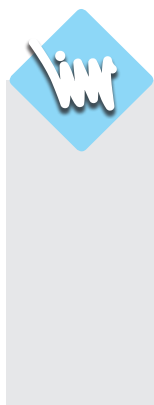


چکیده بیوشیمی بالینی دولین

گردآورندگان:

دکتر صدرا سماورچی طهرانی (رتبه ۱ دکتری بیوشیمی بالینی)
دکتر هیمن مرادی سردره (رتبه ۸ بیوشیمی بالینی)
دکتر فرشاد میرزاوی (رتبه ۲۳ بیوشیمی بالینی)
دکتر معصومه علی آبادی (رتبه ۵ بیوشیمی بالینی)



فهرست

بخش اول – ساختار و مولکول.....۷

- فصل اول: ساختمان سلول ۹
- فصل دوم: دور نمای حرفه‌ای ۱۵
- فصل سوم: ساختمان اسید نوکلئیک ۱۹
- فصل چهارم: آمینواسیدها و ساختمان پروتئین‌ها ۳۹
- فصل پنجم: آنزیم شناسی ۷۱
- فصل ششم: سیتوکروم‌های P_{450} و نیتریک اکسید سنتازها ۹۸
- فصل هفتم: غشاهای زیستی و انتقال مواد ۱۱۱
- فصل هشتم: انتقال پیام (سیگنالینگ) ۱۳۳
- فصل نهم: همانندسازی، نوترکیبی و ترمیم DNA ۱۵۳
- فصل دهم: رونویسی، ترجمه و تنظیم بیان ژن ۱۷۴

بخش دوم – بیوشیمی و متابولیسم۲۰۵

- فصل اول: سیستم‌های تولیدکننده و مصرف‌کننده انرژی ۲۰۶
- فصل دوم: متابولیسم کربوهیدرات‌ها ۲۳۴
- فصل سوم: متابولیسم لیپیدها ۲۸۶
- فصل چهارم: متابولیسم اسیدهای آمینه ۳۴۷
- فصل پنجم: متابولیسم هم ۳۹۱
- فصل ششم: هضم و جذب مواد غذایی ۴۰۰
- فصل هفتم: ارتباط متابولیسمی ۴۲۲
- فصل هشتم: متابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی ۴۵۰
- فصل نهم: ویتامین‌ها و مواد معدنی ۴۷۶
- فصل دهم: بیوشیمی هورمون‌ها ۴۹۶
- فصل یازدهم: بیوشیمی بافت ۵۳۰
- فصل دوازدهم: مرگ سلولی برنامه‌ریزی شده و سرطان ۵۶۲

چکیده
بیوشیمی بالینی
دولین



بخش اول:

ساختار و مولکول

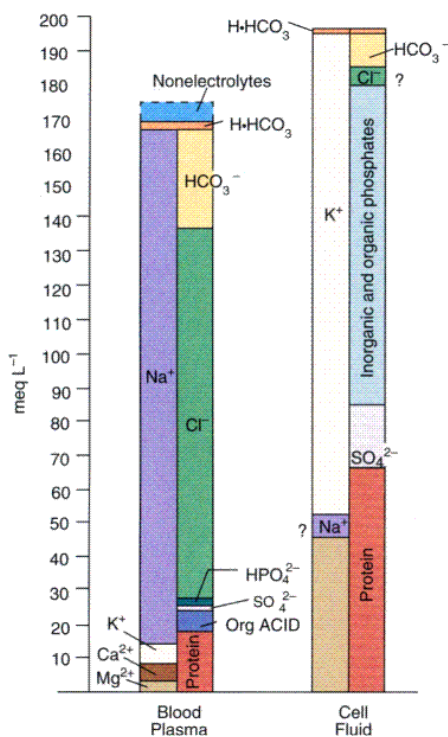
فصل اول: ساختمان سلول

سلول‌ها اساس موجودات زنده هستند.

اساس تمام موجودات زنده، را فضایی تشکیل می‌دهد که توسط غشاء احاطه شده است. این فضا را سلول می‌گویند. تمام موجودات زنده در یکی از سه دومن اصلی آرکی‌ها، یوباکتری‌ها و یوکاریوت‌ها گروه‌بندی می‌شوند. آرکی‌ها ابتدایی‌ترین دومن می‌باشند و باکتری‌ها که شامل باکتری‌های معمول می‌باشند، تحت عنوان پروکاریوت‌ها طبقه‌بندی می‌شوند. DNA پروکاریوت‌ها به صورت رشته حلقوی است و اغلب به صورت توده مجزایی، بنام ناحیه نوکلئوئید، در داخل سلول جدا می‌شود. پروکاریوت‌ها فاقد هیستون‌ها هستند که یک کلاس شدیداً حفظ شده پروتئین‌ها در تمامی یوکاریوت‌ها می‌باشند. یوکاریوت‌ها شامل موجودات تک سلولی نظیر مخمرها، قارچ‌ها، گیاهان و حیوانات چند سلولی هستند.

ترکیب شیمیایی سلول‌های پستانداران

در شکل ۱-۱ برآوردی از ترکیب یونی مایع داخل سلولی که اساساً مربوط به سیتوزول می‌باشد، با پلاسمای خون مقایسه شده است.

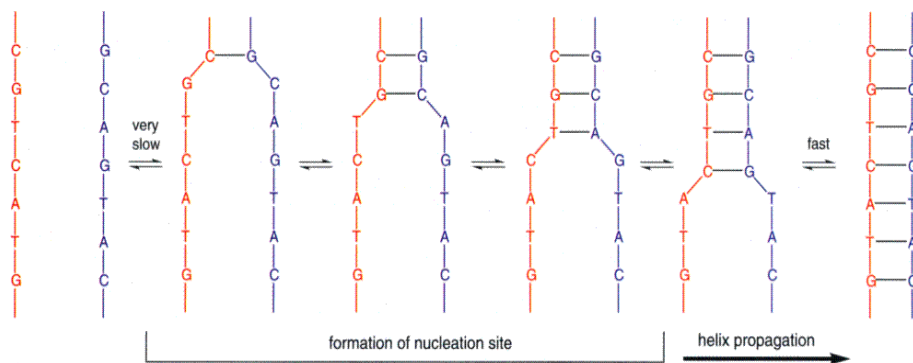


شکل ۱ - ۱ اجزاء شیمیایی اصلی پلاسمای خون و مایع سلولی

جدول ۱ - ۳ اثر معرف های مختلف بر پایداری هلیکس دور رشته ای DNA

<i>Reagent</i>	<i>Adenine Solubility</i> $\times 10^{-3}$ <i>(in 1M Reagent)</i>	<i>Molarity</i> <i>Producing 50%</i> <i>Denaturation</i>
Ethylurea	22.5	0.60
Propionamide	22.5	0.62
Ethanol	17.7	1.2
Urea	17.7	1.0
Methanol	15.9	3.5
Formamide	15.4	1.9

رشته های DNA مکمل که با دناتوراسیون جدا شده اند، در شرایط مناسب می توانند یک مارپیچ دو رشته را دوباره به وجود آورند. این تغییر را رناتوراسیون^۱ یا سرد شدن می گویند. در صورتی که دناتوراسیون کامل نباشد و هنوز چند پیوند هیدروژنی بین جفت بازها برقرار باشد، رناتوراسیون سریعاً قابل برگشت است. مشخص شده است بعد از تشکیل جفت باز ابتدایی، متراکم شدن و ایجاد جفت باز حوادث مستقلی هستند، اما تحت تأثیر جفت های مجاور قرار می گیرند که چنین فرایندی را تعاونی (همکاری) گویند.



شکل ۵ - ۳ اثر تعاونی رناتوراسیون و دناتوراسیون DNA

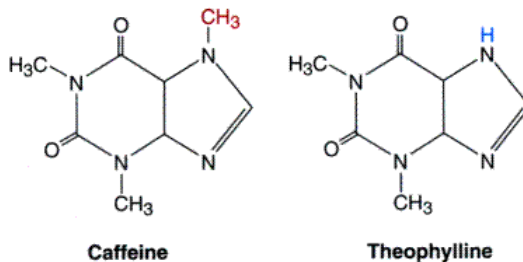
هیبریدیزاسیون

تکنیکی است که برای جستجو و تعیین مقدار توالی های اختصاصی اسید نوکلئیک هدف به کار می رود و اساس آن، پیوستن رشته های پلی نوکلئوتیدی مکمل به یکدیگر می باشد. این تکنیک ها برای تعیین

(۱) وجود یک توالی خاص در DNA یک ارگانیزم خاص،

(۲) یک ارتباط ژنتیکی یا تکاملی بین موجودات مختلف،

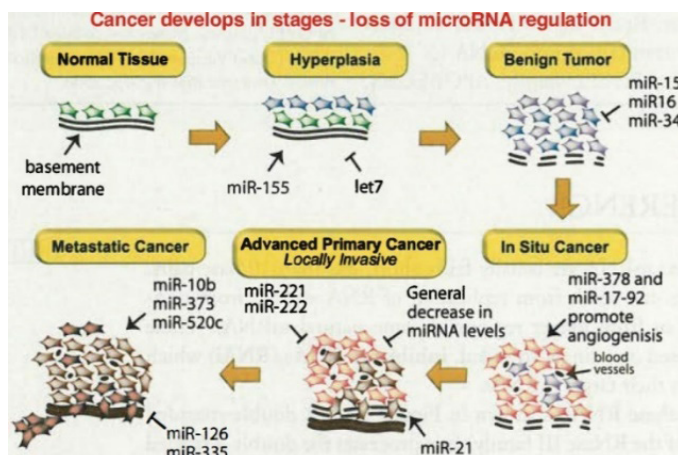
نوع چهارم ریبوزیم ها، ریبونوکلئاز P (RNase P) است. که دارای یک پروتئین و یک بخش RNA است. این ریبوزیم با شکستن پیش سازهای tRNA، انتهای ۵' بالغ مولکول های tRNA را تولید می کند. ■ RNAهایی که بتوانند با اتصال محکم و اختصاصی به لیگاندها بچسبند را آپتامر (Aptamer) می گویند، مانند اینترون های نوع I که به طور اختصاصی به نوکلئوتیدهای گوانینی اتصال می یابند. ■ مدل دنیای RNA: ابتدایی ترین موجود زنده متکی بر RNA بوده و DNA و پروتئین بعدا به وجود آمده اند.



شکل ۱۵- ۳ ساختمان تنوفیلین و کافئین. RNA سنتتیک می تواند ۱۰۰۰۰ برابر محکم تر از کافئین به تنوفیلین متصل شود که علت آن در تعداد گروه متیل است

مولکول های RNA کنترل کننده ترجمه اند

یکی از راه های کنترل ترجمه از طریق جایگاه آپتامری موجود در mRNA است. مولکول های RNA دو رشته ای یک تنظیم کننده منفی بیان ژن از نوع ترانس هستند. میکرو RNA ها (miRNA) RNA های با طول حدود ۲۳ نوکلئوتید هستند که با مولکول mRNA اختصاصی ایجاد جفت باز می کنند و یا ترجمه را متوقف می کنند و یا تخریب را آغاز می نمایند.



شکل ۱۶ - ۳

جدول ۱ - ۴ توزیع بافتی انواع کلاژن

انواع کلاژن	توزیع بافتی	ویژگی‌ها
I	استخوان، پوست، تاندون، دریچه قلب، دیواره روده و رحم	کربوهیدرات پایین؛ >۱۰ هیدروکسی لیزین
II	غضروف، زجاجیه	%۱۰ کربوهیدرات، <۲۰ هیدروکسی لیزین
III	عروق خونی، دیواره روده و رحم	کربوهیدرات پایین؛ هیدروکسی پرولین و Gly بالا، دارای Cys
IV	غشای پایه، کپسول عدسی	دارای Cys، Ala و Arg پایین، کربوهیدرات بالا
V	سطوح سلولی یا ماتریکس خارج سلولی	کربوهیدرات بالا، هیدروکسی لیزین و Gly نسبتاً بالا
VI	جفت، کلیه، آئورت	Cys و Tyr بالا، دومن گلوبولی در ناحیه تلوپتید

سنتز و بلوغ کلاژن

بخشی از سنتز کلاژن در داخل سلول و بخش دیگر در خارج سلول صورت می‌گیرد.

- مرحله داخل سلولی:
 - هیدروکسیله شدن ریشه‌های پرولین و لیزین همزمان با ترجمه
 - گلیکوزیلاسیون (اتصال قند) ریشه‌های هیدروکسی لیزین
 - ایجاد اتصالات دی‌سولفیدی
 - ایجاد ماریج سه‌تایی راست‌گرد پروکلاژن
 - مرحله خارج سلولی:
 - حذف زوائد موجود در انتهای آمینو و کربوکسیل پروکلاژن توسط آنزیم‌های پروکلاژن آمینوپپتیداز و کربوکسی پپتیداز
 - تشکیل تروپوکلاژن
 - ایجاد اتصالات عرضی میان تروپوکلاژن‌ها توسط آنزیم لیزیل آمینو اکسیداز و تشکیل فیبرهای درشت کلاژن
- در کلاژن‌های فیبریلی (نظیر کلاژن نوع I)، پروپیتیدهای انتهای آمینو و کربوکسیل (تحت عنوان تلوپتید) توسط آنزیم‌های پروتئاز شکسته می‌شوند، درحالی‌که پروپیتیدهای انتهای کربوکسیل در کلاژن‌های نوع IV باقی می‌مانند، پس در بین انواع کلاژن‌ها، کلاژن نوع I فاقد تلوپتید است. نقص‌های شناخته شده‌ای در بسیاری از این مراحل وجود دارند که برخی از آنها در جدول ۴-۲ فهرست شده‌اند.

هیدروکسی DHEA تبدیل می‌شود که خود توسط CYP19 موجود در جفت به استروژن استریول تبدیل می‌گردد. داروها و زنوبیوتیک‌ها از طریق دو مسیر متابولیزه می‌شوند: فاز I (واکنش‌های اکسیداتیو) و فاز II (واکنش‌های بیوسنتتیک). در متابولیسم فاز I، توسط سیتوکروم‌های P450 یک گروه عامل نظیر هیدروکسیل در داخل دارو قرار داده می‌شود. سپس در بسیاری از موارد، آنزیم‌های متابولیسم فاز II، این گروه عامل را به یک ترکیب داخلی نظیر گلوکورونیک اسید، سولفات، گلوکاتینون، اسیدهای آمینه یا استات متصل می‌کنند. اثر نهایی یک یا هر دوی این تغییرات، سبب می‌شود تا حلالیت دارو یا ترکیب خارجی در آب بیشتر شده و بنابراین راحت‌تر دفع گردد. سیتوکروم‌های P450 در فاز I متابولیسم نقش دارند که می‌تواند یکی از این ۳ اثر را بر روی ترکیب داشته باشد: غیرفعال‌سازی، فعال‌سازی یا تولید یک متابولیت سمی. برای مثال، فنوباریتال، دیازپام (والیوم) توسط N-D-آلکیلاسیون و هیدروکسیلاسیون به اگزاسپام (فاقد فعالیت بیولوژیک) متابولیزه خواهد شد.

داروهای دیگر تا زمان متابولیزاسیون توسط یک سیتوکروم P450 غیرفعال می‌باشند. داروی ترفنادین (با نام تجاری سِلدان، آنتاگونیست گیرنده H1 هیستامین) به شکل یک دارو یا پیش‌داروی غیرفعال است که با هیدروکسیلاسیون متوالی توسط CYP3A4 به فکسوفنادین تبدیل می‌شود که شکل فعال دارو است. استامینوفن که معمولاً به عنوان یک داروی ضد تب و ضد درد استفاده می‌شود، توسط CYP2E1 به N-استیل-p-بنزوکینون ایمین (NAPQI) تبدیل می‌شود که یک ترکیب شدیداً واکنشگر است و منجر به استرس اکسیداتیو و سمیت می‌شود. عامل دیگر در سمیت کبدی ناشی از استامینوفن، القاء CYP2E1 به دنبال مصرف مشروبات الکلی است که تولید NAPQI را افزایش می‌دهد.

با وجود اینکه سوبسترای اصلی سیتوکروم‌های P450، ترکیبات خارجی هستند، برخی از سوبسترهای داخلی نیز توسط این سیتوکروم‌ها متابولیزه می‌شوند. CYP1A1 و 1A2 به ترتیب در کاتابولیسم هم و متابولیسم استرادیول نقش دارند. همچنین اعضای زیرخانواده‌های 2C، 2B، CYP2A و 3A در متابولیسم تستوسترون، و اعضای زیرخانواده 2D در متابولیسم کاتکول آمین‌ها، و 2E در گلوکونوژنز نقش ایفا می‌کنند.

CYP3A4 توسط ریفامپیسین (یک داروی ضد سل)، داروهای ضد تشنج نظیر کاربامازپین و فنی‌توئین، و کورتون‌هایی نظیر دگزامتازون القاء می‌شود، و توسط عوامل ضد قارچی مانند کتوکنازول، مهارکننده‌های پروتئاز HIV، مسدودکننده‌های کانال کلسیمی، سیکلوسپورین، آنتی‌بیوتیک‌هایی نظیر اریترومايسین، و حتی آب‌گریپ‌فروت مهار می‌شود. با این تفاسیر می‌توان دریافت که مصرف این القاءکننده‌ها یا مهارکننده‌ها با داروهای مختلف، می‌تواند اثرات ناخواسته یا حتی کشنده باشند. به عنوان مثال، مصرف ریفامپیسین (یک القاءکننده CYP3A4) همراه با داروهای ضد بارداری خوراکی (OCP)، منجر به کاهش کارایی داروهای ضد بارداری شده که نتیجه آن حاملگی‌های ناخواسته می‌باشد (چون با القای CYP3A4، متابولیسم داروهای ضد بارداری افزایش یافته که منجر به غیرفعال‌سازی و دفع آنها می‌شود، در نتیجه اثراشان کاهش می‌یابد). از طرف دیگر، مصرف کتوکنازول و یا آب‌گریپ‌فروت (که CYP3A4 را مهار می‌کنند)، همراه با ضد انعقاد

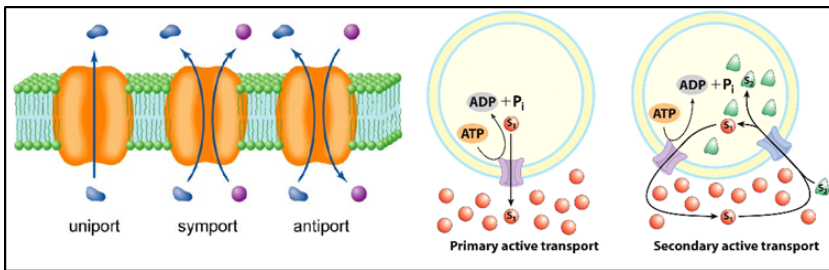
ب) انتقال ممکن است فعال یا غیر فعال باشد:

۱- انتقال فعال:

- انتقال فعال اولیه^۱: انرژی انتقال به طور مستقیم از فعالیت پمپ ATPase تأمین می شود.
- انتقال فعال ثانویه^۲: انرژی انتقال به طور غیرمستقیم از فعالیت پمپ ATPase تأمین می شود.

۲- انتقال غیر فعال

- انتشار ساده: بدون کمک پروتئین غشایی انجام می گیرد.
- انتشار تسهیل شده^۳: به کمک پروتئین های غشایی بنام حامل یا کانال صورت می گیرد.



شکل ۸ - ۷ مکانیسم های تک انتقالی، هم انتقالی همسو و ناهمسو، انتقال فعال اولیه و ثانویه

❖ نکته بالینی: تعدادی از حالات پاتولوژیک ناشی از تغییراتی در یک سیستم انتقالی سلول هستند. به عنوان مثال، در بیماری هارت ناپ، انتقال اسیدآمینه های خنثی در سلول های اپی تلیال روده و توبول های کلیه با نقص روبه روست. در سیستم نوری، باز جذب کلیوی سیستمین و اسیدآمینه های بازی لیزین، آرژنین و اورنیتین غیرطبیعی است که منجر به تولید سنگ های کلیوی سیستمینی می شود.

انتقال Glc با مکانیسم تک انتقالی غیر فعال

خانواده ای از انتقال دهنده های گلوکز (GLUTs)^۴، انتقال گلوکز در عرض غشاهای پلاسمایی را با مکانیسم انتقال تسهیل شده و با سرعتی حدود ۵۰,۰۰۰ برابر بیش از انتشار کاتالیز نشده انجام می دهند. بدلیل اینکه این انتقال دهنده ها تنها یک سوبسترا را حمل می کنند، جزء سیستم تک انتقالی (Uniport) به شمار می آیند. در مجموع ۱۲ ناقل GLUT شناخته شده است که همگی آنها ۱۲ قطعه عرض غشایی دارند. اکثر اینها در غشاء پلاسمایی قرار دارند که در آن جهت حرکت گلوکز معمولاً از خارج به داخل است. گرچه برحسب شیب غلظتی، GLUT۱ در گلبول قرمز، انتقال در هر دو جهت را تسهیل می کند. تعدادی از انواع مهم این ناقل ها در جدول ۷-۲ آمده است.

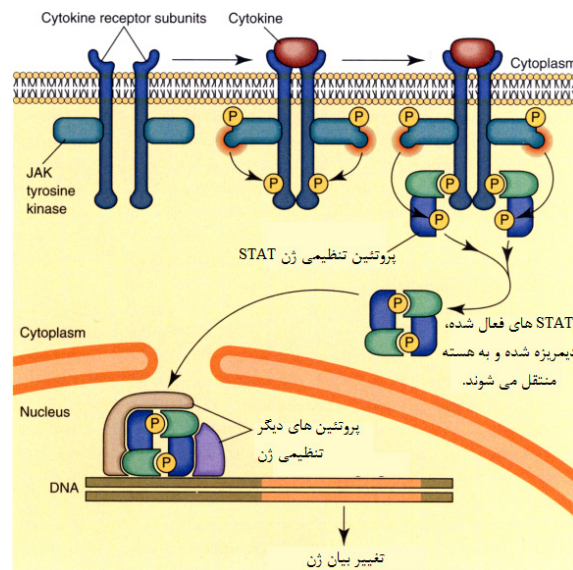
۱. Primary active transport

۲. Secondary active transport

۳. Facilitated diffusion

۴. Glucose Transporters

پروتئین‌های مرتبط با غشاء وجود دارند که تنها در هنگام پیوستن به گیرنده‌های متصل به سایتوکاین، فعال می‌شوند. گیرنده‌های سایتوکاینی که با اینترلوکین‌ها جفت می‌شوند، JAK ها را فرا می‌خوانند تا گیرنده را فسفریله کنند. سپس پروتئین‌هایی تحت عنوان STATs (مبدل‌های پیام و فعال‌گرهای رونویسی) که دارای دومین SH_۲ بوده با اتصال به این جایگاه‌های فسفریله، فعال و دیمریزه شده و به هسته می‌روند. در هسته با پیوستن به سایر پروتئین‌های تنظیمی ژن، نقش خودشان را ایفا می‌کنند (شکل ۸-۸). علاوه بر سایتوکاین‌ها، هورمون رشد (GH)، پرولاکتین (PRL)، اریتروپوئیتین (EPO) و لپتین نیز از مسیر JAK-STAT پیام‌رسانی می‌کنند.

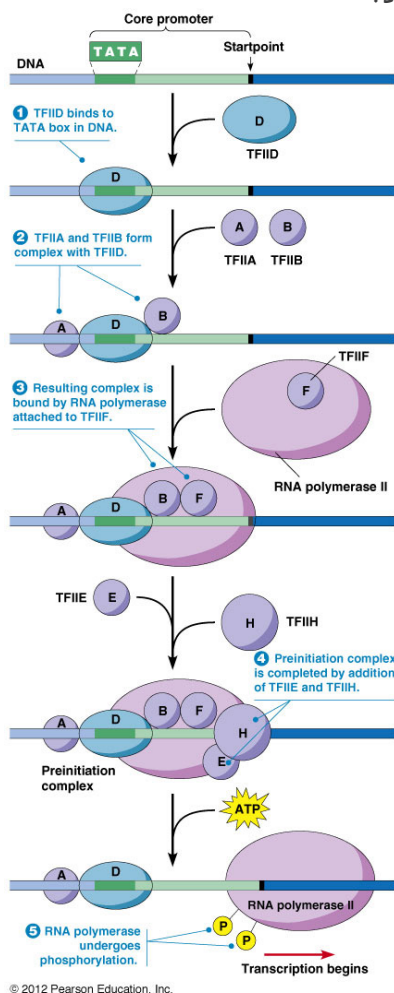


شکل ۸-۸ آنبشارهای پیام‌رسانی که توسط گیرنده سایتوکاینی آغاز می‌شود

گیرنده‌های سایتوکاینی دیگر، پروتئین‌های آداپتوری را به خدمت می‌گیرند که در نهایت سبب جابجایی کمپلکس NFκB (فاکتور هسته‌ای سلول‌های B فعال شده) از سیتوزول به هسته می‌شوند؛ این کمپلکس یک فاکتور رونویسی مهم برای تنظیم بیان ژن‌های درگیر در انواع پاسخ‌های ایمنی و التهابی است. همچنین بسیاری از گیرنده‌های سایتوکاینی، سبب فعال‌سازی آنبشارهای MAPکیناز می‌شوند. نکته بالینی: اینترلوکین ۱ (IL-۱) شامل دو نوع α و β است. IL-1β یک سایتوکاین پیش‌التهابی مهم است. تولید بیش از حد آن با چندین بیماری التهابی نظیر سندروم‌های تب دوره‌ای، بیماری کرون، آرتریت روماتوئید و نقرس مرتبط است. دارویی تحت عنوان آناکینرا یا کینرت که نوعی آنتاگونیست گیرنده IL-۱ هستند می‌توانند در درمان این سندروم‌های خودالتهابی مؤثر باشند.

شروع سنتز RNA، طویل‌سازی و خاتمه

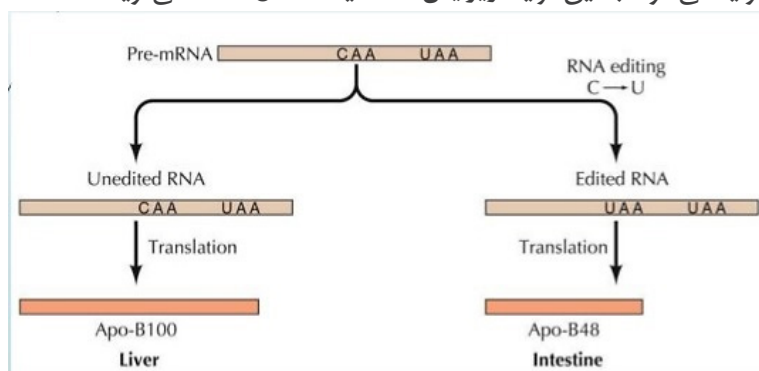
در این مرحله TFIIH با فعالیت کینازی خود به همراه چند پروتئین کیناز دیگر، دامن انتهایی کربوکسیل (CTD) در RNA پلی‌مراز II را فسفریله می‌کنند و سبب شروع رونویسی می‌شوند. بعد از سنتز ۶۰-۷۰ نوکلئوتید ابتدایی، TFIIH و TFIIIE از کمپلکس آزاد شده و آنزیم پلی‌مراز وارد مرحله طویل‌سازی می‌شود. در مرحله طویل‌سازی، تنها فاکتور TFIIIF به صورت متصل به آنزیم باقی می‌ماند و مانع اتصال آن به نواحی غیر اختصاصی DNA می‌شود. پس از تکمیل نسخه‌برداری، RNA پلی‌مراز II دفسفریله شده و آماده نسخه‌برداری جدید می‌شود.



© 2012 Pearson Education, Inc.

شکل ۲ - ۱۰ مراحل اتصال فاکتورهای رونویسی و تشکیل کمپلکس قبل از شروع در یوکاریوت‌ها

مولکول‌های tRNA، mRNA و rRNA برای فعالیت در سیتوپلاسم باید از هسته خارج شوند. انتقال به خارج از هسته از طریق منافذ هسته انجام می‌شود. خروج rRNA‌ها بعد از همایش آنها به شکل ریبوزوم در هسته رخ می‌دهد. ممکن است tRNA‌ها برای انتقال به سیتوپلاسم، توسط آنزیم‌های آمینوآسیل tRNA سنتتاز، آمینوآسیله شوند. برای انتقال mRNA‌ها به GTP، توالی‌های اختصاصی پیام و یک GTPase نیاز است. اسپلایسینگ mRNA و انتقال آن به خارج سبب تضمین کنترل کیفیت mRNA می‌شود. کدون خاتمه (یکی از سه کدون UAG، UAA و UGA) یک mRNA معمولاً در آخرین اگزون قرار دارد. در صورتی که mRNA یک کدون بی‌معنی فرادست می‌داشت، پروتئین کد شده کوتاه‌تر از پروتئین طبیعی می‌شد و احتمالاً فاقد عملکرد بود. یک آنزیم سیتیدین دآمیناز به نام APOBEC۱، یک C در mRNA آپو B را به U تغییر می‌دهد که نتیجه آن تبدیل کدون CAA (گلوتامین) به کدون UAA (خاتمه) است. به این طریق ApoB۴۸ از ApoB۱۰۰ تولید می‌شود. به این فرایند ویرایش RNA یا Editing RNA می‌گویند.



شکل ۷ - ۱۰

تداخل RNA

RNA دو - رشته به مولکول‌های RNA مهاري (RNAi) تک-رشته پردازش می‌شوند که در جهت خاموش‌سازی بیان مولکول‌های mRNA هدف خود عمل می‌کنند. یک RNase اختصاصی RNA دو - رشته (عضوی از خانواده RNase III) ابتدا RNA دو - رشته را به یک نوع دو - رشته کوتاه‌تر پردازش می‌کند که به خارج هسته انتقال داده می‌شود. در داخل سیتوپلاسم، این RNA دو - رشته توسط RNase III دیگری به نام دایسر بیشتر پردازش شده تا تولید یک RNA دو - رشته کوچک به طول حدود ۲۱ جفت باز گردد. سپس این RNA دو - رشته توسط کمپلکس پروتئینی به نام کمپلکس خاموش‌سازی RNA-القاء شده (RISC) یا پروتئین (miRNP) RNA-micro باز می‌شود. در هر صورت، یک رشته از دو رشته RNA انتخاب می‌شود که تقریباً همیشه رشته مکمل mRNA هدف می‌باشد. سپس این RNA کوچک متصل به پروتئین با ایجاد جفت باز به mRNA اتصال یافته و سبب دو رخداد می‌شود. در صورتی که حالت مکمل کامل وجود داشته باشد (این RNA را RNA کوچک مهاري [siRNA] گویند)، آنزیم‌های کمپلکس RISC

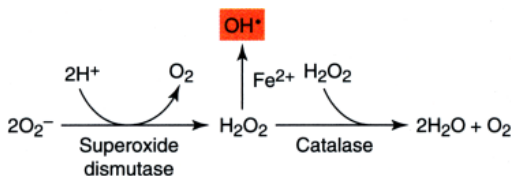
میتوکندری و رها شدن سیتوکروم C و آپوپتوز می‌شود. به علاوه ROS با آسیب به لیپیدهای غشای ER و غشای پلاسمایی، دنا توره کردن آنزیم‌ها و آسیب اکسیداتیو به DNA عمل سلول‌ها را مختل می‌نماید. افزایش سریع سنتز ATP احتمالاً باعث انقباض شدید و متعاقباً مرگ کاردیومیوسیت‌ها می‌شود. ROS باعث کاهش سطح اکسید نیتریک می‌شود که در نتیجه اثرات مفید آن نظیر تجمع نوتروفیل‌ها، غیر فعال سازی رادیکال‌های سوپر اکسید، بهبود جریان خون کرونر را کاهش می‌دهد. طی برقراری مجدد جریان خون قلب ایسکمیک، وجود رادیکال اکسیژنی پراکسی نیتريت (ONOO^-) حاصل از NO و سوپراکسید، گزارش شده است.

آسیب به وجود آمده به وسیله ROS

فسفولیپیدهای غشایی و پلاسما در معرض پراکسیداسیون لیپیدی قرار دارند. رادیکال‌های لیپیدی حاصله سپس با O_2 وارد واکنش شده و رادیکال‌های پراکسی لیپید و پراکسید لیپید همراه مالون دی آلدئید (MDA) درست می‌کنند. خال‌های قهوه‌ای روی دست افراد پیر نشانه‌ای از پراکسیداسیون لیپیدی است. این لکه‌ها حاوی رنگدانه‌های لیپوفوشین می‌باشند که احتمالاً مخلوطی از چربی‌های دارای اتصال متقاطع و محصولات پراکسیداسیون لیپیدی است و در طول عمر یک فرد تجمع می‌یابند. پراکسیداسیون لیپیدی باعث افزایش نفوذپذیری غشا و بیرون ریختن کلسیم و سایر یون‌ها و به دنبال آن تورم سلولی می‌شود. Pro, His, Arg, Cys Met مستعد حمله رادیکال‌های هیدروکسیل می‌باشند و متعاقب آن تجزیه پروتئین‌ها، اتصال متقاطع و تجمع اتفاق می‌افتد. مهم‌ترین پیام ROS صدمه به DNA هسته‌ای و میتوکندریایی است که باعث جهش می‌شود. اتصال یون فرو (Fe^{2+}) به DNA باعث تشکیل ROS و پارگی DNA می‌شود. (حساسیت به جهش: $\text{mtDNA} > \text{DNA}$)

دفاع سلولی در برابر ROS

پستانداران سه ایزوform SOD (سوپراکسیددسموتاز) دارند که تبدیل سوپر اکسید به پراکسید هیدروژن را کاتالیز می‌کند. SOD سیتوزولی حاوی Cu/Zn در جایگاه فعال خود است. ولی SOD میتوکندریایی حاوی Mn در جایگاه فعال خود است. پراکسید هیدروژن توسط کاتالاز برداشته می‌شود. این آنزیم حاوی هم بوده و در پراکسی زوم و به میزان کمتر در سیتوزول و میتوکندری وجود دارد.



شکل ۲۴ - ۱۱ حذف رادیکال آزاد توسط سوپراکسیددسموتاز و کاتالاز

مهار گلیکولیز توسط معرف‌های سولفیدریل و فلوراید

معرف‌های سولفیدریل، $G\dot{3}P$ دهیدروژناز را مهار می‌کند زیرا cys در جایگاه فعال این آنزیم وجود دارد و تولید یک تیوهیمی استال می‌کند. معرف‌های سولفیدریل که اکثراً ترکیبات حاوی Hg یا آلکیل‌کننده نظیر یدواستات هستند از تشکیل تیوهیمی استال پیشگیری می‌کنند (مثل متیل مرکوریک کلراید). فلوراید یک مهارکننده قوی انولاز است. فلوراید با Mg^{2+} و pi تشکیل یک کمپلکس یونی کرده که با اتصال انولاز به 2 -فسفوگلیسرات تداخل می‌کند.

مهار گلیکولیز توسط هیپرگلیسمی

هیپرگلیسمی باعث مهار $G\dot{3}P$ دهیدروژناز می‌شود. علت آن است که هیپرگلیسمی باعث تولید بیش از حد ROS شده که PARP را فعال می‌کند. پلی ADP-ریبوز پلی مرز (PARP) با مصرف NAD⁺ و تولید نیکوتین آمید واکنش خود را به پیش می‌برد. PARP ریشه سولفیدریل آزاد $G\dot{3}P$ دهیدروژناز را ADP-ریبوزیله می‌کند و گلیکولیز را به طور نسبی مهار می‌نماید. همچنین تولید بیش از اندازه رادیکال سوپراکسید در میتوکندری علت اصلی آسیب می‌باشد که تا حدودی دلیل آن غیر فعال سازی $G\dot{3}P$ دهیدروژناز است. آرسنات بدون مهار گلیکولیز تولید خالص ATP را مهار می‌نماید.

آرسنیک اسید ۵ ظرفیتی از راه آرسنولیز در واکنش $G\dot{3}P$ دهیدروژناز از تولید ATP خالص پیش‌گیری می‌کند. ساختمان آرسنات مشابه فسفات است و در واکنش‌های آنزیمی به راحتی به جای P قرار می‌گیرد. در $G\dot{3}P$ دهیدروژناز آرسنات تولید ۱-آرسنو ۳-فسفوگلیسرات می‌کند که ناپایدار بوده و به طور خودبه‌خود به ۳-فسفوگلیسرات و آرسنات غیرآلی هیدرولیز می‌شود در نتیجه ۱، ۳- بیس فسفو گلیسرات تولید نشده و فسفوگلیسرات کیناز ATP تولید نمی‌نماید. مقدار و تعداد ATP در فاز آماده‌سازی (مصرف شده) با پیرووات کیناز متعادل می‌شود. شکل ۳ (AsO_4 ظرفیتی از شکل ۵ (AsO_4) ظرفیتی بسیار سمی تر است. آرسنات (۵ ظرفیتی) با pi برای جایگاه pi رقابت می‌کند. مکانیسم اثر آرسنیت (۳ ظرفیتی) متفاوت است و یک کمپلکس پایدار با اسید لیپوئیک متصل به آنزیم تشکیل می‌دهد پس در اکثر موارد آنزیم‌هایی که کوفاکتور آن‌ها اسید لیپوئیک است توسط آرسنیت مهار می‌شوند (α ، PDH-کتوگلوترات دهیدروژناز و آلفا-کتواسید دهیدروژناز). اندازه‌گیری غلظت آرسنیک در مو یا ناخن انگشتان قابل تشخیص است میزان ۰/۵ میلی‌گرم در هر کیلوگرم مو یک فرد طبیعی وجود دارد.

تنظیم گلیکولیز

بهترین راه برای تعیین ارزیابی نقش هر آنزیم در فرایند گلیکولیز تعیین قدرت تنظیم‌کننده آن آنزیم است.

$$\text{ControlStrength} = \frac{\text{Change in flax}}{\text{Change in Enzym activity}}$$

مثلاً مهار یک آنزیم به اندازه ۱۰٪ بر سرعت گلیکولیز تأثیر ندارد قدرت تنظیم‌کننده این آنزیم صفر می‌باشد. (صفر تقسیم بر ۱۰). ولی اگر مهار ۱۰٪ باعث کاهش سرعت به میزان ۱۰٪ باشد قدرت تنظیم‌کننده آن آنزیم ۱ (۱۰ تقسیم بر ۱۰) می‌باشد. قدرت تنظیم‌کننده مراحل یک فرایند خطی در مجموع باید ۱ شود. HK، PFK-1 و پیرووات کیناز بیشترین قدرت تنظیم‌کنندگی را در مسیر گلیکولیز بر عهده دارند.