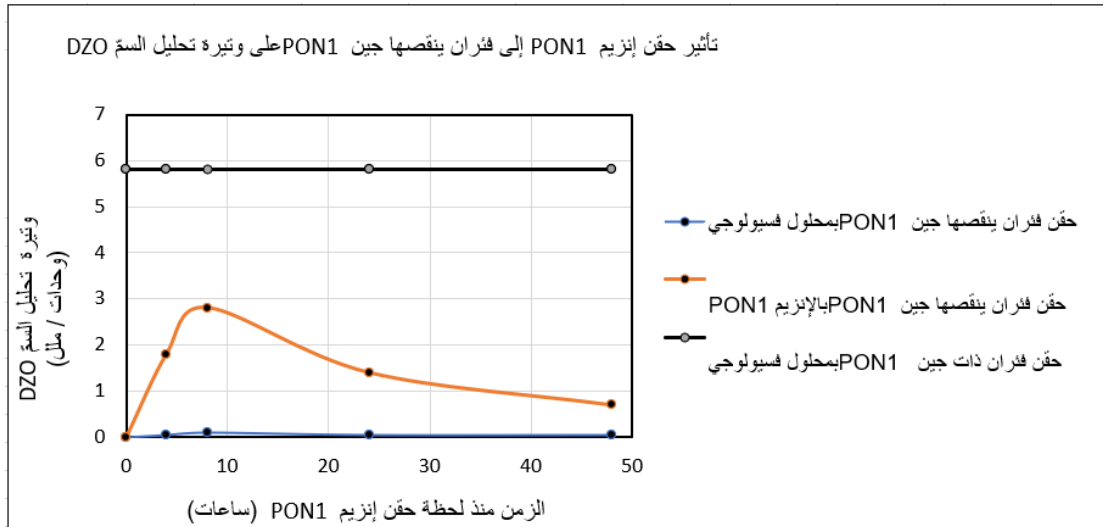
بعد أن حصل الباحثون على كمية كافية من الإنزيم، استخدموه لفحص نشاطه في أجسام فئران.

في البداية، تمّ حقن الإنزيم المُستخلص من البكتيريا في دم فئران يُنقّصها الجين المُنتج لـ PON1 وتمّ متابعته لمدة 48 ساعة لفحص صموده وتيرة نشاطه. خلال التجربة، تمّ أخذ عدد عيّنات دم من الفئران. أضافوا إلى كل عيّنة مادة مُبيّدة، مرّكب فوسفور عضوي يُسمى DZO، وفحصوا وتيرة تحليله.

في المقابل، فحصوا مستوى تحليل هذه المادة المُبيّدة في عيّنات دم أُخذت من فئران لديها الجين المُنتج لـ PON1. في نهاية الفحوصات، تابعوا مراقبة الفئران ولم يجدوا آثار جانبية لحقن الإنزيم في الدم.

نتائج التجربة معروضة في الرسم البياني التالي:

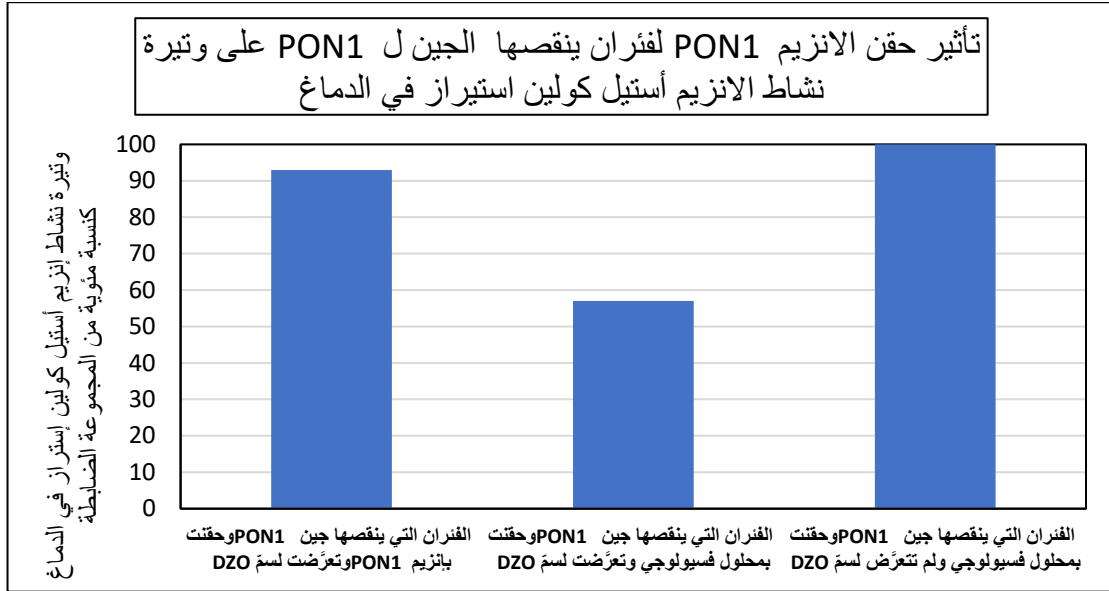
الرسم البياني 4:



في تجربة متابعة (لا تظهر نتائجها هنا) قام الباحثون بزيادة كمية الإنزيم الذي حُقن للفئران التي ينقصها الجين للـ PON1، ثم وجدوا أن مستوى تحليل السمّ DZO الذي تمّ قياسه بعد 8 ساعات من الحقن كان أعلى من مستوى التحليل الذي وُجد في الفئران التي تملك الجين للـ PON1.

في المرحلة الثانية، تمّ تعريف الفرنان لسّم DZO وتمّ فحص درجة الضرر الذي لحق بنشاط إنزيم أستيل كولين أستيراز في أدمغة الفرنان. تمّ قياس مستوى الضرر كنسبة مئوية من مستوى نشاط أستيل كولين أستيراز في أدمغة فرنان متشابهة التي لم تُحقن بالسّم. تظهر نتائج التجربة بالرسم البياني التالي:

الرسم البياني 5:



السؤال 8

- أ. لماذا استخدموا في هذه التجربة فرنان ينقصها جين مُنتج ل PON1 ؟ (6 درجات)
- ب. فسّر ما هي أهمية استخدام المُعالجة بمجموعة الفرنان التي تملك الجين المُنتج لل PON1 (رسم بياني 4) التي تمّ حقنها بمحلول فسيولوجي في مجرى هذه التجربة؟ (5 درجات)
- ج. اكتب استنتاجاً واحداً للتجربة التي نتائجها معروضة في الرسم البياني 4 واستنتاجاً واحداً للتجربة التي نتائجها معروضة في الرسم البياني 5. (4 درجات)

السؤال 9

- أ. فسّر ما هي مساهمة التجربة التي نتائجها معروضة في الرسم البياني 5 في فهم نتائج التجربة المعروضة في الرسم البياني 4؟ (6 درجات)
- ب. هل من الممكن أن نستنتج من هذه التجارب أن إنزيم PON1 يمكن استخدامه كدواء مُضاد لغاز الأعصاب؟ علّل اجابتك. (6 درجات)
- قد تكون القدرة على إنتاج كمية كبيرة من البروتين عن طريق إدخال الجين المكوّن إلى بكتيريا والقدرة على إنتاج أشكال مختلفة من الإنزيم PON1 ذات وتيرة نشاط أعلى، بمثابة فرصة لإنتاج أدوية ناجعة ضد التسمّم بالمبيدات الحشرية وغاز الأعصاب، وكذلك ضد تصلّب الشرايين.