اصول بیوشیمی پزشکی

جلد دوم

برای دانشجویان علوم پزشکی

اعضاء هیئت علمی مولف:

به ترتیب حروف الفبا

دکتر معصومه اکملی

دکتر علی اکبر اوجی

دکتر عاطفه ثقه الاسلام

دکتر مژگان راستی

دکتر پونه مکرم

دکتر زهره مصطفوی پور

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

ویراستاری علمی و تدوین :

دکتر علی اکبر اوجی

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

مهر ماه ۱۳۹۵

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول: متابولیسم کربوهیدرات‌ها	۹
۱-۱ هضم کربوهیدرات ها	۱۱
۱-۲ هومئوستاز گلوکز	۱۲
۱-۳ متابولیسم گلوکز	۱۳
۱-۳-۱ فسفوریلاسیون گلوکز	۱۴
۱-۳-۲ گلیکولیز یا مسیر امبدن – میرهوف	۱۴
۱-۳-۳ مراحل راه گلیکولیز	۱۵
۱-۳-۴ محاسبه انرژی گلیکولیز تا مرحله تولید پیروات	۱۸
۱-۳-۵ کاتابولیسم پیروات	۱۹
۱-۴ گلوکونئوژنز	۲۴
۱-۵ چرخه اسیدلاکتیک	۲۶
۱-۶ چرخه گلوکز ـ آلانین	۲۶
۱-۷ تنظیم گلیکولیز و گلوکونئوژنز	۲۷
۱-۸ متابولیسم گلیکوژن	۲۹
۱-۸-۱ گلیکوژنز	۲۹
۱-۸-۲ گلیکوژنولیز	۳۰
۱-۸-۳ تنظیم متابولیسم گلیکوژن	۳۱
۱-۹ مسیر پنتوز فسفات	۳۱
۱-۹ مسیر اسید اورونیک	۳۴
۱-۱۰ متابولیسم سایر قندها	۳۶
۱-۱۰-۱ فروکتوز	۳۶
۱-۱۰-۲ گالاکتوز	۳۸
۱-۱۰-۳ مانوز	۳۹
۱-۱۱ اختلالات مربوط به متابولیسم کربوهیدرات‌ها	۳۹
فصل دوم: متابولیسم چربی ها	۴۵
۲-۱ هضم لیپیدها	۴۷
۲-۲ جذب لیپیدها	۴۹
۲-۳ ذخیره سازی اسید چرب در بافت چربی و لیپولیز	۵۰
۲-۴ کاتابولیسم اسیدهای چرب	۵۱

عنوان

صفحه

۲-۴-۱ واکنش های بتا اکسیداسیون ۵۳
۲-۴-۲ اجسام ستنی ۵۹
۲-۴-۳ اختلالات ارثی در روندهای مرتبط با کاتابولیسم اسیدهای چرب ۶۱
۲-۵ بیوسنتز لیپیدها ۶۴
۲-۵-۱ بیوسنتز اسیدهای چرب ۶۴
۲-۵-۲ بیوسنتز تری گلیسیریدها و فسفولیپیدها ۶۸
۲-۵-۳ بیوسنتز کلسترول ۶۹
۲-۵-۴ بیوسنتز املاح صفراوی ۷۳
۲-۶ متابولیسم ایکوزانوئیدها ۷۵
۲-۶-۱ مسیر سیکلواکسیژناز ۷۵
۲-۶-۲ مسیر لیپو اکسیژناز ۷۷
۲-۷ سؤالات چند گزینه ای ۷۹

فصل سوم: متابولیسم اسیدهای آمینه **۸۵**
۳-۱ مرور کلی متابولیسم نیتروژن ۸۷
۳-۲ اکسیداسیون اسیدهای آمینه وتشکیل اوره ۸۹
۳-۳ تجزیه پروتئین های غذا به طریق آنزیمی در روده ۹۰
۳-۴ سرنوشت متابولیکی گروههای آمینی ۹۲
۳-۴-۱ نقش پیریدوکسال فسفات درانتقال گروه آمینی به α کتوگلوتارات ۹۴
۳-۴-۲ گلوتامات آمونیاک را درکبدآزادمی کند ۹۴
۳-۴-۳ گلوتامین آمونیاک را درگردش خون انتقال می دهد ۹۷
۳-۵ اثرات سمی آمونیاک ۹۷
۳-۵-۱ سیکل اوره و دفع ترکیبات زائد نیتروژن دار ۹۸
۳-۵-۲ اوره، طی پنج مرحله آنزیمی ازآمونیاک تولید می گردد ۹۹
۳-۶ ارتباط چرخه های اسیدسیتریک و اوره ۱۰۱
۳-۷ مسیرهای تجزیه اسیدهای آمینه ۱۰۳
۳-۷-۱ اسیدهای آمینه گلوکوژنیک وکتوژنیک ۱۰۴
۳-۷-۲ دو مسیر متابولیکی گلیسین ۱۰۵
۳-۷-۳ کاتابولیسم اسیدهای آمینه آروماتیک ۱۰۶
۳-۷-۴ تجزیه فنیل آلانین ۱۰۶
۳-۷-۵ واکنشهای تیروزین ۱۰۷
۳-۷-۶ آلبینیسم یا زالی ۱۰۸
۳-۸ اختلالات وراثتی درکاتابولیسم فنیل آلانین ۱۰۸
۳-۸-۱ فنیل کتونوریا ۱۰۸
۳-۸-۲ آلکاپتونوریا ۱۱۰

عنوان	صفحه
۳-۹ کاتابولیسم اسیدهای آمینه شاخه دار	۱۱۰
۳-۹-۱ بیماری ادرارشربت افرا	۱۱۱
۳-۱۰ بیوسنتز اسیدهای آمینه	۱۱۱
۳-۱۰-۱ گلوتامین سنتتاز یک نقطه تنظیمی اولیه درمتابولیسم نیتروژن	۱۱۱
۳-۱۰-۲ بیوسنتزسیستئین ازهموسیستئین و سرین	۱۱۱
۳-۱۱ اسیدهای آمینه برای بیوسنتز کراتین و گلوتاتیون لازم هستند	۱۱۳
۳-۱۱-۱ نقشها و وظایف گلوتاتیون درحیات سلول	۱۱۵
۳-۱۲ بیوسنتز نوروترانسمیترها از اسیدهای آمینه	۱۱۵
۳-۱۳ سوالات نمونه فصل	۱۱۷
فصل چهارم: متابولیسم هیم ورنگدانه های صفراوی	**۱۱۹**
۴-۱ مقدمه	۱۲۱
۴-۱-۱ اهمیت بالینی	۱۲۱
۴-۲ ساختمان متالوپرفیرن ها	۱۲۱
۴-۳ مشخصات پرفیرین های طبیعی	۱۲۲
۴-۴ سنتز هیم	۱۲۳
۴-۴-۱ پرفیرین ها ترکیبات رنگی ودارای خاصیت فلورسانس هستند	۱۲۶
۴-۵ ناهنجاریهای ژنتیکی متابولیسم هیم (پرفیریا)	۱۲۶
۴-۶ کاتابولیسم هیم وتولیدبیلی روبین	۱۲۹
۴-۶-۱ برداشت بیلی روبین توسط کبد	۱۳۱
۴-۶-۲ کونژوگه شدن بیلی روبین در کبد	۱۳۱
۴-۶-۳ ترشح بیلی روبین به داخل صفرا	۱۳۲
۴-۶-۴ احیاء بیلی روبین کونژوگه به وسیله باکتریهای روده وتبدیل شدن به اوروبیلینوژن	۱۳۲
۴-۷ هیپربیلی روبینمی وایجادیرقان	۱۳۳
۴-۷-۱ افزایش مقادیر بیلی روبین غیرکونژوگه در چندین بیماری	۱۳۴
۴-۷-۲ افزایش بیلی روبین کونژوگه	۱۳۵
۴-۷-۳ اتصال بیلی روبین کونژوگه با پیوند کووالان به آلبومین	۱۳۶
۴-۸ سوالات نمونه فصل	۱۳۷
فصل پنجم: متابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی وپیریمیدینی	**۱۳۹**
۵-۱ مقدمه	۱۴۱
۵-۲ سنتزنوکلئوتیدهای پورینی (AMP , GMP)	۱۴۱
۵-۲-۱ سنتز از نو	۱۴۱
۵-۲-۲ واکنشهای مسیرDe novo رابه دومرحله میتوان تقسیم بندی کرد	۱۴۲
۵-۲-۳ واکنش های مرحله اول	۱۴۲
۵-۲-۴ واکنش های مرحله دوم	۱۴۴

عنوان | صفحه

۵-۲-۵ کنترل سنتزپورینها ۱۴۵
۵-۳ تبدیل نوکلئوزیدمنوفسفات Nucleosidemonophosphate به
Nucleoside triphosphate ۱۴۷
۵-۴ مسیربازیافت نوکلئوتیدهای پورینی ۱۴۷
۵-۵ سنتز Denovo نوکلئوتیدهای پیریمیدینی ۱۴۸
۵-۵-۱ سنتز CTP ۱۵۰
۵-۵-۲ تنظیم سنتزپیریمیدین ها ۱۵۰
۵-۶ بیوسنتز دی اکسی ریبونوکلئوتیدها از ریبونوکلئوتیدها ۱۵۰
۵-۷ داروهای ضدسرطان ۱۵۲
۵-۸ کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی ۱۵۴
۵-۸-۱ بیماری نقرس ۱۵۶
۵-۹ کاتابولیسم پیریمیدین ها ۱۵۶
۵-۱۰ مکانیسم ایجاد بیماری نقرس ۱۵۸
۵-۱۰-۱ کمبودآنزیم Glucose-6-phosphatase ۱۵۸
۵-۱۰-۲ افزایش فعالیت آنزیم Glutathione reductase ۱۵۹
۵-۱۰-۳ افزایش فعالیت آنزیم های PRPP synthetase و
PRPP Amidotransferase ۱۶۰
۵-۱۰-۴ کاهش جزئی فعالیت آنزیم HGPRT ۱۶۰
۵-۱۰-۵ بیماری ژنتیکیLesch-Nyhan ۱۶۰
۵-۱۰-۶ تغذیه ودرمان بیماران نقرسی ۱۶۱
۵-۱۱ نمونه سؤالات فصل پنجم ۱۶۳

فصل ششم: همانندسازی DNA (DNA Replication) ۱۶۵
۶-۱ مقدمه ۱۶۷
۶-۲ مبدأ همانندسازی Replication origin ۱۶۸
۶-۳ فرایندهمانندسازی DNA رابه سه مرحله میتوان تقسیم کرد ۱۷۰
۶-۴ مکانیسم ساخته شدن DNA ۱۷۱
۶-۵ سنتز قطعات اکازاکی و پلیمریزاسیون رشته پیش رو و پس رو ۱۷۲
۶-۶ آنزیمهای DNA پلیمراز ۱۷۴
۶-۷ برداشته شدن پرایمر RNA از ابتدای رشته های DNA ۱۷۶
۶-۸ اتصال DNA پلیمراز به DNA توسط گیره متحرک بتا ۱۷۷
۶-۹ زپلیزوم و نقش آنزیم های هلیکاز و توپوایزومراز در همانند سازی ۱۷۸
۶-۱۰ خاتمه همانند سازی کروموزوم باکتری ۱۸۰
۶-۱۱ همانندسازی در سلول های یوکاریوتی ۱۸۱
۶-۱۲ نقش آنزیم تلومراز در همانند سازی انتهای کروموزوم یوکاریوتی ۱۸۲
۶-۱۳ نمونه سؤالات فصل ۶ ..... ۱۸۵

صفحه

عنوان

فصل هفتم: رونویسی ژنی (بیان ژن RNA Transcription) ۱۸۷
۷-۱ مقدمه ۱۸۹
۷-۲ اختلاف همانندسازی و نسخه برداری ۱۸۹
۷-۳ مکانیسم رونویسی توسط RNA پلیمراز ۱۸۹
۷-۴ شناسایی پروموتور توسط RNA پلیمراز در باکتری ۱۹۲
۷-۵ مرحله شروع و طویل شدن رونویسی RNA در باکتری ۱۹۴
۷-۶ مرحله خاتمهTerminationنسخه برداری در باکتری ۱۹۵
۷-۷ نسخه برداری دریوکاریوتها ۱۹۷
۷-۸ پروموتور ژنهای یوکاریوتی ۱۹۷
۷-۹ اهمیت انتهای کربوکسیلی RNA پلیمراز II (CTD domain) در رونویسی ۱۹۸
۷-۱۰ نقش فاکتورهای رونویسی در نسخه برداری ژنهای یوکاریوتی ۱۹۸
۷-۱۱ پردازشRNA ۲۰۰
۷-۱۲ ممانعت کننده های رونویسی ۲۰۲
۷-۱۳ نمونه سؤالات فصل هفتم ۲۰۴
فصل هشتم: ترجمه وسنتزپروتئین Translation ۲۰۵
۸-۱ مقدمه ۲۰۷
۸-۲ کد ژنتیکی ۲۰۸
۸-۳ مراحل پنجگانه سنتز پروتئین ۲۱۰
۸-۴ مرحله فعال سازی اسیدهای آمینه ۲۱۱
۸-۴-۱ Transfer RNA (tRNA) ۲۱۱
۸-۴-۲ آنزیم های Aminoacyl-tRNA سنتتاز ۲۱۲
۸-۵ انجام فرآیند ترجمه ۲۱۳
۸-۵-۱ مرحله شروع ترجمه Initiation ۲۱۳
۸-۵-۲ نقش جایگاه های مختلف موجود در ریبوزوم در ترجمه ۲۱۴
۸-۵-۳ فرآیندهای شروع ترجمه Initiation در باکتریها ۲۱۴
۸-۵-۴ شروع ترجمه در یوکاریوت ها ۲۱۶
۸-۶ مرحله رشد زنجیرۀپپتیدی Elongation در باکتریها ۲۱۸
۸-۶-۱ مرحله رشد و طویل شدن زنجیره پلی پپتیدی در یوکاریوت ها ۲۲۲
۸-۷ مرحله خاتمه ترجمه ۲۲۲
۸-۸ مصرف انرژی برای سنتز پروتئین ۲۲۳
۸-۹ تشکیل پلی زوم ۲۲۳
۸-۱۰ سموم وآنتی بیوتیکهای ممانعت کننده سنتزپروتئین ۲۲۴
۸-۱۰-۱ پوروماپسینPuromycin ۲۲۴
۸-۱۰-۲ تتراسایکلین ۲۲۴
۸-۱۰-۳ کلرآمفنیکل ۲۲۴
۸-۱۰-۴ استرپتومایسین ۲۲۴

عنوان	صفحه

۸-۱۰-۵ اریترومایسین ۲۲۵
۸-۱۰-۶ سیکلوهگزامید ۲۲۵
۸-۱۰-۷ سم دیفتری ۲۲۶
۸-۱۰-۸ سم رایسینRicin ۲۲۶
۸-۱۱ نمونه سوالات فصل هشتم ۲۲۷
فصل نهم: گیرنده ها و مسیرهای انتقال پیام هورمون ها ۲۲۹
۹-۱ انتقال پیام ۲۲۹
۹-۱-۱ گیرنده های غشایی ۲۲۹
۹-۱-۲ گیرنده های هسته ای ۲۳۹
۹-۲ سیستم‌های پیامبرهای ثانویه ۲۴۱
۹-۲-۱ سیستم cAMP ۲۴۱
۹-۲-۲ سیستم اینوزیتول ۱،۴،۵ تریس فسفات ۲۴۳
۹-۲-۳ سیستم cGMP ۲۴۵
۹-۳ سؤالات چند گزینه ای ۲۴۸
فصل دهم: بیوشیمی هورمون ها ۲۵۳
۱۰-۱ تشکیلات هورمونی سیستم درونریز پستانداران ۲۵۵
۱۰-۲ هورمونهای پپتیدی ۲۵۶
۱۰-۲-۱ هورمون های هیپوتالاموسی ۲۵۶
۱۰-۲-۲ هورمون های تروپیک هیپوفیز جلویی ۲۵۸
۱۰-۲-۳ هورمون های پانکراس ۲۶۲
۱۰-۳ هورمونهای مشتق از اسیدهای آمینه ۲۶۸
۱۰-۳-۱ کتکول آمینها ۲۶۸
۱۰-۳-۲ هورمون های تیروئیدی ۲۷۲
۱۰-۴ هورمون های استروئیدی ۲۷۸
۱۰-۵ سؤالات چند گزینه ای ۲۸۳
فصل یازدهم: آنزیم شناسی بالینی و متابولیسم مواد معدنی ۲۹۱
۱۱-۱ آنزیم شناسی بالینی ۲۹۳
۱۱-۱-۱ آسپارتات آمینوترانسفراز یا گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز ۲۹۳
۱۱-۱-۲ آلانین آمینوترانسفراز یا گلوتامات پیروات ترانس آمیناز ۲۹۴
۱۱-۱-۳ لاکتات دهیدروژناز ۲۹۵
۱۱-۱-۴ کراتین فسفوکیناز ۲۹۵
۱۱-۱-۵ آلکالین فسفاتاز ۲۹۶
۱۱-۱-۶ اسید فسفاتاز ۲۹۶
۱۱-۱-۷ آلفا - آمیلاز ۲۹۷

عنوان | صفحه

۸-۱-۱۱ لیـپاز ۲۹۷
۹-۱-۱۱ گاما گلوتامیل ترانسفراز ۲۹۷
۱۰-۱-۱۱ ′5- نوکلئوتیداز ۲۹۷
۱۱-۱-۱۱ آلدولاز ۲۹۸
۱۲-۱-۱۱ استیل کولین استراز ۲۹۸
۲-۱۱ متابولیسم مواد معدنی ۲۹۹
۱-۲-۱۱ کلسیم ۲۹۹
۲-۲-۱۱ فسفات ۳۰۰
۳-۲-۱۱ منیزیوم ۳۰۲
۴-۲-۱۱ عناصر کمیاب (آهن، کرم، کبالت، مولیبدان، منگنز، سلنیم، فلوراید، مس و روی) ۳۰۲
۳-۱۱ سؤالات چند گزینه ای ۳۰۶

فصل دوازدهم: لیپوپروتئین های پلاسما و تصلب شرایین ۳۰۷
۱-۱۲ لیپوپروتئین ها ۳۰۸
- ساختار کلی لیپوپروتئین ها ۳۰۸
- تقسیم بندی لیپوپروتئین ها ۳۰۹
- شیلومیکرون ۳۱۰
- LDL , VLDL و HDL ۳۱۱
۲-۱۲ آتروژنز ۳۱۳
- ارکان اصلی بروز تصلب شرایین ۳۱۳
- گسیخته شدن پلاک ۳۱۵
۳-۱۲ روش های آزمایشگاهی در ارزیابی خطر ابتلا به تصلب شرایین ۳۱۵
۴-۱۲ سوالات چند گزینه ای ۳۱۸

۱

فصل اول:

متابولیسم کربوهیدرات‌ها

Carbohydrate metabolism

دکتر مژگان راستی

پس از مطالعه این بخش انتظار می‌رود بتوانید:

- آنزیم‌ها و پروتئین‌های مهم مربوط به هضم و جذب مواد کربوهیدرات و بیماری‌های شایع گوارشی مربوط به آن‌ها را بشناسید.
- واکنش‌های مسیر بی‌هوازی و هوازی گلیکولیز را شناخته و بازده انرژی در هر مسیر را محاسبه کنید.
- جایگاه اصلی تنظیم آلوستریک در روند گلیکولیز و عوامل فعال‌کننده و مهارکننده آنزیم آن جایگاه را بشناسید.
- مفهوم فسفریلاسیون در سطح سوبسترا را بیان کنید.
- ترکیبات حدواسط چرخه کربس را نام ببرید.
- جایگاه اصلی تنظیم آلوستریک در چرخه کربس و عوامل فعال‌کننده و مهارکننده آنزیم آن جایگاه را بشناسید.
- چگونگی تولید CO_2 در چرخه کربس را توضیح داده و بازده انرژی در هر دور گردش این چرخه را محاسبه کنید.
- نقش اصلی مسیر پنتوز فسفات در گلبول‌های قرمز و در سلول‌های هسته‌دار، و ترکیبات مهارکننده و فعال‌کننده آنزیم کلیدی آن را توضیح دهید.
- چرخه‌های کری(Cori) و آلانین ـ پیروات را تعریف کنید.
- سوبستراهای مسیر گلیکونئوژنز، اهمیت زیستی و آنزیم کلیدی این مسیر را معرفی کنید.
- نحوه عملکرد آنزیم‌های کلیدی مسیرهای گلیکوژنز و گلیکوژنولیز را توضیح دهید.
- چگونگی ورود فروکتوز، گالاکتوز و مانوز به مسیر گلیکولیز را بیان کنید.
- اساس بیوشیمیایی بیماری‌های شناخته‌شده متابولیسم کربوهیدرات‌ها را شرح دهید.

مهم‌ترین نقش کربوهیدرات‌ها، شرکت مؤثر در فراهم نمودن انرژی موردنیاز بدن است. از کاتابولیسم هر گرم کربوهیدرات تقریباً ۴ کیلو کالری انرژی در بدن تولید می‌شود. در این بخش مسیر اصلی کاتابولیسم گلوکز، مسیر گلیکولیز (Glycolysis) بررسی خواهد شد. از طرفی، بدن نیازمند مکانیسمی جهت ذخیره انرژی مواد کربوهیدرات و آزادسازی این انرژی در فواصل بین وعده‌های غذایی است. بررسی جریان ذخیره‌سازی گلوکز به‌صورت گلیکوژن (گلیکوژنز Glycogenesis) و چگونگی تبدیل گلیکوژن به گلوکز در شرایط نیاز (گلیکوژنولیز Glycogenolysis) موضوع دیگر این مبحث می‌باشد. مسیرهای بیوشیمیایی جهت سنتز گلوکز Gluconeo gene-sis، سنتز ریبوز و تولید اکی‌والان‌های احیاکننده NADPH (مسیر پنتوز فسفات Pentose phosphate pathway) و همچنین آشنایی با بیماری‌های متابولیسم کربوهیدرات‌ها موارد اصلی دیگری برای بررسی خواهند بود.

۱ـ۱ هضم کربوهیدرات‌ها:

کربوهیدرات‌های قابل‌هضم مانند ساکارز، لاکتوز، مالتوز، گلیکوژن و نشاسته پس از تبدیل به واحدهای منوساکاریدی از روده کوچک جذب می‌گردند.

هضم از دهان شروع می‌شود و در دوازدهه duodenum ادامه می‌یابد. بزاق و شیره پانکراس هر دو دارای آلفا – آمیلاز α-amylase می‌باشند.

این آنزیم قادر به شکستن پیوندهای (۴ ← ۱) α است. آمیلاز دهانی نشاسته را به مالتوز، مالتوتریوز و همچنین قطعات الیگو ساکاریدی دارای پیوند (۶ ← ۱) α به نام آلفا دکسترین (α-dextrins) تبدیل می‌کند.

آنزیم آمیلاز بزاق در محیط اسیدی معده غیرفعال می‌شود. در دوازده آنزیم‌های آمیلاز پانکراس با شکستن پیوندهای (۴ ← ۱) α و ۱، ۶ گلوکوزیداز پانکراس (oligo-α-1, 6-glucosidase) با شکستن پیوندهای (۶ ← ۱) α، نشاسته و دکسترین‌های تجزیه نشده را به گلوکز، مالتوز و ایزومالتوز تبدیل می‌نمایند.

ژوژنوم(Jejunum) و ایلئوم (Ileum): در سطح سلول‌های مخاطی پرزهای روده در ژوژنوم و ایلئوم، آنزیم‌های دی ساکاریداز نظیر لاکتاز، مالتاز، دکسترینیناز، ساکاراز و ایزومالتاز وجود دارند. ساکارز و لاکتوز دو دی ساکارید مهم در مواد غذایی هستند همچنین مالتوز عمدتاً به هنگام هیدرولیز نشاسته تشکیل می‌شود.

لاکتاز، پیوند (۴ ← ۱) β لاکتوزرا هیدرولیز می‌کند. مالتاز، پیوند (۴ ← ۱) α را در مالتوز و مالتوتریوز می‌شکند. ساکاراز، پیوند (۲ ← ۱) α در سوکروز و ایزومالتاز پیوند (۶ ← ۱) α را در ایزومالتوز هیدرولیز می‌نمایند.

تمام منوساکاریدهای حاصل از تجزیه این قندها از سلول‌های روده به جریان خون منتقل شده و از طریق سیاهرگ باب به کبد می‌روند.

$$\text{Lactose} + H_2O \xrightarrow{\text{Lactase}} \text{D- galactose} + \text{D- glucose}$$

$$\text{Maltose} + H_2O \xrightarrow{\text{Maltase}} 2\ \text{D- glucose}$$

$$\text{Sucrose} + H_2O \xrightarrow{\text{Sucrase}} \text{D- glucose} + \text{D} - \text{Fructose}$$

$$\text{Isomaltose} + H_2O \xrightarrow{\text{Isomaltase}} 2\ \text{D- glucose}$$

$$\text{Dextrin} + n\ H_2O \xrightarrow{\text{Dextrinase}} n\ \text{D- glucose}$$

اگر دی ساکاریدها و الیگوساکاریدها توسط آنزیم‌های فوق کاملاً هیدرولیز و یا جذب نشوند، در این صورت توسط باکتری‌های موجود در نواحی انتهایی ایلئوم جذب و تبدیل به موادی مانند اسیدلاکتیک، متان و گازکربنیک می‌گردند. درنتیجه نفخ و اسهال بروز می‌نماید. عدم تحمل لاکتوز (Lactose intolerance) به وسیله بزرگسالان به علت عدم هیدرولیز لاکتوز در روده آنان می‌باشد که منجر به اسهال و درد شکم می‌گردد. بسیاری از بزرگسالان دارای مقدار کمی آنزیم لاکتاز می‌باشند. به نظر می‌رسد که فعالیت آنزیم لاکتاز در روده با از شیر گرفتن کودکان به تدریج کاهش می‌یابد.

جذب کربوهیدرات‌ها با مشارکت دو مکانیزم صورت می‌گیرد:

۱. انتشار تسهیل شده (Facilitated diffusion): قندهای گلوکز، مانوز، فروکتوز و همچنین پنتوزها مانند زیلوز(Xylose) به طریق انتشار تسهیل شده به‌وسیله پروتئین ناقل، جذب سلول‌های انترسیت روده می‌شوند.

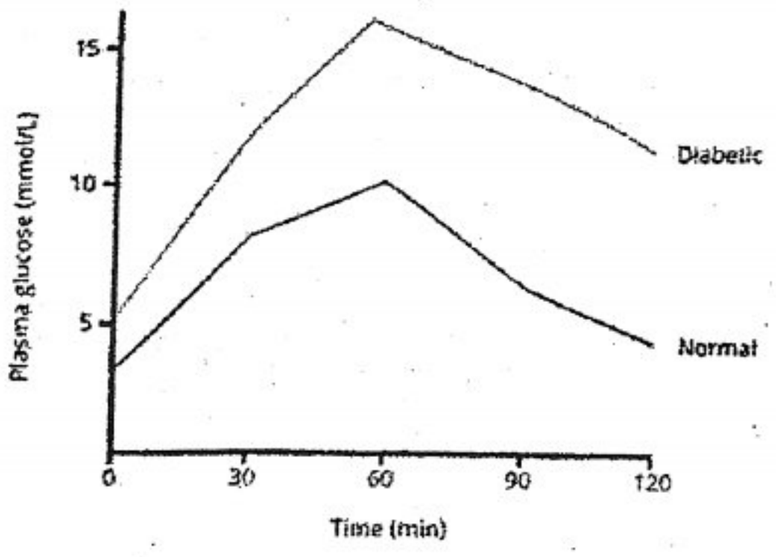
۲. انتقال فعال ثانویه و یا انتقال همراه سدیم :

(Secondary active transport or Sodium co-transport)

این نوع انتقال فعال به کمک یک پروتئین ناقل و به همراه یون Na^+ انجام می‌شود. گلوکز در روده و کلیه بدین طریق جذب سلول‌ها می‌شود. این سیستم انتقال فعال، انتقال گالاکتوز و زیلوز را نیز انجام می‌دهد. چون جذب گلوکز به همراه یون سدیم صورت می‌گیرد به همین علت افزودن گلوکز و نمک به غذای بیماران مبتلا به و با (Cholera) منجر به بهبود جذب الکترولیت می‌گردد؛ بنابراین هنگامی‌که غلظت گلوکز در روده زیاد است جذب آن به‌صورت انتشار تسهیل شده اهمیت بیشتری می‌یابد؛ اما در غلظت کم گلوکز جذب آن عمدتاً به طریق انتقال فعال صورت می‌پذیرد.

۲ـ۱ هومئوستاز گلوکز(Glucose homeostasis):

لازم است غلظت گلوکز خون در محدوده‌ای معین حفظ و تنظیم شود. از جمله به دلیل اینکه برخی بافت‌های مهم مانند مغز، اریتروسیت‌ها و سلول‌های جنینی وابستگی حیاتی به گلوکز به‌مثابه منبع اصلی سوخت دارند. پس از خوردن گلوکز، غلظت آن در خون رو به افزایش گذاشته و پس از حدود یک ساعت (از ۵/۵ میلی مول در لیتر) به ۷/۲ میلی



شکل ۱ـ۱: آزمون تحمل گلوکز دریک فرد سالم و یک فرد دیابتی بعد از خوردن ۷۵ گرم گلوکز

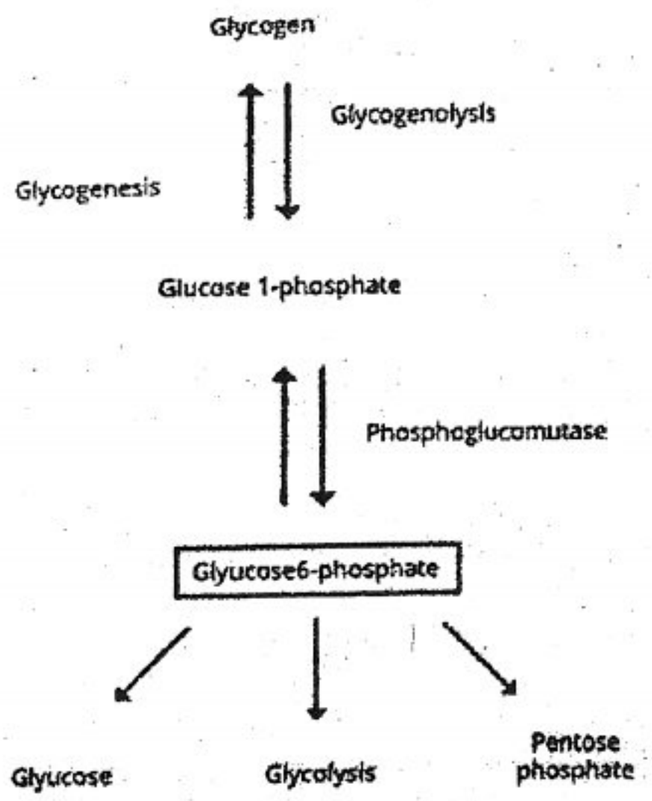
مول در لیتر می‌رسد. چون گلوکز خون وارد بافت‌ها می‌شود غلظت آن ۲ تا ۲/۵ ساعت پس از خوردن آن به سمت حد طبیعی حالت ناشتا یعنی ۵/۵ – ۴/۵ میلی مول در لیتر نزدیک می‌گردد. در غلظت‌های کم گلوکز در خون سیستمیک (حالت ناشتا ۵/۵ – ۴/۵ mmol/L) کبد مبادرت به تولید گلوکز و برون ده آن به خون می‌نماید؛ اما با افزایش مقدار گلوکز خون، برون ده گلوکز کبد کاهش یافته و در مقادیر بسیار بالای گلوکز خون، کبد صرفاً به برداشت گلوکز از خون می‌پردازد.

حفظ مقدار ثابت گلوکز خون یکی از دقیق‌ترین و ظریف‌ترین مکانیسم‌های تنظیمی در روند هومئوستاز است که در آن کبد، بافت‌های خارج کبدی نظیر پانکراس و هورمون‌های متعددی نقش دارند. به نظر می‌رسد که سلول‌های کبد به‌راحتی در برابر گلوکز نفوذپذیرند، درحالی‌که سلول‌های بافت‌های خارج کبدی (به‌جز جزایر پانکراس) به‌طور نسبی در برابر گلوکز غیرقابل نفوذ هستند. درنتیجه مرحله محدودکننده برداشت گلوکز در بافت‌های خارج کبدی عبور آن از غشاء سلولی است. سطح قند خون عمدتاً به‌وسیله دو بافت کبد و پانکراس (سلول‌های β) تنظیم شده و ثابت نگه داشته می‌شود. با افزایش مقدار گلوکز خون، کبد قسمت عمده گلوکز خون را جذب می‌نماید و آن را به گلیکوژن یا اسیدهای چرب تبدیل می‌کند. افزایش قند خون باعث تحریک ترشح انسولین از سلول‌های β پانکراس می‌گردد. انسولین جذب و مصرف گلوکز توسط بافت‌های چربی و عضله را تحریک می‌کند. این عمل ناشی از افزایش انتقال گلوکز از غشاء این سلول‌هاست که از طریق انتقال مولکول‌های ناقل گلوکز از داخل سلول‌های عضله و چربی به غشاء پلاسمایی آن‌ها انجام می‌گیرد.

★ توانایی بدن در مصرف گلوکز به وسیله آزمون تحمل گلوکز (Glucose tolerance test) تعیین می‌شود. برای این منظور، ابتدا غلظت پلاسمایی گلوکز فرد ناشتا اندازه‌گیری می‌گردد. سپس مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ گرم گلوکز به فرد خورانده شده و بعد در فواصل زمانی مختلف گلوکز پلاسما اندازه‌گیری می‌گردد. سپس منحنی میزان گلوکز پلابسما مورد بررسی قرار می‌گیرد. (شکل ۱ـ۱) اگر مقدار گلوکز پلاسما ظرف مدت ۲ ساعت به مقداری نزدیک به حالت ناشتا باز نگردد در این صورت تحمل گلوکز توسط فرد مختل بوده (Impaired Glucose Tolerance Test) و او مبتلا به دیابت قندی می‌باشد (شکل ۱-۱) بیماری دیابت با کاهش تحمل گلوکز مشخص می‌شود. در این بیماران گلوکز خون افزایش یافته (Hyperglycemia) و دفع گلوکز از ادرار (Glycosuria) وجود دارد. انسولین موجب افزایش تحمل بدن در برابر گلوکز می‌شود. تزریق انسولین منجر به کاهش مقدار گلوکز خون و افزایش مصرف آن در بافت‌ها و همچنین افزایش ذخیره‌سازی آن در کبد و عضله به‌صورت گلیکوژن می‌شود. افزایش پیش از حد انسولین منجر به کاهش شدید گلوکز خون و بروز هیپوگلیسمی (Hypoglycemia) می‌گردد. کاهش ناگهانی گلوکز خون منجر به بروز تشنج، بی‌هوشی و حتی مرگ بیمار می‌شود زیرا فعالیت مغز شدیداً به تأمین گلوکز توسط خون وابسته است.

۳ـ۱ متابولیسم گلوکز

اولین واکنش در هر مسیر متابولیسم که گلوکز بخواهد وارد آن گردد در بیشتر موارد



شکل ۲ـ۱: مسیرهای متابولیسم گلوکز. در تمامی این مسیرها G6P نقش مرکزی را دارد.

فسفریلاسیون گلوکز و تشکیل گلوکز۶- فسفات (Glucose 6-Phosphate, G6P) است. فسفریلاسیون گلوکز منجر به فعال شدن آن یعنی تبدیل گلوکز به یک شکل پرانرژی می‌گردد. همان‌طور که در شکل ۲ـ۱ مشاهده می‌گردد G6P ترکیب مهمی در محل اتصال مسیرهای متابولیک متعدد (گلیکولیز، گلوکونئوژنز، مسیر پنتوز فسفات، گلیکوژنز و گلیکوژنولیز) است.

۱ـ۳ـ۱ فسفوریلاسیون گلوکز

★ همان‌طور که در شکل ۳-۱ نشان داده شده است تقریباً تمامی ترکیبات حد واسط مسیرهای متابولیسم گلوکز به‌صورت استر فسفات بوده و بنابراین قادر به خروج از سلول و ورود به خون نمی‌باشند.

فسفوریلاسیون گلوکز به G6P به‌وسیله دو آنزیم هگزوکیناز (Hexokinase) و گلوکیناز (Glucokinose) دریافت‌های مختلف کاتالیز می‌شود. در این واکنش ATP به‌عنوان دهنده فسفات عمل نموده و به ADP تبدیل می‌گردد. در این واکنش مقدار زیادی انرژی آزاد به‌صورت حرارت از دست می‌رود. درنتیجه این واکنش در شرایط فیزیولوژیک برگشت‌ناپذیر است.

★ واکنش فوق در سلول‌های پارانشیم کبد و سلول‌های جزیره‌ای پانکراس توسط آنزیم گلوکوکیناز انجام می‌گیرد. فعالیت این آنزیم القاء پذیر(Inducible) بوده و به‌وسیله انسولین افزایش می‌یابد. گلوکوکیناز کبدی نقش مهمی در برداشت گلوکزخون پس از صرف غذا و تنظیم گلوکز خون دارد؛ اما در بافت‌های خارج کبدی آنزیم هگزوکیناز واکنش فسفریله شدن گلوکز را کاتالیز می‌کند.(1) این آنزیم توسط گلوکز۶- فسفات مهار می‌شود. به‌این‌ترتیب مکانیسم کنترل فیدبک تا حدی بر برداشت گلوکز توسط بافت‌های خارج کبدی مؤثر است. درصورتی‌که این محدودیت در کبد وجود ندارد، زیرا آنزیم گلوکوکیناز تحت تأثیر گلوکز۶- فسفات قرار نمی‌گیرد. همچنین(2) آنزیم گلوکیناز کبدی دارای Km بالا بوده و حتی در غلظت زیاد (۱۰mM) گلوکز فقط نیمی از آنزیم‌ها اشباع می‌گردند. پس گلوکیناز به‌وسیله غلظت بالای گلوکز منع نگردیده و سرعت فسفوریلاسیون گلوکز به‌وسیله آن با افزایش غلظت داخل سلولی گلوکز افزایش می‌یابد؛ بنابراین کبد با جذب مقادیر زیاد گلوکز از خون و تبدیل آن به G6P می‌تواند در کاهش قند خون مشارکت نماید. درصورتی‌که هگزوکیناز که در همه سلول‌ها به‌جز سلول‌های کبدی و جزایر پانکراس وجود دارد، دارای Km پایین برای گلوکز بوده و خیلی زود با گلوکز اشباع می‌شود، بنابراین افزایش زیاد گلوکز داخل سلولی باعث افزایش فعالیت آن نمی‌گردد.

۲-۳-۱ گلیکولیز (Glycolysis) یا مسیر امبدن – میرهوف :

(Embden – Meyerhof pathway)

گلیکولیز نه‌تنها مسیر اصلی کاتابولیسم گلوکز است که منجر به تولید پیروات می‌شود، بلکه مسیر اصلی متابولیسم فروکتوز و گالاکتوز موجود در غذا نیز به شمار می‌رود.

واکنش‌های مسیر گلیکولیز در سیتوزول تمامی سلول‌های بدن انجام می‌گیرد و پیرویک اسید حاصله دو راه را طی می‌نماید.

۱. در شرایط هوازی: پیرویک اسید حاصله وارد میتوکندری شده و از راه سیکل کربس به، CO_2 و H_2O تبدیل شده و ATP تولید می‌کند.

۲. در شرایط بی‌هوازی: پیرویک اسید حاصله به لاکتات تبدیل می‌شود. مسیر بی‌هوازی در شرایط کمبود اکسیژن و یا در سلول‌های فاقد میتوکندری نظیر گلبول قرمز صورت می‌گیرد. به‌این‌ترتیب در شرایط فعالیت زیاد که اکسیداسیون هوازی به حد کافی وجود ندارد، عضله اسکلتی می‌تواند با تبدیل پیروات به لاکتات عملکرد خود را در سطح بالایی نگاه دارد. اصولاً نسوجی که قابلیت گلیکولیز زیادی دارند می‌توانند در برابر حملات آنوکسی (anoxia) (عدم دسترسی به اکسیژن) مقاومت نموده و پایدار بمانند. درحالی‌که عضله قلب که برای عملکرد در شرایط هوازی سازگاری یافته است، قابلیت گلیکولیز نسبتاً کمی داشته و در شرایط ایسکمی نمی‌تواند به‌خوبی مقاومت نماید. در شکل ۳ـ۱ مسیرهای اصلی کاتابولیسم پیروات در شرایط مختلف نمایش داده شده است.

۳ـ۳ـ۱ مراحل راه گلیکولیز

۱. تشکیل گلوکز۶- فسفات از گلوکز

۲. ایزومریزاسیون G6P به فروکتوز ۶- فسفات (Fructose 6- phosphate, F6P)

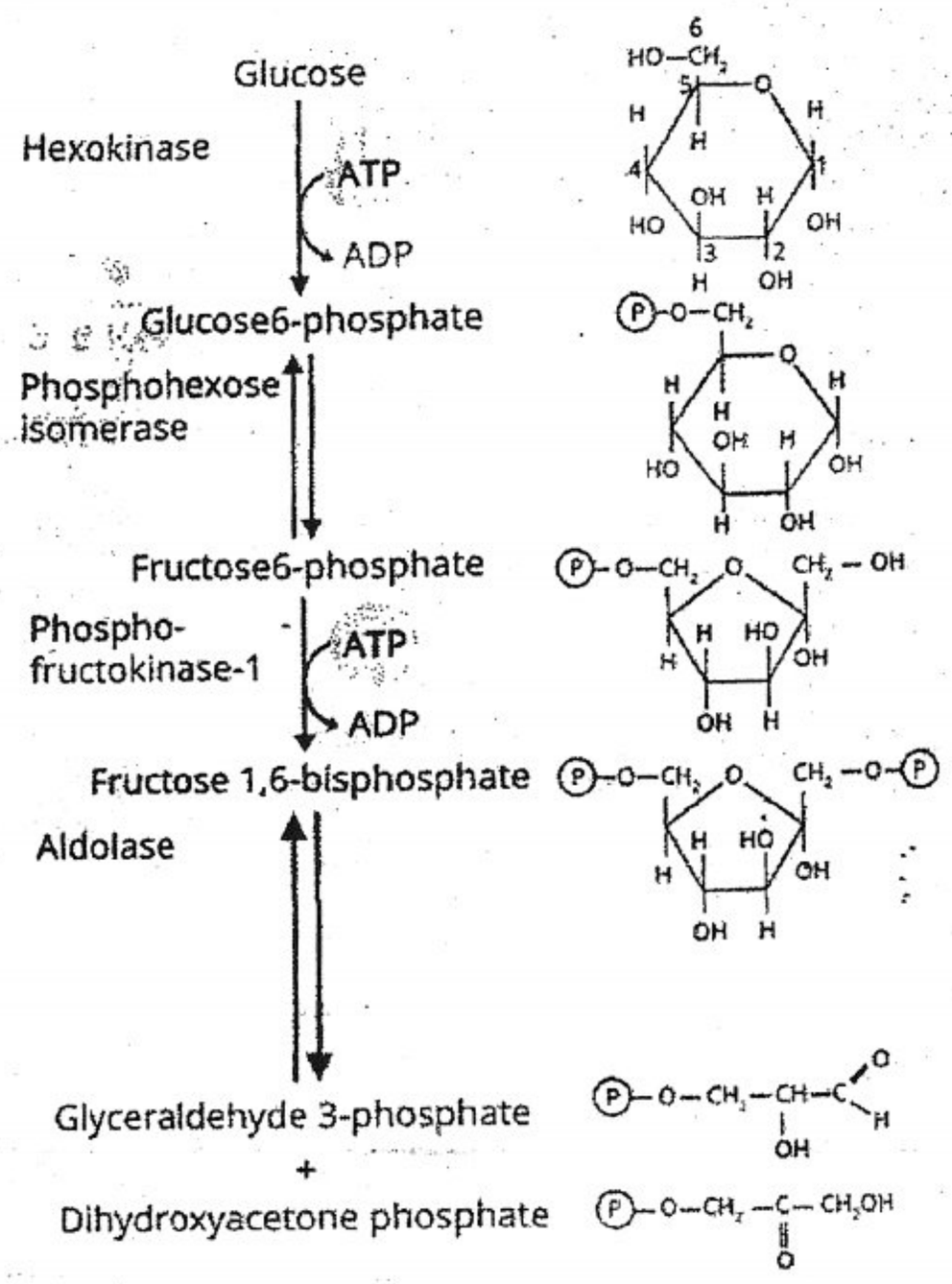
G6P در روند گلیکولیز توسط آنزیم فسفوهگزوز ایزومراز (که ایزومریزاسیون آلدوز-کتوز را انجام می‌دهد) به فروکتوز ۶ – فسفات تبدیل می‌شود. این آنزیم تنها بر آنومرهای آلفای گلوکز ۶ – فسفات مؤثر است.

۳. تبدیل F6P به فروکتوز۱،۶- بیس فسفات (Fructose1,6-bisphosphate) آنزیم فسفوفروکتوکیناز -۱ (phosphofructokinase-1) باعث فسفوریلاسیون F6P به فروکتوز ۱،۶- بیس فسفات می‌گردد. این آنزیم یک آنزیم آلوستریک در کنترل مسیر گلیکولیز می‌باشد، قابل القاء بوده، فعالیت آن نقش مهمی در تنظیم سرعت و میزان گلیکولیز داشته و توسط ATP و سیترات ویون H^+ مهار و توسط AMP فعال می‌شود.

در مراحل ۴ و ۵ تریوزفسفات‌ها تشکیل می‌گردند:

۴. فروکتوز ۱ ، ۶- بیس فسفات توسط آنزیم آلدولاز (Aldolase) به دو ترکیب تریوزفسفات یعنی گلیسر آلدئید ۳- فسفات و دی هیدروکسی استن فسفات تبدیل می‌شود. این واکنش برگشت‌پذیر می‌باشد.

۵. دی هیدروکسی استون فسفات به‌وسیله آنزیم فسفوتریوزایزومراز (phosphotriose isomerase) به گلیسرآلدئید ۳-فسفات (GAP) تبدیل می‌شود.



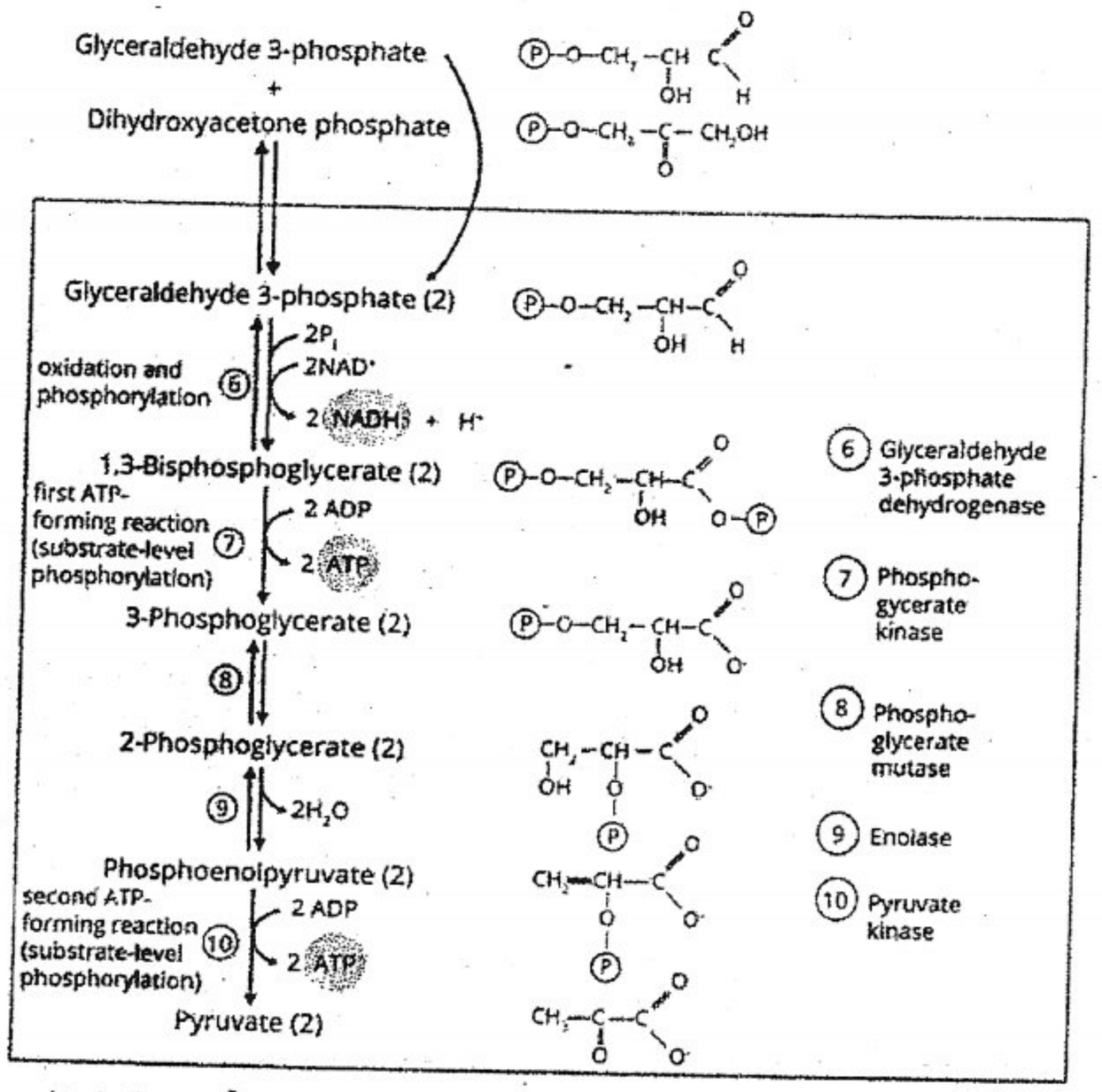
شکل ۳-۱: واکنش‌های مرحله فعال‌سازی گلوکز در مسیر گلیکولیز: فسفریله شدن گلوکز و تبدیل آن به گلیسرآلدئید ۳ـ فسفات

۶. در این مرحله ضمن اکسید شدن عامل آلدییدی GAP به عامل کربوکسیل، فسفات معدنی نیز به آن اضافه شده و ۱و۳- بیس فسفوگلیسرات ایجاد می‌گردد.

آنزیم گلیسرآلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز (Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) عمل کاتالیزوری این واکنش را که در آن اکسیداسیون و فسفوریلاسیون توأماً انجام می‌شوند را به عهده دارد. فعالیت آنزیم GAPDH به وسیله یدواستات (Iodo-acetate) متوقف می‌گردد.

۷. پیوند مولکول فسفات و عامل کربوکسیل در ۱ و ۳ـ بیس فسفوگلیسرات از نوع پرانرژی است؛ بنابراین در واکنش هفتم آنزیم فسفوگلیسرات کیناز (Phosphoglycerate kinase) این مولکول فسفات را به ADP منتقل نموده و یک مولکول ATP و یک مولکول تریوزفسفات (۳- فسفوگلیسرات) تولید می‌نماید. این فسفوریلاسیون نمونه‌ای از فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا است (Substrate level phosphorylation). این واکنش برگشت‌پذیر بوده و آنزیم آن نیز با توجه به واکنش برگشت نام‌گذاری شده است. چون به ازای هر مولکول گلوکز که وارد روند گلیکولیز می‌شود، دو مولکول تریوزفسفات تشکیل می‌شود، در این مرحله به ازای هر مولکول گلوکز دو مولکول ATP تولید می‌گردد.

آرسنیک عنصر هم‌گروه با فسفر می‌باشد؛ بنابراین آرسنات (AsO_4^{3-}) به فسفات شباهت داشته و می‌تواند در واکنش‌های فوق با فسفات غیر آلی (Pi) رقابت کرده



شکل ۴-۱: واکنش‌های مرحله بازدهی انرژی در مسیر گلیکولیز: اکسیده شدن و تبدیل گلیسرآلدئید ۳ـ فسفات به پیرووات و تشکیل ATP و NADH

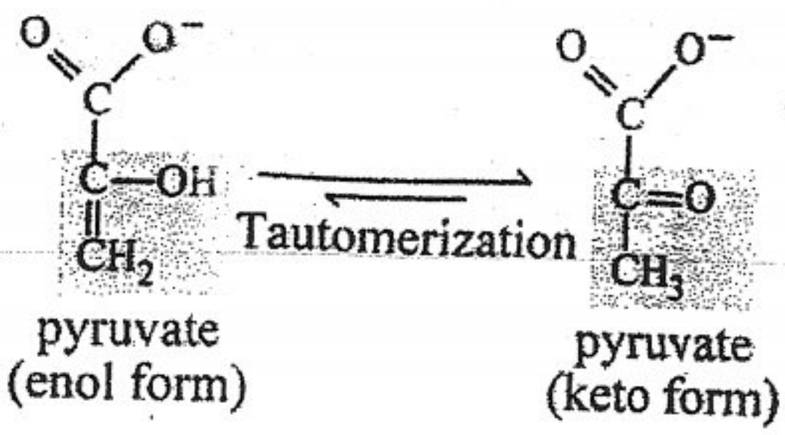
تولید ۱- آرسنو ۳- فسفوگلیسرات نماید. این ترکیب به‌طور خودبه‌خود و بدون تولید ATP هیدرولیز شده و به ۳- فسفوگلیسرات تبدیل می‌گردد. این واکنش نمونه مهمی از توانایی آرسنات برای جداسازی اکسیداسیون و فسفوریلاسیون است.

۳- فسفوگلیسرات الکلی است که می‌تواند وارد مسیر بیوسنتز تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها شده و اسکلت کربنی گلیسرول موجود در این مولکول‌ها را تأمین نماید.

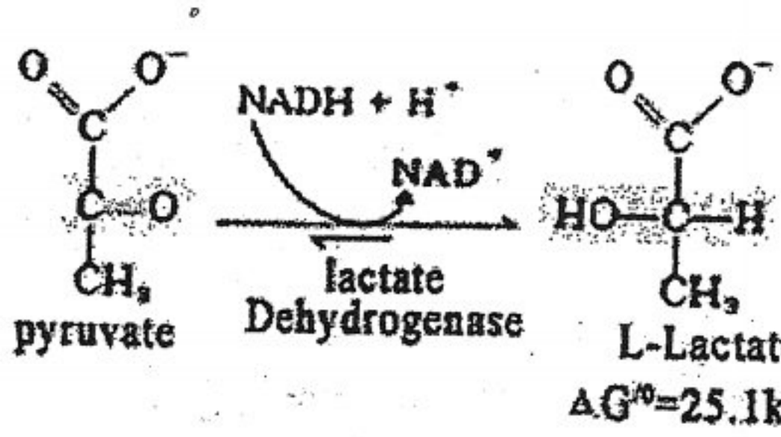
۸. تبدیل ۳-فسفوگلیسرات به ۲-فسفوگلیسرات به‌وسیله آنزیم فسفوگلیسرات موتاز (Phosphoglycerate mutase).

۹. آنزیم انولاز (Enolase) اتم H و عامل OH را از دو کربن مجاور در مولکول ۲- فسفوگلیسرات جدا نموده و ضمن تولید آب، ماده‌ای پرانرژی به نام ۲- فسفوانول پیروات تشکیل می‌دهد. یون فلورید (Fluoride) آنزیم انولاز را مهار می‌کند. فلورید به نمونه‌های خون که برای اندازه‌گیری قند خون جمع‌آوری می‌شود اضافه می‌گردد تا مانع از مصرف گلوکز به‌وسیله سلول‌های خون گردیده و بدین ترتیب مقدار واقعی قند خون اندازه‌گیری شود.

۱۰. فسفات پرانرژی موجود در فسفوانول پیروات توسط آنزیم پیروات کیناز به ADP منتقل می‌شود. این مرحله نیز نمونه دیگری از فسفوریلاسیون در سطح سوبسترا می‌باشد. در این مرحله نیز به ازای هر مول گلوکز اکسید شده دو مول ATP تولید می‌گردد. انول پیروات تشکیل‌شده در این واکنش به‌طور خود به خود به شکل کتونی پیروات تبدیل می‌شود این واکنش در شرایط فیزیولوژیک به سمت تشکیل شکل کتونی پیروات پیشرفت می نماید.



در این مرحله وضعیت اکسیداسیون - احیا بافتی یعنی نسبت NAD/NADH تعیین‌کننده ادامه واکنش‌های متابولیسم گلوکز در یکی از دو مسیر هوازی و بی‌هوازی می‌باشد. در شرایط بی‌هوازی، پیـــروات توسط NADH و با کاتالیزوری آنزیم لاکتات دهیـــدروژناز (Lactate dehydrogenase) احیا شده به لاکتات تبدیل می‌گردد.



با اکسید شدن NADH به NAD^+ در واکنش تولید لاکتات، روند گلیکولیز می‌تواند (در شرایط بی‌هوازی) ادامه یابد؛ زیرا با انجام واکنش فوق کوآنزیم NAD^+ کافی برای دور دیگری از واکنش آنزیم گلیسر آلدئید۳- فسفات دهیدروژناز تولید می‌شود؛ اما در شرایط هوازی اکسیداسیون NADH از طریق زنجیره تنفسی در میتوکندری صورت می‌گیرد.

تقریباً برای همه آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها موتاسیون‌هایی گزارش شده که هر یک با بیماری‌هایی همراه هستند. کمبودهای ارثی آلدولاز A و پیرووات کیناز در گلبول‌های قرمز باعث بروز کم‌خونی همولیتیک می‌شود. مبتلایان به کمبود فسفوفروکتوکیناز عضلانی به‌خصوص با مصرف رژیم غذایی پرکربوهیدرات ظرفیت و توانایی کمی برای انجام ورزش و فعالیت دارند و به‌زودی خسته می‌شوند. در این بیماران با جایگزین کردن یک سوخت لیپیدی می‌توان ظرفیت کارکرد آنان را بهبود بخشید. در سلول‌های سرطانی، روند گلیکولیز با سرعت بسیار بیشتری نسبت به چرخه اسیدسیتریک انجام می‌گیرد؛ بنابراین سرعت تولید پیرووات بیش‌ازحد بوده درنتیجه میزان تولید لاکتات نیز افزایش می‌یابد؛ بنابراین در داخل بافت تومور محیط نسبتاً اسیدی ایجاد می‌شود.

۴ـ۳ـ۱ محاسبه انرژی گلیکولیز تا مرحله تولید پیروات:

حاصل انجام واکنش‌های گلیکولیز بر یک مولکول گلوکز، دو مولکول پیروات و چهار پیوند پرانرژی فسفات (به‌صورت 4 ATP) می‌باشد؛ اما چون دو مولکول ATP صرف فسفوریلاسیون گلوکز و F6P می‌گردد، بنابراین در شرایط غیر هوازی به ازای هر مولکول گلوکز درمجموع دو مولکول ATP تولید می‌شود.

$$Glucose + 2\ NAD^+ \rightarrow 2\ pyruvate + 2\ NADH + H^+ + 2\ ATP$$

در شرایط هوازی مولکول NADH می‌تواند وارد زنجیره تنفسی در میتوکندری شده و انرژی حاصل از اکسید شدن NADH در این زنجیره صرف تولید ATP از ADP گردد، در این صورت به ازای هر مولکول NADH بین ۲ تا ۳ مولکول ATP از ADP تولید

می‌شود؛ یعنی درمجموع به ازای دو مولکول NADH بین ۴ تا ۶ پیوند پرانرژی فسفات تولید می‌شود؛ بنابراین درمجموع از اکسیداسیون ناقص گلوکز به پیروات در شرایط هوازی ۶ تا ۸ پیوند پرانرژی فسفات تولید می‌گردد ولی در شرایط غیر هوازی فقط ۲ پیوند پرانرژی فسفات به ازای هر مولکول گلوکز تولید می‌شود.

نقش ۲،۳ دی فسفوگلیسرات (2,3 DPG):

☆ در گلبول‌های قرمز بسیاری از پستانداران علاوه بر مرحله‌ای که توسط فسفوگلیسرات کیناز کاتالیز می‌شود، در یک مسیر فرعی نیز آنزیم فسفوگلیسروموتاز (Phosphoglyceromutase) ۱،۳ دی‌فسفوگلیسرات را به ۲،۳ دی‌فسفوگلیسرات (2,3 DPG) تبدیل می‌کند. این ماده با هموگلوبین ترکیب‌شده سبب کاهش میل ترکیبی آن با اکسیژن می‌گردد.

به‌این‌ترتیب وجود این ماده در گلبول‌های قرمز باعث می‌شود که هموگلوبین اکسیژن خود را راحت‌تر آزاد کند؛ بنابراین هر نقصی در آنزیم‌های گلیکولیز می‌تواند در تولید 2,3 DPG در گلبول قرمز خلل ایجاد نماید. کمبود پیروات کیناز موجب افزایش 2,3 DPG و کمبود هگزوکیناز موجب کاهش 2,3 DPG می‌شود.

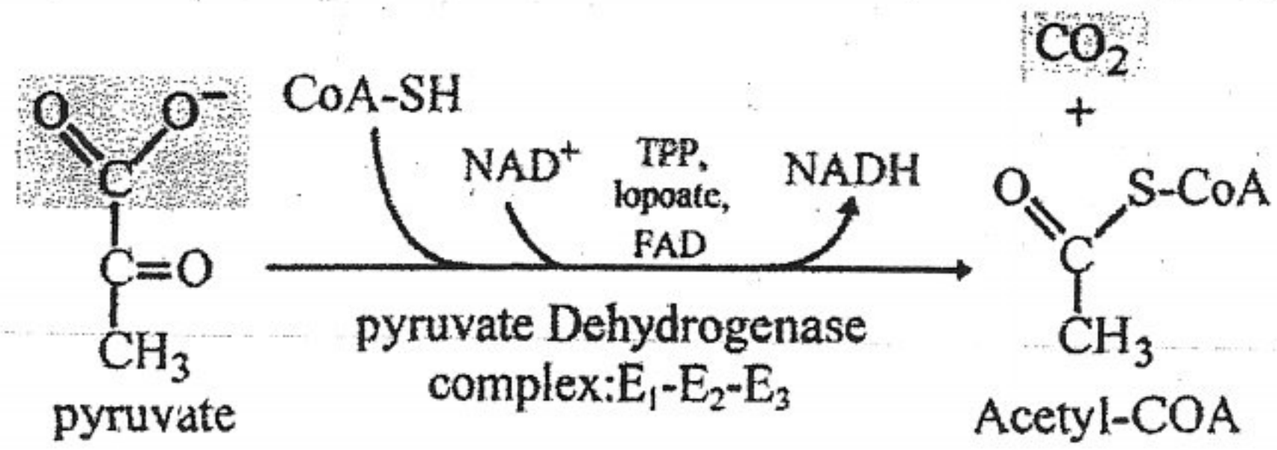
۵ـ۳ـ۱ کاتابولیسم پیروات

پیروات یک ترکیب حد واسط در مسیر متابولیسم کربوهیدرات بوده و طی دو مرحله به CO_2 و H_2O تبدیل می‌گردد.

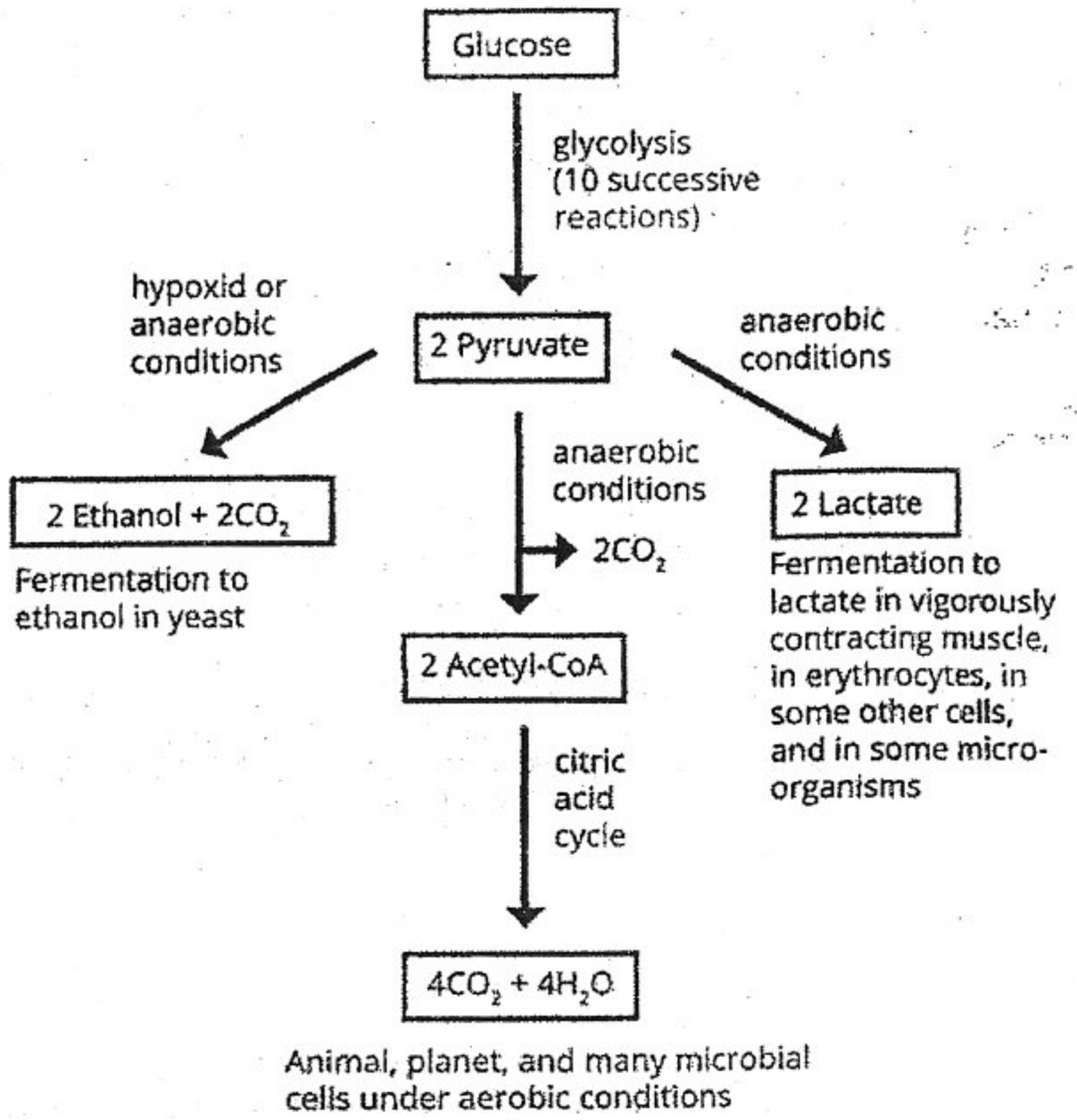
مرحله اول- د کربوکسیلاسیون پیروات

پیروات حاصل از گلیکولیز ابتدا به داخل میتوکندری منتقل می‌شود. سپس پیروات طی سه مرحله که توسط کمپلکس آنزیمی پیروات دهیدروژناز (Pyruvate dehydrogenase) کنترل می‌شود، عامل کربوکسیل خود را از دست‌داده (د کربوکسیلاسیون) و به استیل کوآ تبدیل می‌شود. دکربوکسیلاسیون پیروات یک واکنش اکسیداتیو می‌باشد. کمپلکس آنزیمی فوق دارای سه نوع آنزیم با فعالیت‌های آنزیمی متفاوت می‌باشد: آنزیم E1 دارای فعالیت پیروات دکربوکسیلاز (Pyruvate decarboxylase)، (E2) لیپوآمید ترانس استیلاز (Lipoamide transacetylase) و E3 دی هیدرولیپو آمید دهیدروژناز (Dehydrolipoamid dehydrogenase) می‌باشد.

کمپلکس آنزیمی پیروات دهیدروژناز به کوفاکتورهای لیپوات، FAD، TPP، NAD^+ و CoASH نیاز دارد.



$\Delta.G'^0 = -33.4kJ/mol$



شکل ۵ـ۱: مسیرهای اصلی کاتابولیزم پیروات

واکنش آنزیم پیروات دهیدروژناز برگشت‌ناپذیر می‌باشد؛ بنابراین در بدن انسان امکان تبدیل استیل کوآ به پیروات وجود ندارد. محصولات آنزیم پیروات دهیدروژناز یعنی استیل کوآ و NADH آن را مهار می‌کنند. مثلاً این آنزیم در شرایط اکسیداسیون اسیدهای چرب (مانند حالت گرسنگی) مهار می‌شود، زیرا در این شرایط مقدار زیادی استیل کوآ از اکسیداسیون اسید چرب تولید می‌گردد.

عوامل متعددی که پیروات دهیدروژناز را مهار می‌نمایند باعث تجمع پیروات و درنتیجه ورود آن به واکنش تبدیل به اسیدلاکتیک و بروز اسیدوزلاکتیک (Lactic acidosis) می‌شوند. یون‌های آرسنات ($A_sO_3^{3-}$) یا مرکوریک، جیوه (Hg^{2+}) که با گروه SH- در اسیدلیپوئیک تشکیل کمپلکس می‌دهند و همچنین کمبود غذایی تیامین باعث مهار آنزیم پیرووات دهیدرژوناز گردیده و درنتیجه پیرووات تجمع می‌یابد.

معتادان به الکل که تغذیه مناسبی نداشته باشند دچار کمبود تیامین شده و در صورت مصرف گلوکز، سریعاً پیرووات در بدن آنان تجمع پیدا کرده و اسیدوزلاکتیک پدیدارمی شود که غالباً کشنده است. بیماران مبتلا به کمبود ارثی پیرووات دهیدروژناز نیز به‌خصوص به دنبال مصرف مقدار زیادی گلوکز دچار حالت مشابهی از اسیدوز لاکتیک می‌شوند.

مرحله دوم- ورود استیل کوآنزیم A حاصل از د کربوکسیلاسیون پیروات به چرخه کربس (Krebs cycle).

چرخه کربس که چرخه اسید سیتریک (Citric acid cycle) و یا چرخه اسید تری‌کربوکسیلیک (Tricarboxylic acid, TCA cycle) نیز نامیده می‌شود. (شکل ۴ـ۱) شامل یک سری واکنش‌ها در داخل میتوکندری بوده و مسیرهای اکسیداسیون

کربوهیدرات‌ها، لیپیدها و پروتئین‌ها به این چرخه ختم می‌گردند؛ زیرا اسکلت کربنی گلوکز، اسیدهای چرب و بسیاری از اسیدهای آمینه در مسیر کاتابولیسم خود به استیل کوآ یا سایر مواد واسطه‌ای این چرخه تبدیل می‌شوند. علاوه بر مسیرهای متابولیک گوناگون که به یکی از اجزای تشکیل‌دهنده چرخه اسیدسیتریک ختم می‌شوند، برخی مسیرهای دیگر نیز از این چرخه منشأ می‌گیرند. این مسیرها مربوط به فرآیندهایی مانند گلوکونئوژنز و ترانس آمیناسیون اسیدهای آمینه می‌باشند. به‌این‌ترتیب چرخه اسیدسیتریک هم در فرآیندهای اکسیداتیو (کاتابولیسم) و هم در فرآیندهای سنتتیک (آنابولیسم) دخالت دارد، به عبارت دیگر این چرخه یک فرآیند آمفیبولیک (Am-phibolic) است. در مسیر اکسیداسیون استیل کوآ در چرخه اسیدسیتریک، دو اتم کربن مربوط به بخش استیل در کوآنزیم آ وارد چرخه شده و معادل آن دو اتم کربن در چرخه اکسیده شده و به‌صورت CO_2 خارج می‌گردند. الکترون‌ها و هیدروژن‌های برداشته‌شده از دو اتم کربن به FAD و NAD^+ منتقل گردیده و به‌صورت اکی‌والان‌های احیاکننده $FADH_2$ و NADH وارد زنجیره تنفسی می‌گردند. این الکترون‌ها در زنجیره تنفسی نهایتاً به اکسیژن تنفسی منتقل شده و آن را به آب تبدیل می‌نمایند. بخشی از انرژی حاصل از این انتقال الکترون‌ها (طی فرایند فسفریلاسیون اکیسداتیو) صرف تبدیل ADP به ATP شده و بخش دیگری به‌صورت حرارت هدر رفته و باعث گرم شدن بدن می‌گردند. به‌طور خلاصه در هر بار گردش چرخه کربس و واکنش‌های زنجیره تنفسی-مرتبط با آن، دو اتم کربن می‌سوزند و تولید آب و دی‌اکسید کربن می‌نمایند.

$$CH_3COOH + 2\,O_2 \rightarrow 2\,CO_2 + 2\,H_2O$$

بنابراین گردش چرخه کربس نیاز به شرایط هوازی دارد، زیرا اکی والا ن های احیاکننده ($FADH_2$, NADH) تولیدشده در این فرآیند پس از ورود به زنجیره تنفسی به اکسیژن به عنوان عامل اکسیدکننده نهایی اکی والا ن های احیاکننده نیاز دارند. درنتیجه فقدان اکسیژن (آنوکسی) یا کمبود نسبی آن (هیپوکسی) باعث تجمع NADH و مهار کامل یا نسبی روند چرخه کربس می شوند. آنزیم های چرخه اسیدسیتریک به شکل آزاد یا متصل به سطح داخلی غشاء داخلی میتوکندری در داخل ماتریکس میتوکندری قرار دارند. این امر انتقال اکی والان های احیاکننده را به آنزیم های زنجیره تنفسی که آنها هم در غشاء داخلی میتوکندری قرار دارند، تسهیل می نماید.

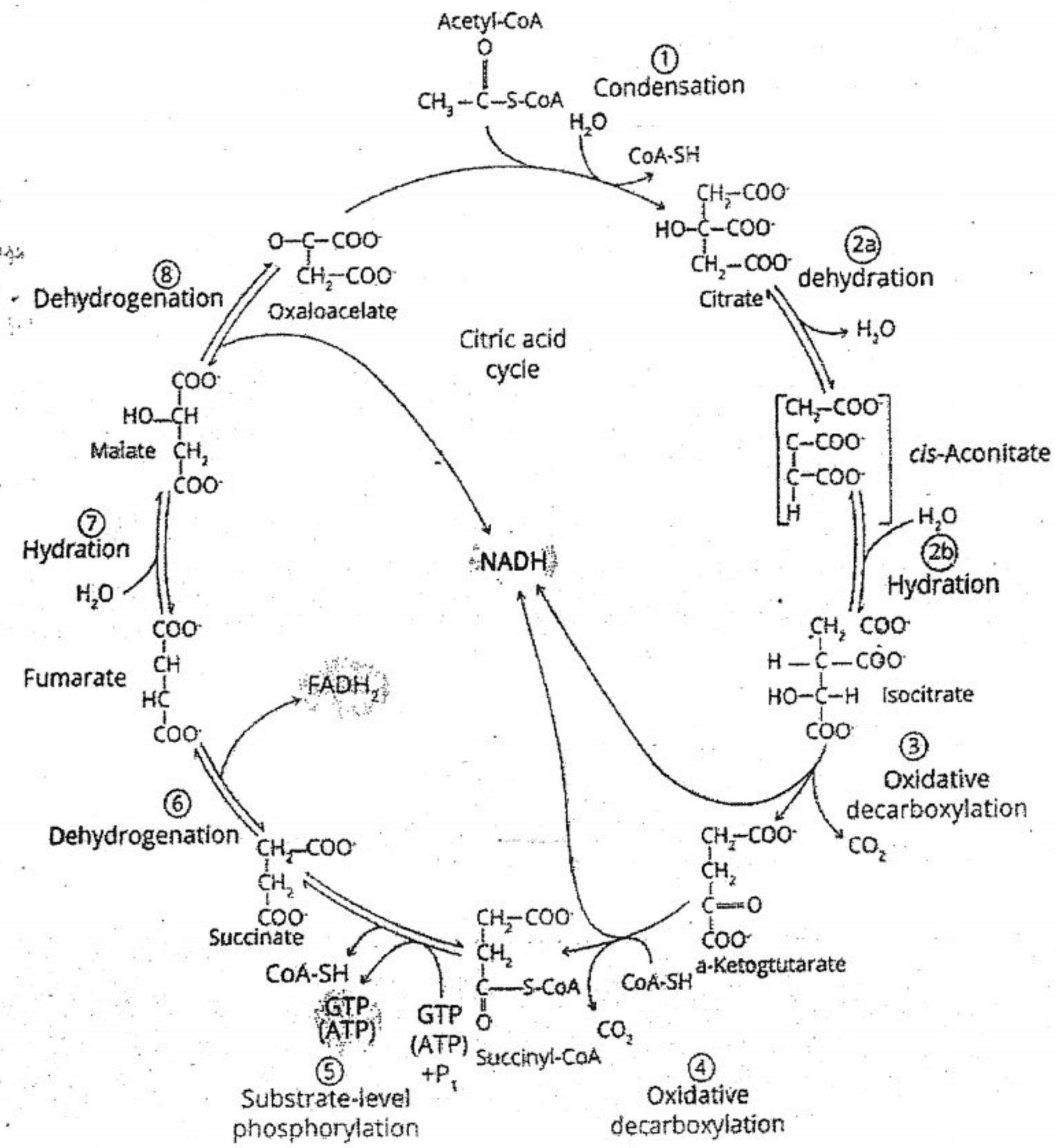
به‌طور خلاصه اعمال چرخه کربس شامل موارد ذیل است:

۱. تولید بخش اعظم CO_2 موجود در بافت‌های بدن

۲. تولید مقادیر زیادی کوآنزیم‌های احیا شده نظیر NADH و $FADH_2$ جهت مصرف در زنجیره تنفسی و تولید ATP .

۳. تأمین انرژی لازم جهت سنتز اسیدهای چرب، تری‌گلیسیریدها و فسفولیپیدها. همچنین از مواد حدواسط این چرخه جهت سنتز اسیدهای آمینه، اسیدهای نوکلئیک و هموگلوبین استفاده می‌شود.

ترکیبات بینابینی و واکنش‌های سیکل کربس که در شکل ۶-۱ خلاصه شده‌اند عبارتند از:



شکل ۶ـ۱: چرخه کربس

۱. اسیدسیتریک (Citric acid):

اسید تری‌کربوکسیلیک ۶ کربنی می‌باشد که از ترکیب بخش استیل (۲ کربنی) یک مولکول استیل کوآ با اگزالواستات (اسید دی کربوکسیلیک ۴ کربنی) تشکیل می‌شود. این واکنش که می‌توان آن را شروع چرخه محسوب نمود، توسط آنزیم سیترات سنتاز (Citrate synthase) کاتالیز می‌گردد.

$$\text{Acetyl} - \text{CoA} + \text{oxaloacetate} + H_2O \rightarrow \text{Citrate} + \text{CoA}$$

۲. ایزوسیترات(Isocitrate) :

محصول عمل آنزیم آکونیتاز (Aconitase) بر سیترات می‌باشد. این آنزیم حاوی آهن به‌صورت Fe^{2+} است. این تبدیل در دو مرحله انجام می‌گیرد: الف) سیترات با از دست دادن آب به سیس آکونیتات (cis-aconitate) تبدیل می‌شود و ب) سیس اکونیتات با اضافه شدن آب به ایزوسیترات تبدیل می‌گردد. با انجام این دو واکنش عامل OH کربن سوم سیترات جای خود را با هیدروژن کربن دوم عوض می‌کند. فلوئورواستات(مرگ موش) این واکنش را مهار می‌نماید. این ماده

به شکل فلوئور با محصول واکنش استیل کوآ با اگزالوستات ترکیب شده و تشکیل فلوئوروسیترات می‌دهد. ماده اخیر آنزیم آکونیتاز را مهار کرده باعث تجمع سیترات می‌گردد.

$$\text{Citrate} \underset{\downarrow H_2O}{\leftrightarrow} \text{cis-aconitate} \underset{\uparrow H_2O}{\leftrightarrow} \text{Isocitrte}$$

۳. آلفاکتوگلوتارات (α-Ketoglutarate) :

محصول عمل آنزیم ایزوسیترات دهیدروژناز (Isocitrate dehydrogenase) است. در حضور این آنزیم ایزوسیترات ابتدا طی یک عمل دهیدروژناسیون تولید NADH و اگزالوسوکسینات می‌نماید. سپس طی یک مرحله دکربوکسیلاسیون، اگزالوسوکسینات به آلفاکتوگلوتارات و CO_2 تبدیل می‌گردد. ایزوسیترات دهیدروژناز یک آنزیم آلوستریک است که توسط ADP و AMP تحریک و توسط ATP و NADH مهار می‌شود.

۴. سوکسینیل کوآنزیم آ (Succinyl CoA) :

نتیجه جدا شدن یک مولکول CO_2 از آلفا کتوگلوتارات تحت اثر مجموعه آنزیمی آلفا کتوگلوتارات دهیدروژناز (α-ketoglutarate dehydrogenase) است. این مجموعه آنزیمی دقیقاً مشابه پیروات دهیدروژناز می‌باشد و روند دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو را کاتالیز نموده و به NAD^+، لیپوآمید، تیامین پیروفسفات (TPP)، کوآنزیم آ و FAD نیاز دارد. آرسنات این واکنش را مهار کرده و باعث تجمع سوبسترای آلفا – کتوگلوتارات می‌گردد. همچنین آمونیاک که در مواردی از نارسایی‌های کبدی غلظت آن در خون افزایش می‌یابد، قادر به مهار این واکنش در مغز بوده و باعث آسیب مغزی می‌شود.

$$\alpha\text{-Ketoglutarate} + NAD^+ + CoA \longrightarrow$$

$$\text{Succinyl CoA} + CO_2 + NADH + H^+$$

۵. سوکسینات (Succinate) :

محصول عمل آنزیم سوکسینات تیوکیناز (Succinate thiokinase) و یا سوکسنیل کوآسنتتاز (SuccinylCoA synthetase) بر سوکسنیل-کوآ $[O = C\sim S\text{-}COA]$ می‌باشد. این آنزیم می‌تواند پیوند پرانرژی گروه تیواستر را شکسته و GDP را به GTP تبدیل کند. بعداً GTP با انتقال یک فسفات خود به ADP می‌تواند تولید ATP نماید.

۶. فیومارات (Fumarate) :

به‌وسیله آنزیم سوکسینات دهیدروژناز (succinate dehydrogenase)

از سوکسینات حاصل می‌شود. کوآنزیم این واکنش FAD می‌باشد که به $FADH_2$ تبدیل می‌شود. این واکنش به وسیله اسید مالونیک (Malonic acid) مهار می‌شود.

$$\text{Succinate} + \text{FAD} \leftrightarrow \text{Fumarate} + FADH_2$$

۷. مالات از هیدراته شدن فومارات به‌وسیله آنزیم فوماراز (Fumarase) حاصل می‌گردد.

$$\text{Fumarate} + H_2O \leftrightarrow \text{L-malate}$$

۸. اگزالواستات(Oxalaacetate):

محصول عمل آنزیم مالات دهیدروژناز(Malate dehydrogenase) است که نیاز به NAD^+ دارد. اگزالو استات می‌تواند مجدداً به سیترات تبدیل شود.

$$\text{L - malate} + NAD^+ \leftrightarrow \text{Oxaloacetate} + NADH + H^+$$

برآیند واکنش‌های چرخه کربس به‌صورت زیر خلاصه می‌شوند:

$$CH3\text{-}CO\text{-}SCoA + 3\ NAD^+ + FAD + Pi + GDP + 2\ H_2O \rightarrow$$

$$3\ NADH + 3\ H^+ + FADH_2 + GTP + 2\ CO_2$$

بدین ترتیب از گردش هر دور سیکل کربس تقریباً معادل (۱۲) پیوند پرانرژی فسفات ذخیره می‌گردد؛ زیرا GTP می‌تواند معادل یک پیوند پرانرژی فسفات باشد و سه مولکول NADH و یک مولکول $FADH_2$ نیز وارد زنجیره تنفسی شده و باعث ذخیره به ترتیب ۹ و ۲ پیوند پرانرژی فسفات به‌صورت ATP می‌گردند. بنابراین از اکسیداسیون یک مولکول گلوکز در شرایط هوازی تقریباً ۳۸ مولکول ATP از ADP تولید می‌گردد.

۴ـ۱ گلوکونئوژنز(Gluconeogenesis):

مجموعه واکنش‌هایی است که طی آن ترکیبات غیر کربوهیدراتی به گلوکز و گلیکوژن تبدیل می‌شوند. سوبستراهای اصلی مورداستفاده در گلوکونئوژنز عبارتند از: اسکلت کربنی بعضی از اسیدهای آمینه (اسیدهای آمینه گلوکوژنیک)، لاکتات، گلیسرول و پروپیونات (به‌ویژه در بدن نشخوارکنندگان حائز اهمیت است). کبد و کلیه بافت‌های اصلی دخیل در روند گلوکونئوژنز هستند، زیرا حاوی مجموعه کاملی از آنزیم‌های ضروری برای این روند می‌باشند.

روند گلوکونئوژنز هنگامی‌که کربوهیدرات به مقدار کافی از رژیم غذایی به بدن موجود زنده نمی‌رسد به رفع نیازهای بدن به گلوکز کمک می‌کند. ۵ ساعت بعد از آخرین وعده غذایی دوسوم گلوکز خون به‌وسیله گلوکونئوژنز و یک‌سوم به‌وسیله گلیکوژنولیز از کبد

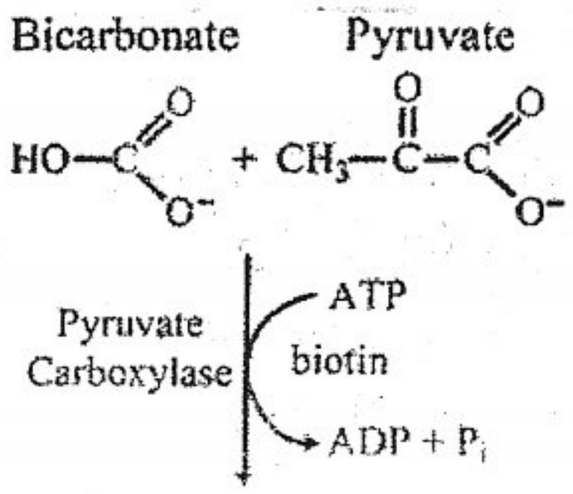
تأمین می‌گردد.

تأمین مداوم گلوکز به‌عنوان منبع انرژی به‌خصوص برای سیستم عصبی و گلبول‌های قرمز ضروری است. وجود اشکال و اختلال در روند گلوکونئوژنز معمولاً منجر به مرگ فرد می‌شود. زیرا هنگامی‌که غلظت گلوکز خون به کمتر از یک حد بحرانی برسد اختلال عمل مغز بروز کرده و منجر به حالت کما و مرگ بیمار می‌گردد. علاوه بر این انجام گلوکونئوژنز برای پاک‌سازی خون از برخی مواد حاصل از متابولیسم در بافت‌ها (مانند لاکتات که توسط عضله و گلبول‌های قرمز و گلیسرول که توسط بافت چربی به‌طور مداوم تولید می‌شوند) ضرورت دارد.

واکنش‌های مسیر گلوکونئوژنز به‌تمامی در جهت عکس گلیکولیز می‌باشند به‌غیراز سه واکنش یک‌طرفه در مسیر گلیکولیز که به‌وسیله آنزیم‌های هگزوکیناز، فسفوفروکتوکیناز و پیروات کیناز کاتالیز می‌شوند. روند معکوس این واکنش‌ها به‌وسیله آنزیم‌های دیگری کاتالیز می‌گردند.

این سه واکنش عبارتند از:

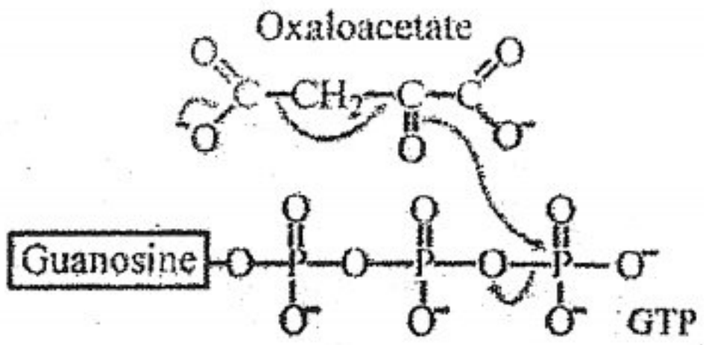
۱. تبدیل پیروات به فسفوانول پیروات (Phosphoenolpyruvate, PEP)



این واکنش در دو مرحله صورت می‌گیرد: در مرحله اول پیروات کربوکسیله شده و به اگزالواستات تبدیل می‌شود.

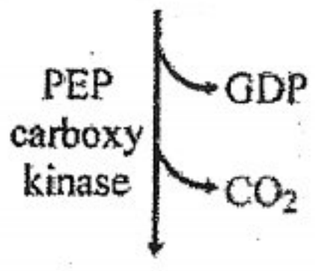
این واکنش به وسیله پیروات کربوکسیلاز (Pyruvate carboxylase) در میتوکندری انجام می‌گیرد و نیاز به ATP و ویتامین بیوتین به‌عنوان کوآنزیم دارد.

اگزالواستات قادر به عبور از غشاء میتوکندری نمی‌باشد، بنابراین این ترکیب ابتدا در میتوکندری به مالات(Malate) تبدیل می‌شود. مالات توسط یک سیستم پروتیینی انتقال ویژه به داخل سیتوزل وارد شده، مجدداً توسط مالات دهیدروژناز(Malate dehydrogenase) سیتوزلی به اگزالواستات تبدیل می‌گردد. بقیه مراحل گلوکونئوژنز در سیتوپلاسم انجام می‌پذیرد.

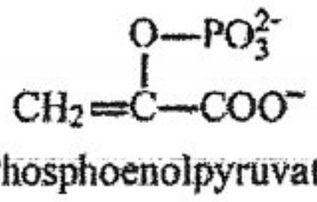


$$Pyruvate + ATP + CO_2 \longrightarrow oxaloacetate + ADP + Pi$$

در مرحله دوم آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز (Phosphoenolpyruvate carboxykinase) یک مولکول فسفات از GTP به اگزالواستات منتقل نموده و فسفوانول پیروات (PEP) را ایجاد می‌کند.



$$Oxaloacetate + GTP \leftrightarrow PEP + CO_2 + GDP$$



PEP از طریق واکنش‌های معکوس مسیر گلیکولیز به فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات تبدیل می‌شود.

۲. تبدیل فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات به فروکتوز ۶ فسفات:

این واکنش به‌وسیله فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفاتاز کاتالیز می‌گردد.

$$\text{Fructose 1,6-bisphosphate} + H_2O \rightarrow \text{Fructose 6-phosphate} + Pi$$

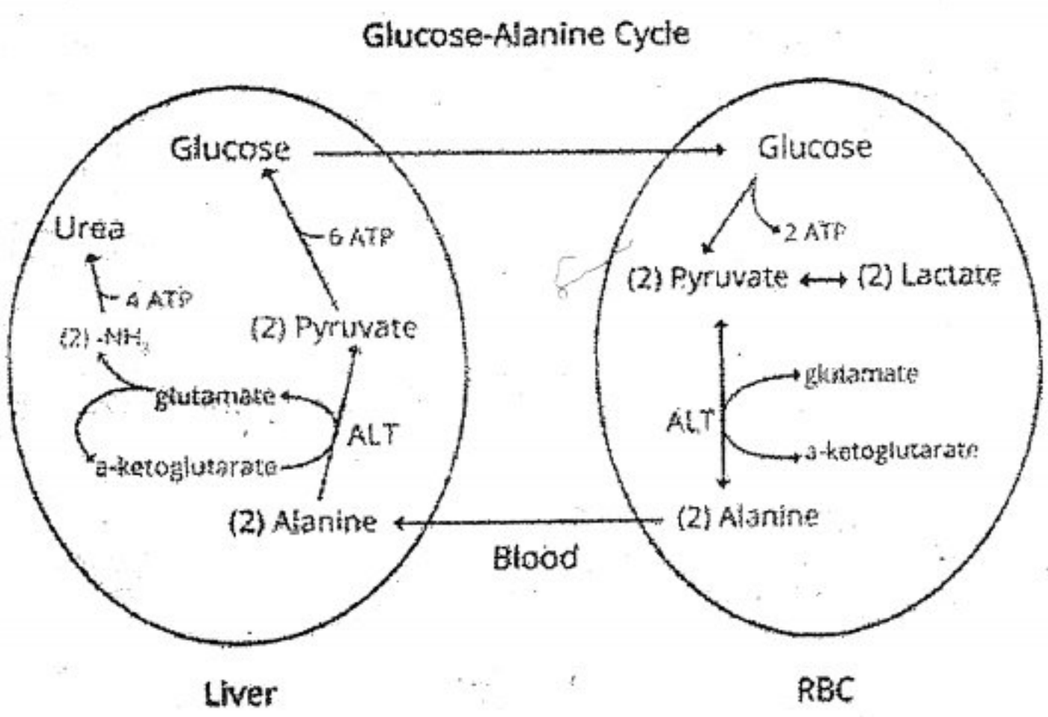
فروکتوز ۶- فسفات به‌وسیله آنزیم ایزومراز به گلوکز ۶- فسفات تبدیل می‌شود.

۳. تبدیل گلوکز ۶- فسفات به گلوکز

گلوکز ۶- فسفات به‌وسیله آنزیم گلوکز ۶- فسفاتاز (Glucose ۶-phosphatase) هیدرولیز شده و تولید گلوکز می‌نماید. این آنزیم فقط در کبد و کلیه وجود داشته، در عضله و بافت چربی یافت نمی‌شود؛ بنابراین دو بافت اخیر نمی‌توانند گلوکز را به داخل گردش خون انتقال دهند.جمعاً در واکنش فوق (با احتساب ضریب ۲) 4 ATP و 2 GTP مصرف می‌شود؛ یعنی برای تشکیل یک مولکول گلوکز از دو مولکول پیروات انرژی معادل شش پیوند پرانرژی فسفات لازم است.

۵ـ۱ چرخه اسیدلاکتیک (Cori cycle)

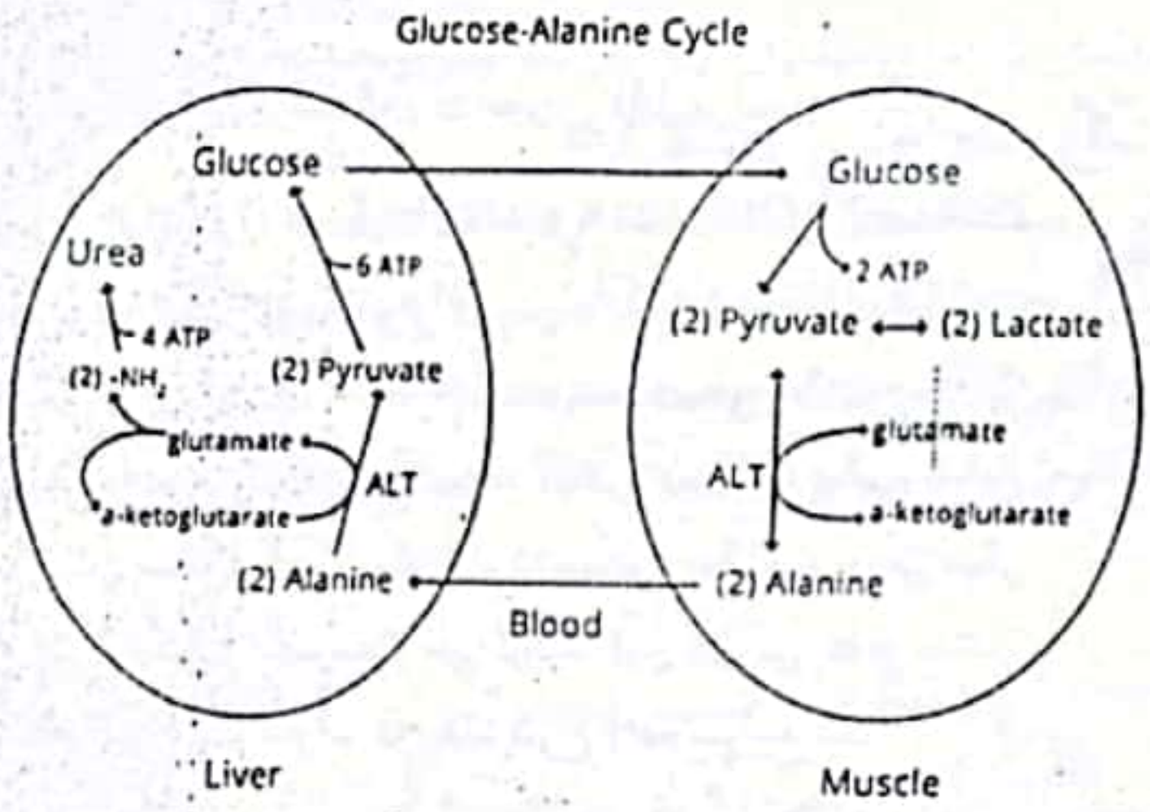
لاکتات حاصل از ورود گلوکز به مسیر گلیکولیز در عضله اسکلتی و گلبول‌های قرمز به جریان خون راه یافته، به کبد و کلیه وارد شده و در آنجا مجدداً به گلوکز تبدیل می‌شود. این گلوکز می‌تواند مجدداً از طریق جریان خون به بافت‌های مختلف وارد شده و دوباره به اسیدلاکتیک تبدیل گردد. این فرایند را چرخه کری (Cori) یا چرخه اسیدلاکتیک می‌نامند (شکل ۷ـ۱).



شکل ۷ـ۱: چرخه اسیدلاکتیک(Cori cycle)

۶ـ۱ چرخه گلوکز ـ آلانین : (Glucose-Alanine Cycle)

اسیدآمینه اصلی که در حالت گرسنگی از عضله به کبد منتقل می‌شود آلانین است. آلانین در کبد گروه آمین خود را ازدست‌داده (در روند ترانس آمیناسیون) و به پیروات تبدیل می‌گردد. پیروات وارد مسیر گلوکونئوژنز کبدی شده و به گلوکز تبدیل می‌شود. این گلوکز می‌تواند به عضله منتقل شده و به پیروات تبدیل گردد. پیروات در سلول‌های عضلات یک گروه آمین دریافت نموده و به آلانین تبدیل می‌گردد. به‌این‌ترتیب یک چرخه گلوکز-آلانین ایجاد می‌شود (شکل ۸ـ۱).



شکل ۸ـ۱: چرخه گلوکز- آلانین

۷ـ۱ تنظیم گلیکولیز و گلوکونئوژنز

در کبد تنظیم روندهای گلیکولیز و گلوکونئوژنز به‌طور متقابل صورت می‌گیرد معمولاً تغییرات مقدار هر ماده بیوشیمیایی به‌صورت مستقیم یا غیرمستقیم باعث ایجاد تغییرات در متابولیسم آن ماده می‌شود. غالباً تغییر غلظت مواد به‌ویژه مواد کربوهیدرات و چربی در خون که از جمله می‌تواند ناشی از تغییر وضعیت سیری و گرسنگی باشد، منجر به تغییر ترشح هورمون‌ها می‌شود. هورمون‌ها به نوبه خود الگوی متابولیسم را از طریق اثر بر فعالیت آنزیم‌های مهم مسیرهای متابولیک تغییرمی دهند. تنظیم فعالیت آنزیم‌های دخیل در متابولیسم کربوهیدرات‌ها با سه مکانیسم انجام می‌شود که عبارتند از: ۱) تغییر میزان سنتز آنزیم، ۲) تغییر پیوندهای کووالان در ساختمان آنزیم از طریق فسفوریلاسیون قابل‌برگشت که دو مکانیسم فوق معمولاً از پیام هورمون‌ها تأثیر می‌پذیرند و ۳) اثرات آلوستری. در حاشیه ۱-۱ و شکل ۹ـ۱ نقش فروکتوز ۲ و ۶ بیس فسفات در تنظیم متقابل گلیکولیز و گلوکونئوژنز در کبد شرح داده شده است.

۱. القاء (Induction) و افت (Down regulation) سنتز آنزیم‌های کلیدی و مهم گلوکونئوژنز

آنزیم‌های کلیدی معمولاً واکنش‌های غیر تعادلی (که در شرایط فیزیولوژیک یک‌طرفه هستند) را کاتالیز می‌کنند. نکته مهم آن است که آنزیم‌های کلیدی یک مسیر متابولیک همگی به‌طور هماهنگ فعال شده یا مهار می‌شوند. هنگامی که گلوکز زیادی در دسترس باشد، آنزیم‌های دخیل در روند مصرف گلوکز (یعنی آنزیم‌های مسیر گلیکولیز، گلیکوژنز و لیپوژنز) همگی فعال‌تر شده و در همین شرایط آنزیم‌های کلیدی مسئول تولید گلوکز (مسیرهای گلوکونئوژنز و گلیکوژنولیز) مهار می‌گردند. مثلاً انسولین که در واکنش به ورود گلوکز به بدن و افزایش غلظت گلوکز خون ترشح می‌شود، سنتز آنزیم‌های مهم در روند گلیکولیز را طی چند ساعت افزایش می‌دهد. درعین‌حال این هورمون با اثر گلوکاگون و گلوکوکورتیکوئیدها که باعث القاء سنتز آنزیم‌های مهم مسئول در روند گلکونئوژنز می‌شوند، مقابله می‌نماید.

۲. تغییر پیوندهای کووالان از طریق فسفوریلاسیون قابل‌برگشت

گلوکاگون و تا حد کمتری اپی‌نفرین، از طریق افزایش غلظت cAMP در کبد باعث مهار سریع گلیکولیز و تحریک گلوکونئوژنز می‌شوند. افزایش غلظت cAMP و افزایش فعالیت پروتئین کیناز وابسته به آن منجر به فسفوریلاسیون برخی آنزیم‌های متابولیسم کربوهیدرات می‌گردند. درنتیجه فسفریلاسیون، بعضی از این آنزیم‌ها مانند فروکتوز۲،۶-بیس فسفاتاز (در مسیر گلوکونئوژنز) فعال‌تر و بعضی دیگر مانند پیروات کیناز (در مسیر گلیکولیز) غیرفعال می‌گردند. این هورمون‌ها بر غلظت فروکتوز۲،۶-بیس فسفات نیز اثر دارند که بعداً شرح داده خواهد شد.

۳. اثرات آلوستری

در متابولیسم کربوهیدرات‌ها نمونه‌های متعددی از کنترل سریع فعالیت آنزیم‌ها با مکانیسم اثر آلوستری وجود دارد. تنظیم آلوستری روند گلیکولیز در سطح سه آنزیم هگزوکیناز، فسفوفروکتوکیناز-۱ (PFK-1) و پیروات کیناز اعمال می‌گردد؛ اما آنزیم PFK-1 مهم‌ترین جایگاه تنظیم آلوستری در روند گلیکولیز است. F2,6-BP (حاشیه۱-۱) و ATP از تنظیم‌کننده‌های (Modulators) مهم این آنزیم می‌باشند. جالب است که ATP هم سوبسترا و هم تنظیم‌کننده منفی این آنزیم است. درحالی‌که AMP و ADP تنظیم‌کننده‌های مثبت برای PFK-1 بوده و اثر مهاری ATP را از آن برداشته و درنتیجه فعالیت این آنزیم و سرعت گلیکولیز را افزایش می‌دهند.

به‌بیان‌دیگر، فعالیت PFK-1 به‌شدت از نسبت ATP / AMP + ADP تاثیر می‌پذیرد. این نسبت درواقع یک شاخص برای وضعیت انرژی در سلول است. با افزایش نیاز سلول به انرژی، ATP مصرف شده، غلظت ADP و AMP افزایش یافته و نسبت فوق کاهش میابد تا با افزایش سرعت گلیکولیز انرژی موردنیاز سلول فراهم گردد. ATP تنظیم‌کننده منفی آنزیم آلوستری دیگر مسیر گلیکولیز یعنی پیروات کیناز نیز می‌باشد.

در مسیر گلوکونئوژنز، فعالیت آنزیم آلوستری پیرووات کربوکسیلاز، از استیل- کوآ به‌عنوان یک تنظیم‌کننده مثبت تأثیر می‌پذیرد. در شرایطی که وضعیت انرژی سلول مطلوب می‌باشد، سرعت فسفریلاسیون اکسیداتیو در زنجیره تنفسی کاهش می‌یابد. درنتیجه مصرف NADH کاهش یافته و سطح آن در میتوکندری افزایش میابد. افزایش NADH موجب مهار آنزیم کلیدی چرخه کربس می‌گردد. با کاهش سرعت چرخه کربس، استیل- کوآ در میتوکندری انباشته شده و فعالیت پیرووات کربوکسیلاز را افزایش می‌دهد. درنتیجه موجب افزایش سنتز اگزالوستات از بیکربنات و پیرووات و نهایتاً افزایش سرعت گلوکونئوژنز می‌گردد. درواقع با افزایش غلظت استیل کوآ و اتصال آن به آنزیم پیرووات کربوکسیلاز، ساختمان سوم این پروتئین تغییر می‌کند و مقدار Km آن برای بیکربنات کاهش می‌یابد. لازم به ذکر است که استیل کوآ از اکسیداسیون اسیدهای چرب نیز حاصل می‌گردد.

این ترکیب نه‌تنها آنزیم پیرووات کربوکسیلاز را فعال کرده بلکه پیرووات دهیدروژناز را نیز مهار می‌کند تا بدین ترتیب در شرایطی که اکسیداسیون اسیدهای چرب فعال می‌باشد (مثلاً هنگام گرسنگی)، از یکسو واکنش تبدیل پیروات به اگزالوستات افزایش یابد و از سوی

دیگر سرعت اکسیداسیون پیروات کاهش یابد تا این مولکول در جریان گلوکونئوژنز مصرف شود و درنهایت گلوکونئوژنز فعال شده و سطح گلوکز خون حفظ گردد.
بنابراین ارتباط متقابل بین فعالیت پیرووات دهیدروژناز و پیرووات کربوکسیلاز در کبد و کلیه طی مرحله انتقالی از حالت سیری به گرسنگی، سرنوشت متابولیک پیرووات را تغییر می‌دهد؛ یعنی جریان متابولیسم در این دو بافت، از اکسیداسیون کربوهیدرات از طریق گلیکولیز در حالت سیری به تولید گلوکز در مسیر گلوکونئوژنز در حالت گرسنگی تغییر می‌یابد.

۸ـ۱ متابولیسم گلیکوژن

گلیکوژن شکل ذخیره‌ای اصلی کربوهیدرات‌ها در بدن حیوانات بوده و معادل نشاسته در گیاهان است. این ترکیب عمدتاً در کبد (تا ۶ درصد وزن کبد) و عضله وجود دارد که در این بافت به‌ندرت بیش از یک درصد آن را تشکیل می‌دهد. البته با توجه به اینکه توده عضلات بدن بسیار بیشتر از کبد است، مقدار گلیکوژن موجود در عضلات ۳ تا ۴ برابر کبد است. گلیکوژن نیز هـــمانند نشاسته یک پلیمر شاخه‌دار از آلفا – D – گلوکز است. گلیکوژن عضلانی به‌عنوان منبعی از گلوکز با دسترسی آسان محسوب می‌شود. گلوکز حاصل از تجزیه گلیکوژن در عضلات در مسیر گلیکولیز مصرف می‌شود. درحالی‌که نقش گلیکوژن کبدی در ذخیره‌سازی و تأمین گلوکز خون در حالات بین غذا می‌باشد. بعد از ۱۲ تا ۱۸ ساعت ناشتا بودن، تقریباً تمامی گلیکوژن کبدی تخلیه می‌شود. بیماری‌های ذخیره‌ای گلیکوژن (Glycogen Storage Diseases) گروهی از بیماری‌های ارثی هستند که در آن‌ها نقص تجزیه گلیکوژن و یا تجمع اشکال غیرطبیعی گلیکوژن وجود داشته که ممکن است منجر به ضعف عضلانی، بافتی و مرگ شوند. این بیماری‌ها در جدول ۱-۱ خلاصه‌شده‌اند.

۱ـ۸ـ۱ گلیکوژنز(Glycogenesis):

مجموعه واکنش‌هایی است که طی آن گلوکز به گلیکوژن تبدیل می‌شود. گلیکوژنز در سیتوزول در سلول‌های عضله و کبد رخ می‌دهد. جریان گلیکوژنز را در دو مرحله می‌توان بررسی نمود:

۱. ایجاد گلوکز فعال:

گلوکز توسط هگزوکیناز موجود در عضله یا گلوکوکیناز موجود در کبد به گلوکز ۶- فسفات فسفریله می‌شود. گلوکز۶- فسفات توسط فسفوگلوکوموتاز به ایزومرگلوکز ۱- فسفات (G1P) تبدیل می‌شود. سپس گلوکز ۱- فسفات در واکنش با اوریدین تری فسفات (UTP) تولید نوکلئوتید فعال گلوکز اوریدین دی فسفات (UDP - Glucose) و پیروفسفات می‌نماید. این واکنش توسط UDP گلوکز پیروفسفوریلاز (UDP-Glucose pyrophosphorylase)

کاتالیز می‌گردد. واکنش فوق به دلیل هیدرولیز شدن پیروفسفات و تولید 2 Pi (دو فسفات معدنی) در جهت راست پیشرفت کرده و UDP – گلوکز تولید می‌شود که شکل دیگری از گلوکز فعال‌شده است. UDP – گلوکز نوعی مولکول ناقل گلوکز نیز محسوب می‌گردد.

$$\alpha - D - Glucose + ATP \rightarrow G6P + ADP$$

$$G6P \leftrightarrow G1P$$

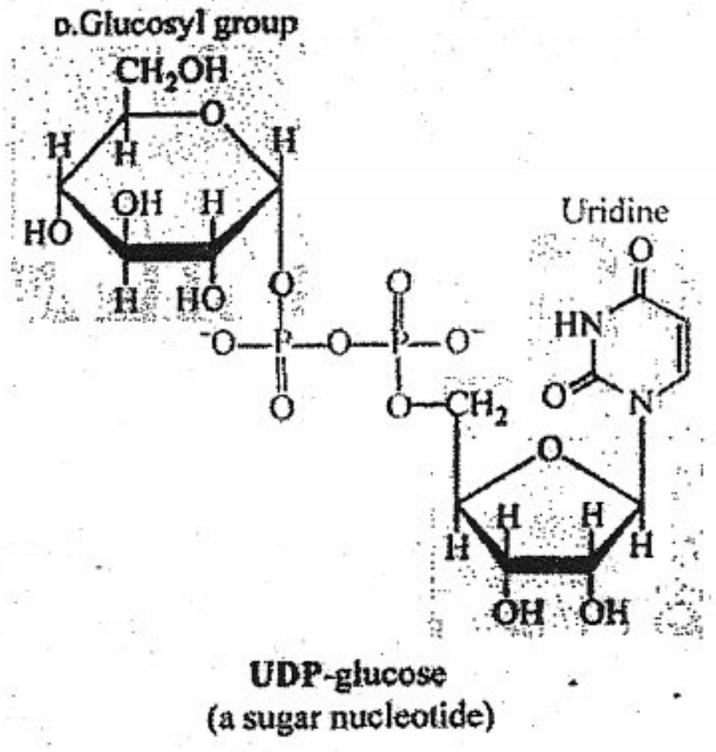
$$G1P + UTP \rightarrow UDP - Glucose + PPi$$

۲. پلیمریزاسیون گلوکز و تشکیل گلیکوژن:

آنزیم گلیکوژن سنتاز (Glycogen synthase) گلوکزهای فعال را به انتهای غیر احیاکننده یک زنجیره پلی ساکاریدی به نام پرایمر گلیکوژن متصل می‌کند و زنجیره پلی ساکاریدی بزرگ‌تری درست می‌کند. در این واکنش یک پیوند گلیکوزیدی α(۱ → ۴) بین کربن ۱ گلوکز فعال شده با کربن ۴ یک ریشه گلوکز انتهایی زنجیره ایجاد می‌شود که همراه با آزادسازی اوردین دی فسفات (UDP) است.

$$UDP - Glucose + \underset{\text{glycogen}}{(C6)_n} \longrightarrow UDP + (C6)_{n+1}$$

آنزیم گلیکوژن سنتاز قادر به ایجاد پیوند گلیکوزیدی α (۱ → ۶) در نقطه شاخه‌های گلیکوژن نیست؛ اما هنگامی‌که طول زنجیره به حداقل ۱۱ ریشه گلوکز رسید یک آنزیم شاخه ساز (Glycogen branching enzyme) قسمتی از زنجیره α(۱ → ۴) که دارای حداقل شش ریشه گلوکز می‌باشد را می‌شکند و یک اتصال α (۱ → ۶) ایجاد می‌نماید تا یک نقطه شاخه به وجود آید. شاخه‌ها با افزودن واحدهای گلوکوزیل با پیوندهای α(۱ → ۴) و ایجاد شاخه‌های بعدی رشد می‌کنند.



۲ـ۸ـ۱ گلیکوژنولیز (Glycogenolysis):

مجموعه واکنش‌هایی است که در سیتوزول در سلول‌های کبد و عضله انجام شده و طی آن گلیکوژن به گلوکز تبدیل می‌شود. این واکنش‌ها در مواقع کاهش گلوکز خون مثل گرسنگی انجام می‌شوند و توسط عوامل هورمونی کنترل می‌گردند. گلیکوژنولیز عکس گلیکوژنز نبوده و یک مسیر مجزا را طی می‌کند. آنزیم گلیکوژن فسفریلاز (Glycogen phosphorylase) دارای نقش عمده در جریان گلیکوژنولیز می‌باشد. این آنزیم به‌وسیله مولکول فسفات پیوندهای α(۱ → ۴) بین واحدهای گلوکز انتهایی زنجیره را می‌شکند و گلوکز انتهایی به‌صورت گلوکز ۱- فسفات جدا می‌گردد.
بدین ترتیب ریشه‌های گلوکوزیل انتهایی در زنجیره‌های خارجی‌تر مولکول گلیکوژن به طریق متوالی برداشت شده تا تقریباً چهار ریشه گلوکز در نزدیک شاخه α (۱ → ۶) باقی بماند. اینک مجموعه آنزیم دیگری بنام شاخه شکن (Debranching) یک واحد تری‌ساکارید را از یک شاخه به شاخه مجاور منتقل می‌کند تا نقطه انشعاب

پیوند (۶ ← ۱) α آشکار گردد. سپس آنزیم شاخه شکن با هیدرولیز اتصال (۶ ← ۱) α گلوکز را در محل شاخه جدا می‌کند. با برداشته شدن شاخه، زنجیره گلیکوژن خطی شده و عمل فسفوریلاز ادامه می‌یابد. گلوکز ۱- فسفات تولیدشده در این واکنش‌ها به‌وسیله آنزیم فسفوگلوکوموتاز به G6P تبدیل می‌شود. این واکنش برگشت‌پذیر می‌باشد. به علت وجود آنزیم گلوکز۶ -فسفاتاز در کبد و کلیه (اما نه در بافت عضلانی)، G6P به گلوکز تبدیل شده و از داخل سلول به جریان خون انتشار می‌یابد. انجام این واکنش بخصوص در کبد منجر به افزایش گلوکز خون می‌شود.

۳ـ۸ـ۱ تنظیم متابولیسم گلیکوژن:

گلیکوژن فسفوریلاز و گلیکوژن سنتاز آنزیم‌های اصلی کنترل‌کننده متابولیسم گلیکوژن هستند. تنظیم این آنزیم‌ها طی یک سری واکنش‌های پیچیده انجام می‌گیرد که شامل هر دو نوع مکانیسم آلوستری و تغییر پیوندهای کووالان در اثر فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون برگشت‌پذیر می‌باشد. مثلاً گلیکوژن فسفوریلاز به‌طور آلوستری توسط AMP فعال و به‌وسیله مهار ATP می‌شود؛ اما بسیاری از تغییرات پیوندهای کووالان در دو آنزیم فوق مربوط به عمل cAMP می‌باشد (حاشیه۲-۱). بعد از صرف غذا تحت تأثیر پیام انسولین آنزیم گلیکوژن سنتاز فعال و گلیکوژن فسفریلاز مهار می‌گردد. درحالی‌که در هنگام گرسنگی با پیام گلوکاگون آنزیم گلیکوژن فسفریلاز فعال می‌شود.

۹ـ۱ مسیر پنتوز فسفات (pentose phosphate pathway)

این مسیر به نام‌های فسفوگلوکنات (phosphogluconate pathway) و راه فرعی هگزوز مونو فسفات (hexose monophosphate shunt) نیز شناخته می‌شود. مسیر پنتوز فسفات راه دیگری برای کاتابولیسم گلوکز می‌باشد. این مسیر در سیتوزول تمامی سلول‌ها وجود داشته اما نقشی در تولید ATP ندارد. در بافت‌هایی نظیر کبد و بافت چربی ۵۰٪ متابولیسم گلوکز از این طریق صورت می‌گیرد. دو فعالیت اصلی این مسیر عبارتند از:

۱. سنتز ریبوز ۵- فسفات که برای سنتز نوکلئوتیدها و اسیدهای نوکلئیک مهم می‌باشد.
۲. تولید NADPH که توان احیاکنندگی (reducing power) سلول می‌باشد. NADPH حاصل‌شده در کبد و بافت چربی در سنتز کلسترول و اسیدهای چرب مورداستفاده قرار می‌گیرد. در گلبول‌های قرمز NADPH عاملی برای احیاء گلوتاتیون اکسید شده می‌باشد. وجود گلوتاتیون احیا شده برای ممانعت از اکسیداسیون چربی‌ها و همچنین عوامل SH- پروتئین‌های غشاء ضرورت دارد.

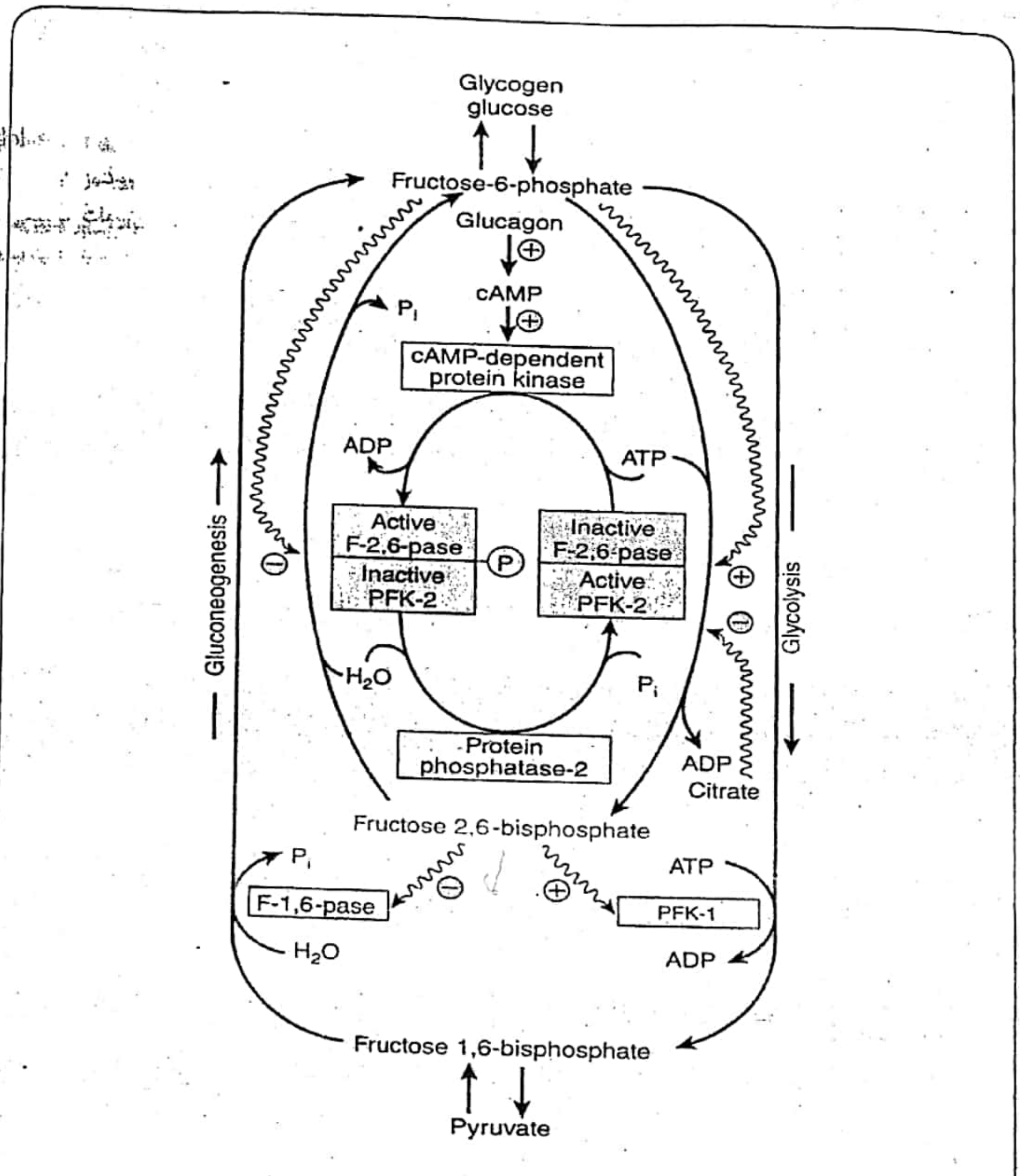
واکنش‌های مسیر پنتوز فسفات (شکل ۸-۱) به دو فاز تقسیم می‌شوند:

۱. فاز اکسیداتیو غیرقابل برگشت که طی آن NADPH و ریبوز فسفات تولید

حاشیه ۱-۱ نقش مهم فروکتوز ۲و۶ بیس فسفات در تنظیم گلیکولیز و گلوکونئوژنز در کبد.

میزان AMP نشان‌دهنده وضعیت انرژی سلول است. در شرایط هیپوکسی تولید ATP در میتوکندری کاهش و غلظت AMP افزایش می‌یابد. درنتیجه سرعت روند گلیکولیز افزایش می‌یابد، زیرا AMP آنزیم فسفوفروکتوکیناز-۱ را فعال می‌کند. AMP به‌طور هم‌زمان آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز را نیز فعال کرده منجر به افزایش گلیکوژنولیز می‌شود. مهار فسفوفروکتوکیناز-۱ توسط ATP و سیترات (که محصول ترکیب استیل کوآ و اگزالواستیک اسید می‌باشد) راه دیگری است که اکسیداسیون اسیدهای چرب بتواند سرعت اکسیداسیون گلوکز را کاهش دهد؛ بنابراین در شرایطی مانند گرسنگی که سرعت روند اکسیداسیون اسیدهای چرب و ATP حاصل از آن افزایش می‌یابد، جریان گلیکولیز مهار می‌گردد تا ذخیره گلوکز بدن و غلظت آن در خون حفظ شود.

فروکتوز ۲، ۶- بیس فسفات دارای نقش منحصربه‌فرد در تنظیم گلیکولیز و گلوکونئوژنز در کبد می‌باشد. فروکتوز۲،۶- بیس فسفات از فسفوریله شدن فروکتوز۶-فسفات توسط آنزیم فسفوفروکتوکیناز-۲ تشکیل می‌شود. همین سیستم آنزیمی باعث تجزیه ترکیب فوق نیز می‌شود زیرا دارای فعالیت فروکتوز ۲، ۶- بیس فسفاتاز نیز می‌باشد. فعالیت این آنزیم دو عملکردی (bifunctional) تحت کنترل آلوستری توسط فروکتوز ۶-فسفات می‌باشد. به‌این‌ترتیب که با افزایش غلظت گلوکز (مثلاً در پی مصرف غذا) غلظت فروکتوز ۶-فسفات نیز افزایش یافته و درنتیجه فعالیت کینازی آنزیم تحریک و فعالیت فسفاتازی آن مهار می‌شود. از سوی دیگر، هنگام کمبود گلوکز (مثلاً هنگام گرسنگی)، گلوکاگون تولید cAMP را تحریک می‌کند که منجر به فعال شدن پروتئین کیناز وابسته به cAMP (Protein kinase A) می‌شود. این آنزیم، فسفوفروکتوکیناز-۲ را فسفریله و غیرفعال کرده و فروکتوز۲، ۶- بیس فسفاتاز را فعال می‌کند. فروکتوز۲، ۶- بیس فسفات قوی‌ترین عامل آلوستری مثبت برای فسفوفروکتوکیناز-۱ است. این ترکیب مهار فسفوفروکتوکیناز-۱ را توسط ATP بر طرف کرده و میل ترکیبی این آنزیم را به فروکتوز۶-فسفات افزایش می‌دهد. این ماده مهارگر آنزیم فروکتوز۱، ۶- بیس فسفاتاز نیز می‌باشد زیرا می‌تواند Km آنزیم را برای فروکتوز۱، ۶- بیس فسفات افزایش دهد (شکل ۷)؛ بنابراین در صورت وجود گلوکز فراوان، غلظت فروکتوز۲، ۶بیس فسفات افزایش می‌یابد که از طریق فعال کردن فسفوفروکتوکیناز-۱ و مهار فروکتوز۱، ۶- بیس فسفاتاز منجر به تحریک گلیکولیز می‌شود. در صورت کمبود گلوکز، با کاهش غلظت فروکتوز۲، ۶- بیس فسفات، فعالیت فسفوفروکتوکیناز-۱ از بین رفته و فروکتوز ۱، ۶- بیس فسفاتاز از حالت مهار خارج شده و در نتیجه روند گلوکونئوژنز تحریک می‌شود.



شکل ۹ـ۱: نقش فروکتوز ۲ و ۶ بیس فسفات در تنظیم گلیکولیز و گلوکونئوژنز در کبد

PFK-2 = ۲ فسفوفروکتوکیناز

F-6,2 - Pase = فروکتوز ۲ و۶ بیس فسفاتاز

PFK = فسفوفروکتوکیناز

F-1,6 و Pase = فروکتوز ۶,۱ بیس فسفاتاز

می‌گردند. این مرحله به‌وسیله دو آنزیم صورت می‌گیرد. ابتدا G6P به‌وسیله آنزیم گلوکز ۶-فسفات دهیدروژناز (Glucose 6 phosphate dehydrogenase, G6PD) به ۶-فسفوگلوکونولاکتون (6-phosphogluconolactone) دهیدروژنه می‌شود.

$$G6P + NADP^+ \rightarrow 6\text{-phosphogluconlactone} + NADPH + H^+$$

سپس حلقه لاکتون در ۶-فسفوگلوکونولاکتون به وسیله آنزیم گلوکونولاکتون هیدرولاز (Gluconolactone hydrolase) شکسته شده و تولید ۶- فسفوگلوکونات می کند ماده اخیر به وسیله آنزیم ۶ فسفوگلوکونات دهیدروژناز (phospho-D-gluconate dehydrogenase-6)، اکسیده و دکربوکسیله می‌شود و تولید یک مولکول NADPH دیگر می‌نماید.
در این مرحله کتوپنتوزی (Ketopentose) به نام ریبولوز ۵- فسفات تولید می‌شود.

$$6-PG + NADP^+ \rightarrow \text{Ribulose 5-P} + NADPH + H^+ + CO_2$$

کمبود آنزیم گلوکز ۶ -فسفات دهیدروژناز G6PD (اولین آنزیم این مسیر) منجر به بیماری فاویسم (Favism) می‌گردد که با تخریب غشاء و همولیز گلبول‌های قرمز و کم‌خونی همولیتیک همراه است.

۲. فاز غیر اکسیداتیو قابل‌برگشت: در این مسیر ریبولوز۵-فسفات می‌تواند به‌وسیله آنزیم کتوایزومراز به ریبوز ۵-فسفات تبدیل گردد که در صورت نیاز برای سنتز نوکلئوتیدها، RNA و DNA مصرف خواهد شد. اما چنانچه در سلول ریبوز ۵-فسفات اضافی وجود داشته باشد. مثلاً در سلول‌هایی مانند گلبول قرمز که قابلیت تقسیم نداشته و نیازی به ریبوز ۵- فسفات ندارند، در این صورت ریبوز ۵- فسفات طی چند واکنش به ترکیبات بینابینی مسیر گلیکولیز تبدیل شده و به مسیر گلیکولیز ملحق می‌گردد. در این مسیر دو آنزیم ترانس کتولاز و ترانس آلدولاز (شکل ۸ـ۱) ریبولوز ۵- فسفات را به فروکتوز۶ – فسفات (F6P) و سپس به ایزومر خود یعنی گلوکز۶ – فسفات تبدیل می‌نمایند.

معادله کلی راه پنتوز فسفات به‌صورت زیر است:

$$6\ G6P + 12\ NADP^+ \rightarrow 12\ NADPH + 4\ F6P + 2\ GAP + 6\ CO_2$$

۹ـ۱ مسیر اسید اورونیک (Uronic Acid Pathway)

این مسیر نیز یک راه اکسیداسیون فرعی برای گلوکز است، در این مسیر گلوکز به اسید گلوکورونیک (Glucuronic acid)، اسید آسکوربیک (Ascorbic acid) و پنتوزها تبدیل می‌شود، اما همانند مسیر پنتوز فسفات، در این

حاشیه ۲-۱-تنظیم گلیکوژنولیز:

cAMP ترکیب واسطه داخل سلولی و یک پیامبر ثانوی است که بعضی از هورمون‌ها اثر خود را از طریق آن ایجاد می‌نمایند. این ترکیب توسط آنزیم آدنیلات سیکلاز که در سطح داخلی غشاهای سلولی جای دارد از ATP ساخته می‌شود. آنزیم آدنیلات سیکلاز تحت تأثیر هورمون‌هایی از قبیل اپی‌نفرین، نوراپی‌نفرین و گلوکاگون فعال می‌شود. AMP حلقوی (cAMP) تنظیم گلیکوژنولیز و گلیکوژنز را هماهنگ می‌نماید. توالی واکنش‌های مؤثر در کنترل متابولیسم گلیکوژن بدین‌صورت است:

۱. غلظت cAMP در پاسخ به هورمون گلوکاگون در کبد و اپی‌نفرین در ماهیچه افزایش می‌یابد.

۲. افزایش غلظت cAMP باعث فعال شدن آنزیمی با فعالیت نسبتاً وسیع به نام پروتئین کینازA (وابسته به cAMP) می‌شود. پروتئین کیناز A فعال‌شده به نوبه خود شکل غیرفعال (b) آنزیم فسفریلاز کیناز را فسفریله نموده و به شکل فعال آن یعنی فسفریلاز کیناز a تبدیل می‌نماید. آنزیم فسفریلاز کیناز فعال سوبسترای خود یعنی آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز غیرفعال (b) را فسفریله نموده و به شکل فعال آن یعنی گلیکوژن فسفریلاز a فعال تبدیل می‌نماید. در این حالت گلیکوژن سنتاز فسفوریله و غیرفعال می‌گردد.

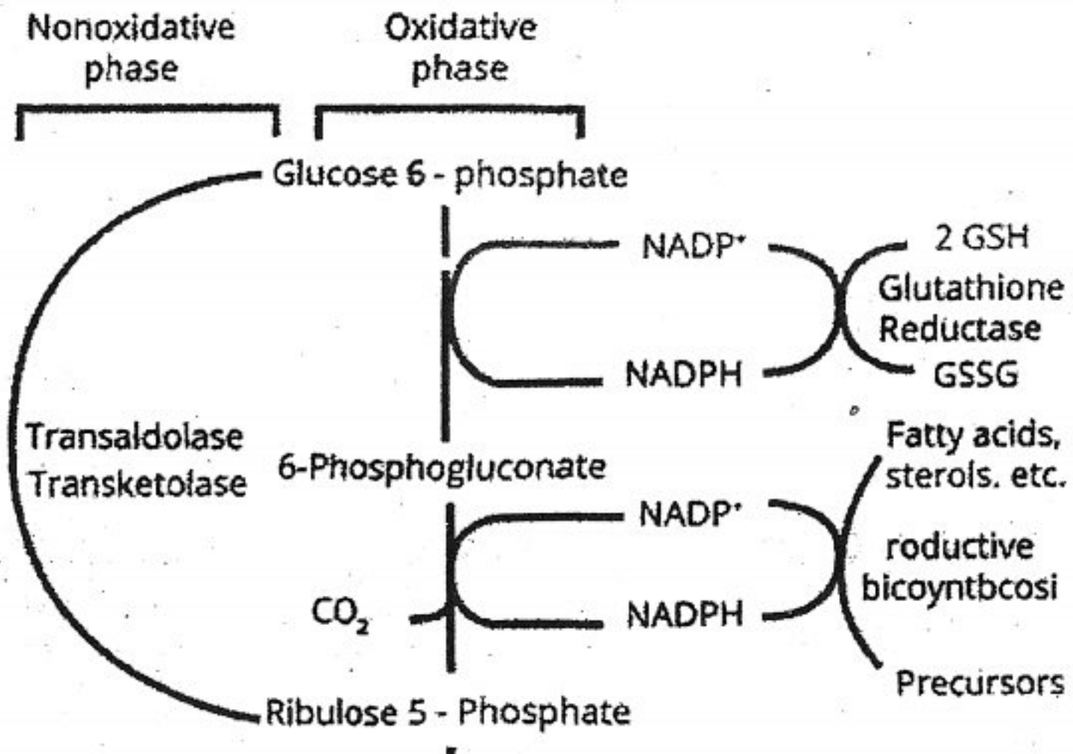
آنزیم فسفریلاز کیناز در سلول‌های عضلات توسط یون کلسیم نیز فعال می‌شود. بلافاصله پس از شروع روند انقباض در عضله، فرآیند گلیکوژنولیز چندین صد برابر افزایش می‌یابد. این امر مربوط به فعال شدن سریع آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز است که ناشی از فعال شدن فسفوریلاز کیناز توسط یون Ca^{2+} می‌باشد. افزایش یون کلسیم همان سیگنالی است که انقباض عضله را نیز آغاز می‌کند. [فسفوریلاز کیناز عضله دارای چهار نوع زیر واحد به نام‌های آلفا، بتا، گاما و دلتا است که در ساختمانی به‌صورت $(\alpha\beta\gamma\delta)_4$ قرار دارند. زیر واحدهای آلفا و بتا دارای ریشه‌های سرین هستند که توسط پروتئین کیناز وابسته به cAMP فسفوریله می‌شوند. زیر واحد دلتا به یون Ca^{2+} متصل شده و همان پروتئین اتصالی Ca^{2+} یعنی کالمودولین(calmodulin) می‌باشد. اتصال یون Ca^{2+} به این کمپلکس جایگاه کاتالیتیکی را که در زیر واحد گاما قرار دارد را فعال می‌کند. بدین علت است که شکل فسفوریله a تنها در حضور یون Ca^{2+} به‌طور کامل فعال می‌شود. به‌این‌ترتیب فعال شدن انقباض عضلانی و روند گلیکوژنولیز توسط پروتئین متصل به کلسیم کالمادولین انجام می‌گیرد و درنتیجه این دو فرآیند به‌طور همزمان انجام می‌شوند.]

۳. [آنزیم پروتئین فسفاتاز-۱ هم فسفوریلاز a و هم فسفوریلاز کیناز a را دفسفوریله و غیرفعال می‌کند. پروتئین فسفاتاز-۱ توسط پروتئینی به نام مهارکننده -۱ مهار می‌شود. این پروتئین تنها هنگامی فعال است که توسط پروتئین کیناز وابسته به cAMP فسفوریله شده باشد.]

تنظیم گلیکوژنز:

آنزیم گلیکوژن سینتاز نیز مانند گلیکوژن فسفوریلاز به دو حالت فسفوریله یا غیر فسفوریله وجود دارد. بااین‌وجود، برخلاف آنزیم گلیکوژن فسفوریلاز، شکل فعال این آنزیم دفسفوریله (گلیکوژن سینتاز a) می‌باشد و در اثر فسفوریله شدن غیرفعال شده به گلیکوژن سینتاز b تبدیل می‌شود. یک پروتئین کیناز وابسته به cAMP تحت تأثیر هورمون‌های مرتبط با cAMP این عمل را انجام می‌دهد و باعث می‌شود که سنتز گلیکوژن همزمان با فعال شدن گلیکوژنولیز مهار شود.

هورمون انسولین ضمن افزایش گلیکوژنز، همزمان باعث مهار گلیکوژنولیز در عضله و کبد نیز می‌گردد. اثر انسولین بر افزایش گلیکوژنز به‌واسطه افزایش غلظت G6P در داخل سلول می‌باشد. G6P دارای جایگاه اتصال آلوستریک در ساختمان آنزیم گلیکوژن سینتاز می‌باشد. با اتصال G6P به این جایگاه شکل فضایی آنزیم به‌گونه‌ای تغییر می‌نماید که سوبسترای مناسب‌تری برای آنزیم پروتئین فسفاتاز-۱ گردیده و بنابراین دفسفوریله و فعال می‌گردد. انسولین موجب غیرفعال شدن فسفوریلاز a می‌گردد زیرا انسولین فعالیت فسفودی استراز را افزایش می‌دهد که این آنزیم باعث هیدرولیز و غیرفعال شدن cAMP گردیده و درنتیجه آنزیم پروتئین فسفاتاز-۱ توسط پروتئین کیناز وابسته به CAMP فسفریله نشده و بنابراین فعال می‌گردد. با افزایش فعالیت پروتئین فسفاتاز-۱ فسفریلاز a و فسفریلاز کیناز دفسفریله شده و غیرفعال می‌گردند.



شکل ۱۰ـ۱: مسیر پنتوز فسفات

مسیر نیز ATP تولید نمی‌گردد. در مسیر اسیداورونیک، طی واکنش‌هایی که در حاشیه ۳-۱ نشان داده شده، گلوکز به گلوکورنات تبدیل می‌شود. در اولین واکنش گلوکز۶- فسفات به گلوکز ۱- فسفات تبدیل شده سپس این ماده به اوریدین دی فسفات گلوکز(UDPGlc) تبدیل مـی‌شود. UDPGlc در کربن شماره ۶ طی یک فرآیند دو مرحله‌ای توسط آنـــزیم UDPGlc دهیدروژناز وابسته به NAD^+ اکسیده مـــی‌شود، محصول واکنش UDP- گـــلوکـورونات (UDP glucuronic acid) می‌باشد.

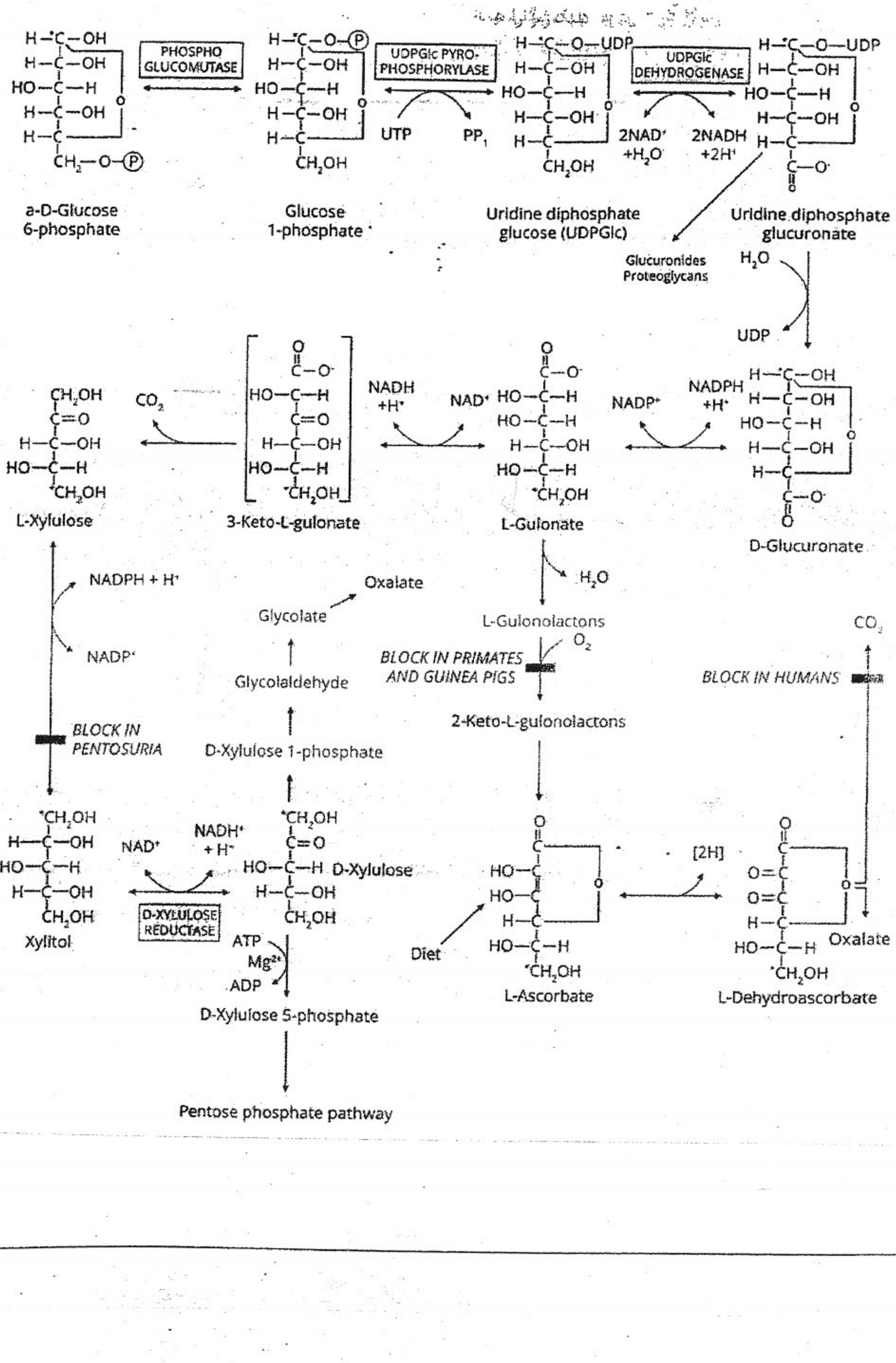
UDP – گلوکورونات شکل «فعال» گلوکورونات می‌باشد که در واکنش‌های مربوط به وارد شدن اسید گلوکورونیک به ساختمان پروتئوگلیکلان‌ها یا در واکنش‌های مربوط به کنژوگه شدن(Conjugation) گلوکورونات با موادی از قبیل هورمون‌های استروئیدی، برخی از داروها یا بیلیروبین مورداستفاده قرار می‌گیرد. با اتصال گلوکورونات به مواد فوق حلالیت آن‌ها در آب افزایش یافته و دفع آن‌ها از طریق ادرار و صفرا افزایش می‌یابد. در حیواناتی که قادر به سنتز ویتامین C هستند، گلوکورونات پیش ساز آسکوربات می‌باشد. همچنین گلوکورونات می‌تواند بـه D – گزیلولوز ۵- فسفات تبدیل شده و در مسیر پنتوز فسفات متابولیزه شود (حاشیه ۳-۱).

۱۰ـ۱ متابولیسم سایر قندها

۱ـ۱۰ـ۱ فروکتوز:

عسل، خرما، انگور و همچنین مواد غذایی غنی از سوکروز مانند شربت‌ها و نوشیدنی‌ها دارای مقادیر بالای فروکتوز هستند. مصرف این مواد غذایی همراه با ورود مقادیر زیادی فروکتوز به داخل ورید باب می‌باشد. در کبد و سایر بافت‌های بدن فروکتوز

حاشیه ۳- ۱. مسیر اسید اورونیک



می‌تواند به‌وسیله آنزیم هگزوکیناز به F6P تبدیل شده و به راه گلیکولیز وارد شود؛ اما یک کیناز اختصاصی بنام فروکتوکیناز(Fructokinase) نیز در کبد، کلیه و روده وجود دارد که فسفوریلاسیون فروکتوز به فروکتوز ۱-فسفات (Fructose 1-phosphate, F1P) را کاتالیز می‌کند. فعالیت این آنزیم تحت تأثیر حالت ناشتا و انسولین کنترل نمی‌شود. F1P تحت اثر آنزیم آلدولاز (Aldolase B)B در کبد به D - گلیسرآلدئید و دی هیدروکسی استن فسفات تجزیه می‌شود. این آنزیم از آلدولاز A موجود در عضلات که نسبت به F6P اختصاصی است متمایز می‌باشد. D - گلیسرآلدئید در حضور آنزیم تریوکیناز (Trio-kinase) فسفریله شده و به D- گلیسر آلدئید ۳- فسفات تبدیل می‌شود که می‌تواند مسیر گلیکولیز را ادامه دهد (شکل ۸-۱) ؛ بنابراین در کبد، اسکلت کربنی فروکتوز پس از تبدیل به ترکیبات سه کربنی فوق به مسیر گلیکولیز وارد می‌شود. درحالی‌که در عضلات فروکتوز به‌صورت F6P وارد این مسیر می‌گردد. بدین ترتیب فروکتوز در کبد سریع‌تر از گلوکز در مسیر گلیکولیز مصرف می‌شود. چون فروکتوز از مراحلی در مسیر گلیکولیز که به‌وسیله آنزیم‌های تنظیم‌کننده آلوستری هگزوکیناز و فسفوفروکتوکیناز کاتالیز می‌شود عبور نمی‌نماید.

از جمله عوارض افزایش مصرف فروکتوز و درنتیجه افزایش کنترل نشده تولید پیروات و استیل کوآ، می‌توان به افزایش سنتز اسیدهای چرب و افزایش ترشح VLDL از کبد اشاره نمود. که می‌تواند منجر به چاقی و تصلب شرایین گردد.

۲ـ۱۰ـ۱ گالاکتوز:

این قند از هیدرولیز لاکتوز موجود در شیر در روده حاصل می‌شود. این قند در کبد به‌راحتی به گلوکز تبدیل می‌شود. آنزیم گالاکتوکیناز (Galactokinase) فسفوریلاسیون گالاکتوز و تبدیل آن به گالاکتوز ۱- فسفات را کاتالیز می‌کند. گالاکتوز ۱- فسفات در واکنش با گلوکز اوریدن دی فسفات (UDPGlc) تولید گالاکتوز اوریدین دی فسفات (UDPGal) و گلوکز-۱- فسفات می‌کند. این واکنش توسط گالاکتوز ۱- فسفات اوریدیل ترانسفراز (Galactose-1-phosphate uridylyltransferase) کاتالیز می‌گردد. UDPGal شکل پرانرژی گالاکتوز برای ورود به واکنشی است که ضمن آن آنزیم UDPGal ۴ اپی مراز (UDP-galactose 4-epimerase) UDPGal را به UDPGlc تبدیل می‌نماید. این اپیمریزاسیون مستلزم یک اکسیداسیون و احیاء کربن ۴ با استفاده از کوآنزیم NAD^+ می‌باشد. بدین ترتیب اسکلت کربنی گالاکتوز به گلوکز تبدیل می‌گردد. G1P می‌تواند در گلیکوژنز مصرف شود و یا وارد مسیر گلیکولیز گردد (شکل ۹ـ۱).

$$\text{Galactose} + \text{ATP} \rightarrow \text{Galactose 1} - \text{P} + \text{ADP}$$

$$\text{Galactose 1-P} + \text{UDP glucose} \rightarrow$$
$$\text{UDP} - \text{galactose} + \text{Glucose} - \text{1–P}$$

$$UDP - galactose \leftrightarrow UDP - glucose$$

گلوکز نیز در موارد مقتضی به‌وسیله آنزیم اپی مراز به‌راحتی به گالاکتور تبدیل می‌شود؛ بنابراین وجود گالاکتوز در مواد غذایی ضروری نیست.

در هنگام سنتز لاکتوز در غدد شیر ساز UDPGal با گلوکز ترکیب شده تا تولید لاکتوز گردد، این واکنش توسط لاکتوز سنتاز (Lactose synthase) کاتالیز می‌شود.

$$UDP - galactose + Glucose \longrightarrow Lactose + UDP$$

همچنین گالاکتوز در سنتز گلیکولیپیدها (سربروزیدها)، پروتئوگلیکان‌ها و گلیکوپروتئین‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد.

۳ـ۱۰ـ۱ مانوز:

مانوز توسط هگزوکیناز به مانوز۶- فسفات تبدیل شده و توسط آنزیم فسفومانوز ایزومراز (Phosphomannose isomerase) به فروکتوز ۶ فسفات تبدیل شده تا وارد مسیر گلیکولیز گردد (شکل ۱۱-۱).

۱۱ـ۱ اختلالات مربوط به متابولیسم کربوهیدرات‌ها

۱. **فاویسم(G6PD deficiency (Favism**: به علت کمبود گلوکز ۶- فسفات دهیدروژناز در مسیر پنتوز فسفات عارض گردیده و درنتیجه همراه با کاهش تولید NADPH در سلول‌ها است. مبتلایان به این بیماری ارثی (وابسته به جنس و مغلوب) در هنگام تماس با مواد اکسیدانی نظیر داروی ضد مالاریا - آسپیرین و سولفونامیدها و یا در هنگام مصرف باقلا دچار همولیز گلبول‌های قرمز (کم‌خونی همولیتیک) می‌گردند. NADPH در گلبول‌های قرمز نقش مهمی در جلوگیری از پراکسیداسیون اسیدهای چرب و درنتیجه پایداری غشاء گلبول‌های قرمز دارد. لذا کاهش آن باعث اکسیداسیون اسیدهای چرب غشاء گلبول‌های قرمز و همولیز آن‌ها می‌گردد.

۲. **پنتوزوری (Pentosurea)**: دو علت دارد و معمولاً بدون عوارض بد است.

الف- افزایش مقدار آرابینوز در ادرار که مربوط به سیستم گوارش است و در اثر خوردن میوه یا آب‌میوه ایجاد می‌شود.

ب- پنتوزوری اصلی (Essential pentosuria): که یک بیماری ارثی نادر بوده و همراه با دفع مقدار قابل‌توجهی L- گزیلولوز (L-xylulose) از ادرار می‌باشد. علت بیماری عدم وجود آنزیم موردنیاز برای احیاء L- گزیلولوز به گزیلیتول (Xylytol) است. (شکل حاشیه ۱-۳).

۳. **فروکتوزوری اصلی**

(Essential fructosurea) : کمبود فروکتوکیناز کبدی سبب فروکتوزوری اصلی می‌شود. این ناهنجاری ارثی بدون عارضه می‌باشد.

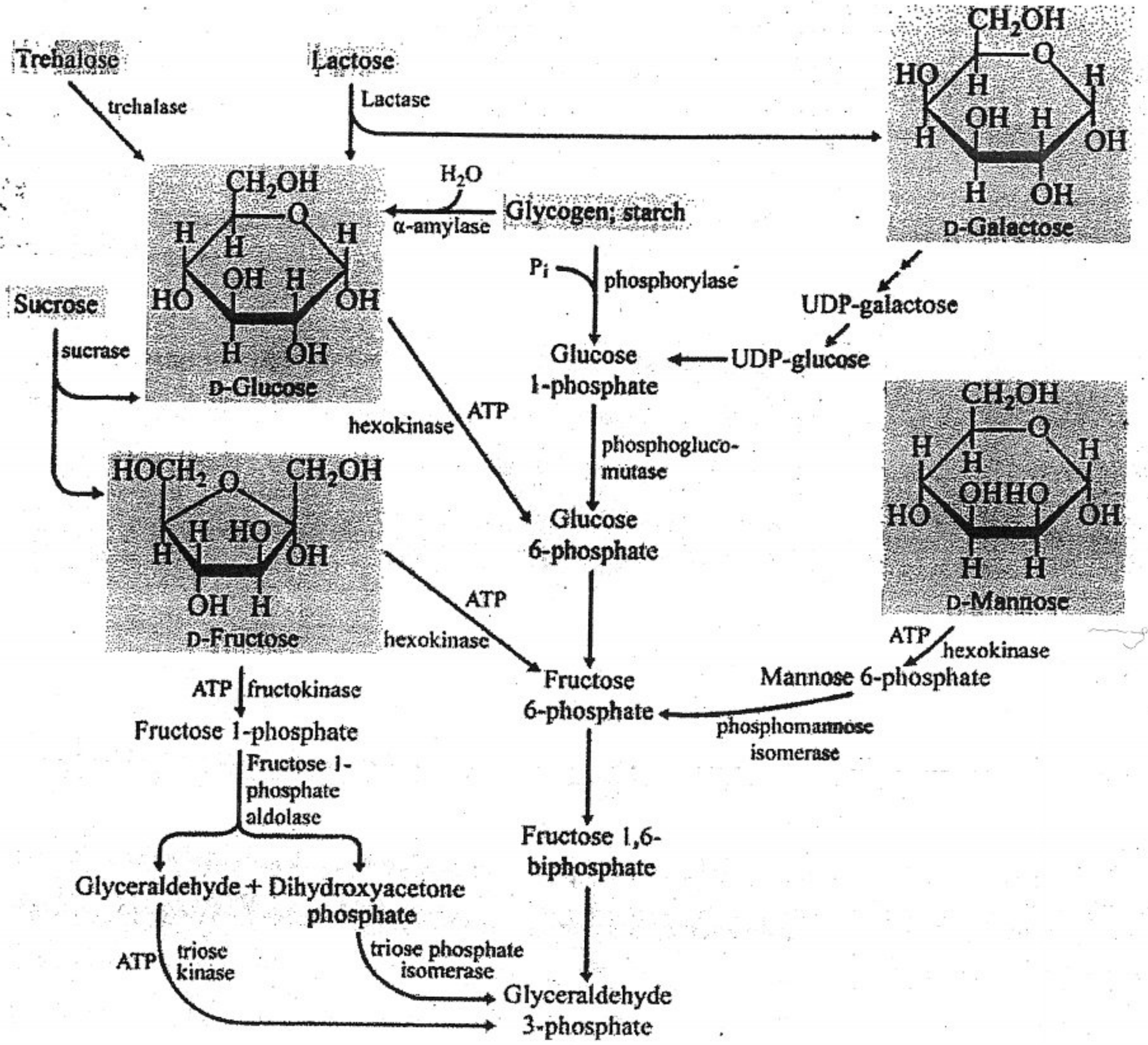
۴. عدم تحمل فروکتوز

(Fructose intolerance) هیپوگلیسمی شدید، یرقان، خونریزی، بزرگی کبد، افزایش اسیداوریک خون و نارسائی کلیوی از نشانه‌های عدم تحمل فروکتوز می‌باشند. کمبود آنزیم فروکتوز ۱- فسفات آلدولاز کبدی (Aldolase B) از علل بروز این بیماری می باشد. در چنین موردی، فروکتوز وارد شده به کبد سوبسترای فروکتوکیناز واقع می‌شود اما فروکتوز ۱- فسفات حاصله راه مؤثری برای متابولیسم نداشته و در سلول انباشته می‌گردد. به همین علت سلول کبد با کمبود فسفات معدنی آزاد (Pi) و در پی آن ATP مواجه می‌گردد؛ زیرا مولکول‌های Pi در ساختار فروکتوز ۱- فسفات محبوس گردیده و برای سنتز ATP در دسترس زنجیره تنفسی نخواهند بود. کمبود ATP باعث اختلال در فعالیت پروتئین‌های وابسته به آن در سلول می‌شود. در این مورد مثلاً می‌توان از پروتئین‌های ویژه نقل‌وانتقال یون‌ها که در غشاءهای سلولی قرار دارند نام برد. نارسایی در عملکرد این پروتئین‌ها باعث اختلال در وضعیت اسمزی طبیعی سلول کبد و پاره شدن غشاء آن می‌گردد. بایستی به خاطر داشت که اصولاً ظرفیت کبد در تبدیل فروکتوز به فروکتوز ۱- فسفات بیش از توانایی کبد در متابولیزه کردن فروکتوز ۱- فسفات می‌باشد. درنتیجه با ورود بیش از حد فروکتوز به کبد، سلول‌های این بافت به ترتیبی که ذکر شد با کمبود نسبی Pi و ATP مواجه گردیده و آسیب خواهند دید. هیپوگلیسمی به دلیل تجمع F1P در کبد ایجاد می‌شود؛ زیرا F1P فعالیت گلیکوژن فسفوریلاز کبدی را به طریق آلوستری مهار می‌نماید.

۵. گالاکتوزمی (Galactosemia) نتیجه نقص ارثی در آنزیم‌های گالاکتوکیناز، اوریدیل ترانسفراز و یا UDPGal ۴ اپی مراز می‌باشد که کمبود گالاکتوز ۱- فسفات اوریدیل ترانسفراز شایع‌تر است. میزان گالاکتوز در خون و بافت‌های محیطی افزایش می‌یابد. در این بیماری غلظت گالاکتوز در خون و چشم پس از احیاء به گالاکتیتول (Galactitol) (توسط آلدوز ردوکتاز) کاهش می‌یابد. تجمع گالاکتیتول در چشم سبب آب‌مروارید می‌گردد. همچنین با تجمع گالاکتوز ۱- فسفات در کبد فسفات معدنی کبد تخلیه گردیده و نهایتاً نارسایی کبدی و زوال عقلی حاصل می‌شود. با مشاهده آب‌مروارید چشمی در کودکان مبتلا بایستی بلافاصله مصرف گالاکتوز توسط آن‌ها را قطع نمود. افراد مبتلا می‌توانند گالاکتوز موردنیاز خود را از طریق اپیمریزاسیون UDPGlc تولید نمایند.

۶. آب‌مروارید (Cataracts) در دیابت قندی و در نقص‌های متابولیکی فروکتوز، مقدار فروکتوز و سوربیتول در عدسی چشم بالا می‌رود و منجر به تولید آب‌مروارید می‌گردد. افزایش گلوکز خون در افراد دیابتی باعث تبدیل گلوکز به فروکتوز در بافت‌های محیطی نظیر عدسی چشم، اعصاب محیطی و گلومرهای کلیوی می‌گردد.

بعلاوه گلوکز و فروکتوز توسط آلدوز ردوکتاز (Aldose reductase) به سوربیتول



شکل ۱۱ـ۱: ورود گلیکوژن، نشاسته، دی ساکاریدها و هگزوزها به مسیر گلیکولیز.

احیا می‌شود که در عدسی چشم محبوس شده و سبب آسیب اسموتیک می‌شود.

۷. بیماری‌های مربوط به ذخیره گلیکوژن

(Glycogen storage diseases) و یا گلیکوژنوز (Glycogenosis) گروهی از ناهنجاری‌های ارثی هستند که با رسوب مقادیر یا انواع غیرطبیعی گلیکوژن در بافت‌ها مشخص می‌گردند. انواع گلیکوژنوزها در حاشیه ۴-۱ خلاصه شده‌اند.

حاشیه ۴-۱ بیماری‌های ذخیره گلیکوژن

Glycogenosis	Name	Cause of Disorder	Characteristics
Type I	Von Gierke's disease	Deficiency of glucose-6-phosphatase	Liver cells and renal tubule cells loaded with glycogen. Hypoglycemia, Lacticacidemia, ketosis, hyperlipemia.
Type II	Pompe's disease	Deficiency of lysosomal α-1→4 - and 1→6-glucosidase (acid maltase)	Fatal, accumulation of glycogen in lysosomes, heart failure.
Type III	Limit dextrinosis, Forbes'or Cori's disease	Absence of debranching enzyme	Accumulation of a characteristic branched polysaccharide.
Type IV	Amylopectinosis, Andersen's disease	Absence of branching enzyme	Accumulation of a polysaccharide having few branch points. Death due to cardiac or liver failure in first year of life.
Type V	Myophosphorylase deficiency, McArdle's syndrome	Absence of muscle phosphorylase	Diminished exercise tolerance; muscles have abnormally high glycogen content (2.5-4.1%). Little or no lactate in blood after exercise.
Type VI	Hers' disease	Deficiency of liver phosphorylase	High glycogen content in liver, tendency toward hypoglycemia.
Type VII	Tarui's disease	Deficiency of phosphofructokinase in muscle and erythrocytes	As for type V but also possibility of hemolytic anemia.
Type VIII		Deficiency of liver phosphorylase kinase	As for type VI.

سوالات نمونه فصل ۱

۱- کدام جمله در مورد متابولیسم پیروات درست است:
الف – کمپلکس آنزیمی پیروات دهیدروژناز فقط نیاز به ۲ کوفاکتور دارد.
ب – یونهای آرسنات یا جیوه منجر به بروز اسیدوز لاکتیک می گردد.
ج – پیروات در سیتوپلاسم به استیل کوآ تبدیل می گردد.
د – آنزیم استیل کوآ سنتتاز منجر به تولید استیل کوآ از پیروات می گردد.

۲- بیماری فروکتوزوری به علت کمبود کدام آنزیم رخ می دهد:
الف – آلدولاز B ب – فروکتوکیناز کبد
ج – آلدولاز A د – آلدوز ردوکتاز

۳- کدام جمله در مورد خصوصیات مسیر پنتوز فسفات صحیح نیست:
الف – تولید CO_2 می کند. ب – تولید ATP می نماید.
ج – تولید ریبوز ۵- فسفات می کند. د – در گلبولهای قرمز در تولید NADPH ضروری است.

۴- در بیماری عدم تحمل لاکتوز کمبود چه آنزیمی وجود دارد؟
الف – لاکتاز ب – گالاکتوکیناز
ج – اوریدیل ترانسفراز د- UDPGal-4 اپی مراز

۵- چه تعداد ATP از تبدیل فسفوانول پیروات به آلفا کتوگلوتارات در چرخه گلیکولیز و میتوکندری تولید می شود؟
الف – 5 ATP ب- 6 ATP ج – 7 ATP د – 8 ATP

۶- کدام جمله درمورد گلوکونئوژنز صحیح است؟
الف – کاملا" عکس مسیر گلیکولیز می باشد.
ب – به ازای تولید هر مولکول گلوکز 6ATP و 2GTP مصرف می شود.
ج- در افزایش اسید لاکتیک خون ضروری است.
د – فروکتوز۲ و ۶ بیس فسفات باعث مهار این مسیر می گردد.

۷- آنزیم گلوکوکیناز :
الف – دارای Km بالاتر از غلظت نرمال گلوکز خون است.
ب – در عضلات وجود دارد.
ج – بوسیله گلوکز ۶ فسفات مهار می شود.
د – دارای فعالیت فسفاتاز می باشد.

۸- کدام جمله در مورد متابولیسم پیروات درست است:
الف – کمپلکس آنزیمی پیروات دهیدروژناز فقط نیاز به ۲ کوفاکتور دارد.
ب – یونهای آرسنیت یا جیوه منجر به بروز اسیدوز لاکتیک می گردد.
ج – پیروات در سیتوپلاسم به استیل کوآ تبدیل می گردد.
د – آنزیم استیل کوآ سنتتاز منجر به تولید استیل کوآ از پیروات می گردد.

۹- تنظیم متابولیسم گلیکوژن در عضله بوسیله فسفوریلاز کینازها وابسته به غلظت ..... میباشد.
الف – cAMP ب – Ca^{2+} ج – cAMP و Ca^{2+} د – G6P

۱۰- کمبود ارثی آنزیم فسفوریلاز کبدی در Hers' disease چه علایم بالینی ایجاد می نماید.
الف – کم خونی همولیتیک ب – عدم وجود اسید لاکتیک در خون
ج – تجمع گلیکوژن در قلب و نارسایی قلبی د – کاهش قند خون بیمار

پاسخنامه

۱- ب
۲- ب
۳- ب
۴- الف
۵- ج
۶- د
۷- الف
۸- ب
۹- ج
۱۰- د

۲

فصل دوم:

متابولیسم چربی‌ها

دکتر علی اکبر اوجی

پس از مطالعه این فصل انتظار می‌رود بتوانید:

- ساختار بیوشیمیایی و نقش میسل‌های مختلط در هضم و جذب مواد چربی را توضیح دهید.
- واکنش آنزیم‌های پانکراسی لیپاز، فسفولیپاز A_2 و کلسترول استراز را بنویسید.
- نواسترسازی را تعریف کنید.
- واکنش‌های بتا اکسیداسیون و چگونگی تنظیم کاتابولیسم اسیدهای چرب را توضیح دهید.
- کلیات آلفا اکسیداسیون و امگا اکسیداسیون را شرح دهید.
- مقدار کالری حاصل از سوختن هر گرم اسید چرب را محاسبه کنید.
- متیل مالونیک اسیدمیا را شرح دهید.
- نقص ارثی سیستم آنزیمی اسیل- کوآ دهیدروژناز و علل بروز عوارض آن را توضیح دهید.
- متابولیسم اجسام ستنی و حالت کتواسیدوز را شرح دهید.
- تأمین مصالح اولیه و چگونگی کنترل بیوسنتز اسیدهای چرب را توضیح دهید.
- تبدیل اسیدهای چرب غیراشباع هم‌خانواده به یکدیگر را توضیح دهید.
- تأمین مصالح اولیه و چگونگی کنترل بیوسنتز کلسترول را توضیح دهید.
- املاح صفراوی اولیه و ثانویه را شناخته و چگونگی کنترل سنتز آن‌ها را توضیح دهید.
- عملکرد آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و لیپواکسیژناز در بیوسنتز ایکوزانوئیدها را شناخته و اثر داروهای ضدالتهاب استروئیدی و آسپرین را بر متابولیسم ایکوزانویید ها شرح دهید

۱-۲ هضم لیپیدها (Digestion of lipids)

بخش عمده چربی غذا از تری‌گلیسریدها و مابقی از چربی‌هایی مانند فسفولیپیدها، ویتامین‌های محلول در چربی و کلسترول تشکیل می‌گردد. کلسترول موجود در غذا به دو شکل کلسترول آزاد و استر کلسترول با اسیدهای چرب وجود دارد. با وجود یک آنزیم لیپاز در دهان و معده (Gastric lipase) هضم چربی‌ها در این دو اندام بخصوص در افراد بزرگسال بسیار ابتدایی است. درواقع بخش اصلی هضم لیپیدها در روده و تحت تأثیر دو عامل صفرا و آنزیم‌های پانکراس انجام می‌شود.

۱-۱-۲ صفرا (Bile):

یک ویژگی مهم صفرا دارا بودن ترکیبات آمفی پاتیک است. در صفرا سه ترکیب آمفی پاتیک لسیتین (فسفاتیدیل کولین)، کلسترول و املاح صفراوی در یک مجموعه‌های سکه مانند گرد هم جمع شده و ذرات میسل‌های مختلط (Mixed micells) را تشکیل می‌دهند. در این ذرات، فسفولیپیدها و کلسترول ساختارهای دولایه (Bilayer) تشکیل داده و بدنه اصلی سکه را تشکیل می‌دهند. سپس املاح صفراوی از سمت غیر قطبی خود دور سکه را پوشش داده و از سمت قطبی خود با آب محیط اطراف تعامل ایجاد می‌نمایند. عوامل هیدروکسیل و کربوکسیل در سمت قطبی املاح صفراوی قرار دارند. مواد چربی موجود در معده به شکل یک امولسیون ناپایدار چربی به دوازدهه وارد می‌شوند. املاح صفراوی از میسل‌های مختلف به سطح ذرات امولسیون چربی منتقل می‌شوند سپس از سمت غیر قطبی خود سطح هر قطره ریز امولسیون چربی را پوشش داده، با مواد چربی در قطره تعامل ایجاد نموده و از سمت قطبی با آب محیط اطراف

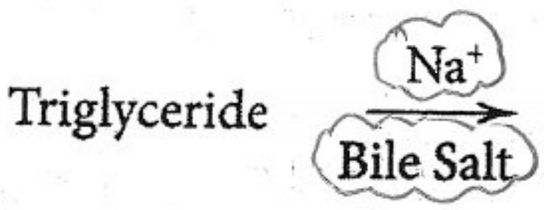
شکل ۱-۲: ساختمان شیمیایی املاح صفراوی و میسل‌های مختلط

مواجه می‌شوند. در نتیجه سطوح ذرات امولسیون از بارهای منفی مربوط به عوامل کربوکسیل پوشیده می‌شوند. بدین ترتیب املاح صفراوی از به هم پیوستن قطرات ریز امولسیون چربی ممانعت نموده و درنهایت موجبات پایداری امولسیون چربی را فراهم می‌نمایند.

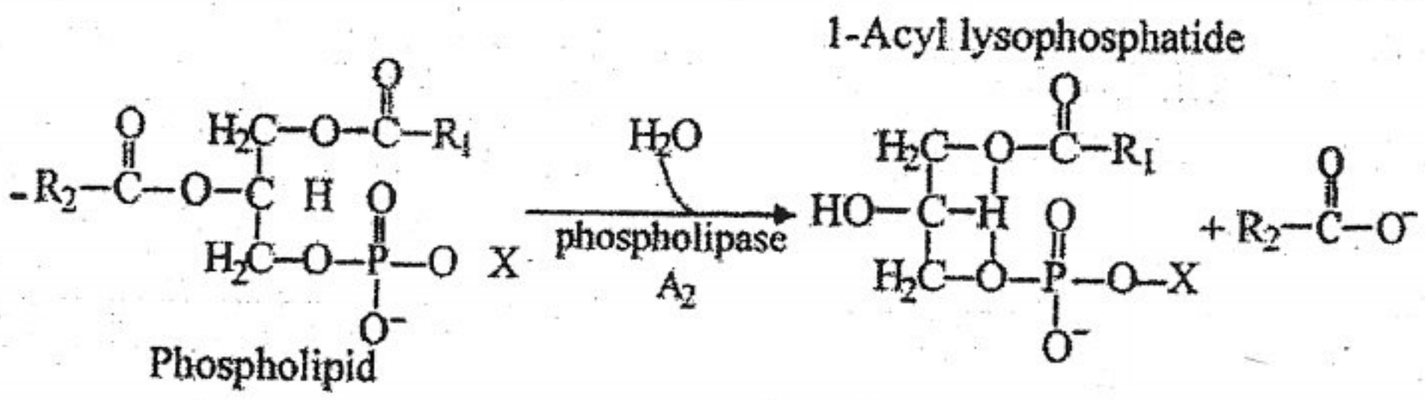
علاوه بر املاح صفراوی ترکیبات آمفی پاتیک حاصل از هضم مواد چربی قبلی مانند نمک‌های اسیدهای چرب، مونوگلیسریدها و لیزوفسفولیپیدها نیز نقش تعیین‌کننده‌ای در پایداری امولسیون چربی ایفا می‌نمایند، به‌طوری‌که با حذف صفرا از روده اختلال جدی در امر پایداری امولسیون چربی ایجاد نمی‌گردد.

۲ـ۱ـ۲ آنزیم‌های پانکراس:

① لیپاز پانکراس(Pancreatic lipase) به‌صورت پرولیپاز (Prolipase) غیرفعال از پانکراس به دوازدهه ترشح‌شده و در محیط روده با یک کوفاکتور پروتئینی به نام کولیپاز (Colipase) ایجاد کمپلکس لیپاز-کولیپاز فعال را می‌نماید. آنزیم لیپاز پانکراس به کمک کولیپاز در سطح قطرات امولسیون چربی لنگر انداخته و واکنش زیر را بر تری‌گلیسریدهای موجود در قطرات امولسیون چربی کاتالیز می‌نماید.

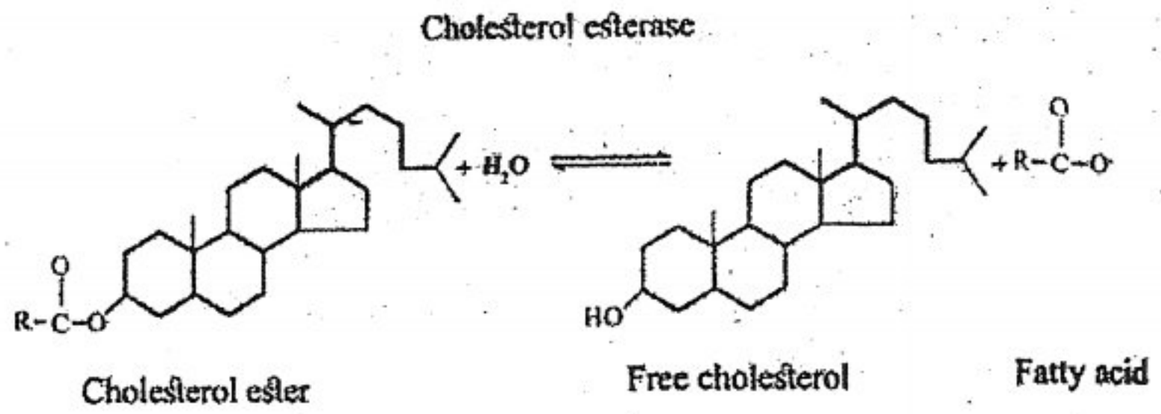


② آنزیم فسفولیپاز A_2 پانکراس (Pancreatic phospholipase A_2) نیز به‌صورت یک پیش آنزیم غیرفعال از پانکراس ترشح‌شده و در محیط روده فعال می‌گردد. این آنزیم واکنش هیدرولیز پیوند استری بین اسید چرب و کربن شماره ۲ گلیسرول در مولکول فسفولیپیدها را کاتالیز می‌نماید. با جدا شدن یک مولکول اسید چرب، تعادل بیشتری بین بخش هیدروفوب و هیدروفیل مولکول فسفولیپید برقرار شده و درنتیجه خاصیت آمفی پاتیک فسفولیپیدهای حاصل افزایش می یابد به‌نحوی‌که می‌توانند غشاء سلول‌ها را حل و متلاشی نمایند. به همین دلیل به این دسته از فسفولیپیدها، لیزوفسفو لیپید(Lysophospholipid) گفته می‌شود.



Lecithine ⟶ 1-acyl lysolecithine + Fatty acid

③ آنزیم کلسترول استراز پانکراس(Pancreatic cholesteryl esterase) پیوند استری بین عامل هیدروکسیل موجود در کربن شماره ۳ کلسترول و عامل کربوکسیل اسید چرب را هیدرولیز می‌نماید.



تحت تأثیر آنزیم‌های فوق مولکول‌های بزرگ چربی به مولکول‌های آمفی پاتیک کوچک‌تری مانند اسیدهای چرب (که در pH خنثی تا کمی قلیایی روده به‌صورت نمک هستند) و نیز مولکول‌هایی نظیر مونوگلیسریدها، لیزوفسفو لیپیدها و کلسترول آزاد تبدیل می‌شوند. این ترکیبات به انضمام ویتامین‌های محلول در چربی به میسل‌های مختلط (وارد شده از صفرا به روده) منتقل می‌گردند. مولکول‌های لیپیدی حاصل از مواد چربی و ویتامین‌های محلول در چربی دارای ضریب پخش کمی در محلول‌های آبی هستند منتهی با الحاق به مسیل‌های مختلط که دارای ضریب پخش زیادتری هستند، تماس مولکول‌های حاصل از هضم مواد چربی با جداره سلول‌های روده افزایش یافته و نهایتاً جذب این سلول‌ها می‌گردند.

وارد نشدن ترشحات پانکراس به روده و یا اختلال در عملکرد آنزیم‌های لیپاز پانکراس باعث وجود چربی هضم نشده در مدفوع یا استئاتوره (Steatorrhea) می‌شود. در بیماری ارثی فیبروزسیتیک (Cystic fibrosis) ترشحات غدد برون ریز مانند پانکراس و ریه به حد کافی آبکی نبوده و سفت‌تر از حد معمول می‌باشند. این امر باعث عدم ترشح کافی آنزیم‌های پانکراس (از جمله لیپاز) به روده و بروز استئاتوره می‌گردد. همچنین سفت بودن ترشحات مخاطی ریه و اختلال در خارج شدن آن‌ها از ریه منجر به بروز عفونت‌های تنفسی در این بیماری می‌شود. نقص ارثی در پروتیئن کولیپاز (Colipase deficiency) نیز باعث استئاتوره می‌گردد.

۲-۲ جذب لیپیدها (Absorption of Lipids):

جذب اسیدهای چرب، لیزوفسفولیپیدها و مونوگلیسیریدها تقریباً کامل می‌باشد اما جذب استرول‌ها کامل نبوده و تنها حدود ۴۰-۳۰ درصد کلسترول جذب سلول‌های روده می‌گردد. جذب ویتامین‌های محلول در چربی وابسته به وجود املاح صفراوی و میسل‌های مختلط می‌باشد. به همین دلیل حذف صفرا از روده می‌تواند منجر به بروز علائم کمبود ویتامین‌های محلول در چربی گردد. سرنوشت اسیدهای چرب وارد شده به سلول‌های مخاطی روده بستگی به طول زنجیره آن‌ها دارد.

اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره (کمتر از ده اتم کربن) پس از عبور از غشاء سلول‌های روده توسط آلبومین موجود در خون سیاهرگ باب حمل شده و نهایتاً به سلول‌های کبد راه می‌یابند. امّا اسیدهای چرب بلند زنجیره در سلول‌های روده وارد یک روند بیوشیمیایی بنام نواسترسازی (Re-esterification) می‌گردند. در این جریان مولکول‌های اسید چرب با مونوگلیسریدها، کلسترول آزاد و لیزوفسفولیپیدهای جذب‌شده مجدداً پیوند استری برقرار نموده و تولید تری‌گلیسرید، استر کلسترول و فسفولیپید

می‌نمایند. مولکول‌های اسید چرب برای ورود به این جریان نو استرسازی با یک مولکول کوآنزیم آ پیوند تیواستر برقرار نموده و به ترکیب پرانرژی اسیل اسید چرب- کوآ (Fattyacyl – CoA) تبدیل می‌گردند. مولکول اسید چرب در شکل فعال و پرانرژی اسیل کوآ آماده انجام واکنش‌های نواسترسازی می‌گردد.

$$\text{Fatty acid + CoA} \xrightarrow{\text{ATP} \rightarrow \text{AMP + PPi}} \text{fattyacyl-CoA}$$

$$\text{Fattyacyl-CoA + MG} \longrightarrow \text{DG + CoA-SH}$$

$$\text{Fattyacyl-CoA + DG} \longrightarrow \text{TG + CoA-SH}$$

(گلیسیرید: G، تری: T، دی: D و مونو: M)

به همین ترتیب کلسترول آزاد و لیزوفسفولیپیدها نیز در سلول‌های روده با شکل فعال اسیدهای چرب (Fattyacyl-CoA) ترکیب شده و تبدیل به استر کلسترول و فسفولیپیدها می‌شوند. مولکول‌های حاصل از جریان نواسترسازی مانند تری گلیسیریدها، استر کلسترول در آب نامحلول بوده و در صورت ورود به جریان خون تولید قطرات بزرگ روغنی نموده و موجب عوارض سوء و انسداد عروق (Fat embolism) می‌گردند. لذا این چربی‌ها به همراه ویتامین‌های محلول در چربی در سلول‌های مخاطی روده به‌صورت ذرات لیپوپروتئینی بنام شیلومیکرون بسته‌بندی‌شده و آماده ورود و حرکت در جریان خون می‌گردند.

۳ـ۲ ذخیره‌سازی اسید چرب در بافت چربی و لیپولیز : (Fat storage and Lipolysis)

ذخیره‌سازی اسید چرب در سلول‌های چربی در حالت سیری افزایش می یابد. در این حالت افزایش غلظت پلاسمایی انسولین باعث افزایش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز می‌شود. این آنزیم تری گلیسرید های موجود در شیلومیکرون و برخی لیپوپروتیین های دیگر را به منو گلیسرید و دو مولکول اسید چرب تجزیه می نماید. بخش عمده اسیدهای چرب حاصل به سلول‌های چربی وارد شده و به‌صورت تری‌گلیسرید ذخیره می‌گردند.

لیپولیز (Lipolysis) و یا رهاسازی اسید چرب از بافت چربی(Fat mobilization) تحت تأثیر گلوکاگون ترشح‌شده در حالت گرسنگی و یا اپی‌نفرین و کورتیزول ترشح‌شده در شرایط استرس، افزایش میابد. با پیام این هورمون‌ها، آنزیم‌های لیپاز موجود در سلول‌های چربی، از جمله لیپاز حساس به هورمون (Hormone sensitive lipase) فعال می‌گردند. حاصل عمل این آنزیم‌ها نهایتاً هیدرولیز تری‌گلیسریدهای بافت چربی به اسید چرب و گلیسرول می‌باشد. اسیدهای چرب حاصل به جریان خون وارد گشته و توسط آلبومین در جریان خون حمل شده و به‌تدریج از آلبومین جدا و به بافت‌هایی نظیر عضلات اسکلتی، قلب، کلیه و کبد وارد می‌شوند تا به‌عنوان منبع سوخت مورداستفاده این بافت‌ها قرار گیرند. گلیسرول حاصل به جریان خون وارد شده و در کبد به جریان گلیکولیز ملحق می‌گردد.

۴ـ۲ کاتابولیسم اسیدهای چرب:

در جریان کاتابولیسم اسیدهای چرب اسکلت کربنی آن‌ها به CO_2 و H_2O تبدیل می‌گردد. الکترون‌های حاصل از اکسایش اتم‌های کربن اسیدهای چرب در مولکول‌های $FADH_2$ و NADH ظاهر شده و پس از انتقال به زنجیره تنفسی صرف احیاء اکسیژن تنفسی به H_2O می‌گردند. اتم‌های کربن در اسیدهای چرب عمدتاً به‌صورت متیلن (CH_2 با عدد اکسایش ۲ -) بوده و در مقایسه با اتم‌های کربن در قند (عمدتا به‌صورت HCOH با عدد اکسایش صفر) و اسیدهای آمینه، احیاتر می‌باشند. لذا از اکسایش اتم‌های کربن اسیدهای چرب به CO_2 (با عدد اکسایش ۴ +) تعداد بیشتری الکترون به زنجیره تنفسی منتقل شده و مقدار بیشتری انرژی حاصل می‌گردد. بدین ترتیب از اکسیداسیون هر گرم اسید چرب در بدن مقدار حدود ۹/۱ کیلو کالری انرژی آزاد می‌گردد(تمرین ۱-۱۰-۲) در حالی‌که این مقدار برای گلوکز حدود ۴/۲ کیلو کالری است. بخشی از انرژی آزاده شده از اکسیداسیون اسیدهای چرب به صورت پیوند پر انرژی فسفات ذخیره می‌شود اما بخش بیشتری به صورت حرارت آزاد شده و باعث گرمی بدن می‌گردد. اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره به‌راحتی از غشاء میتوکندری عبور می‌نمایند، اما اسیدهای چرب بلند زنجیر (C۱۲ - C۱۸) دارای این توانایی نبوده و بنابراین در یک روند سه مرحله‌ای به میتوکندری وارد می‌شوند. در اولین واکنش این روند که در سیتوزول انجام می‌شود اسیدهای چرب بلند زنجیره به مولکول پرانرژی Fatty acyl-CoA تبدیل شده و اصطلاحاً فعال می‌شوند.

$$\text{Fatty acid} + \text{CoA} + \text{ATP} \rightarrow \text{Fatty acyl-CoA} + \text{AMP} + \text{PPi}$$

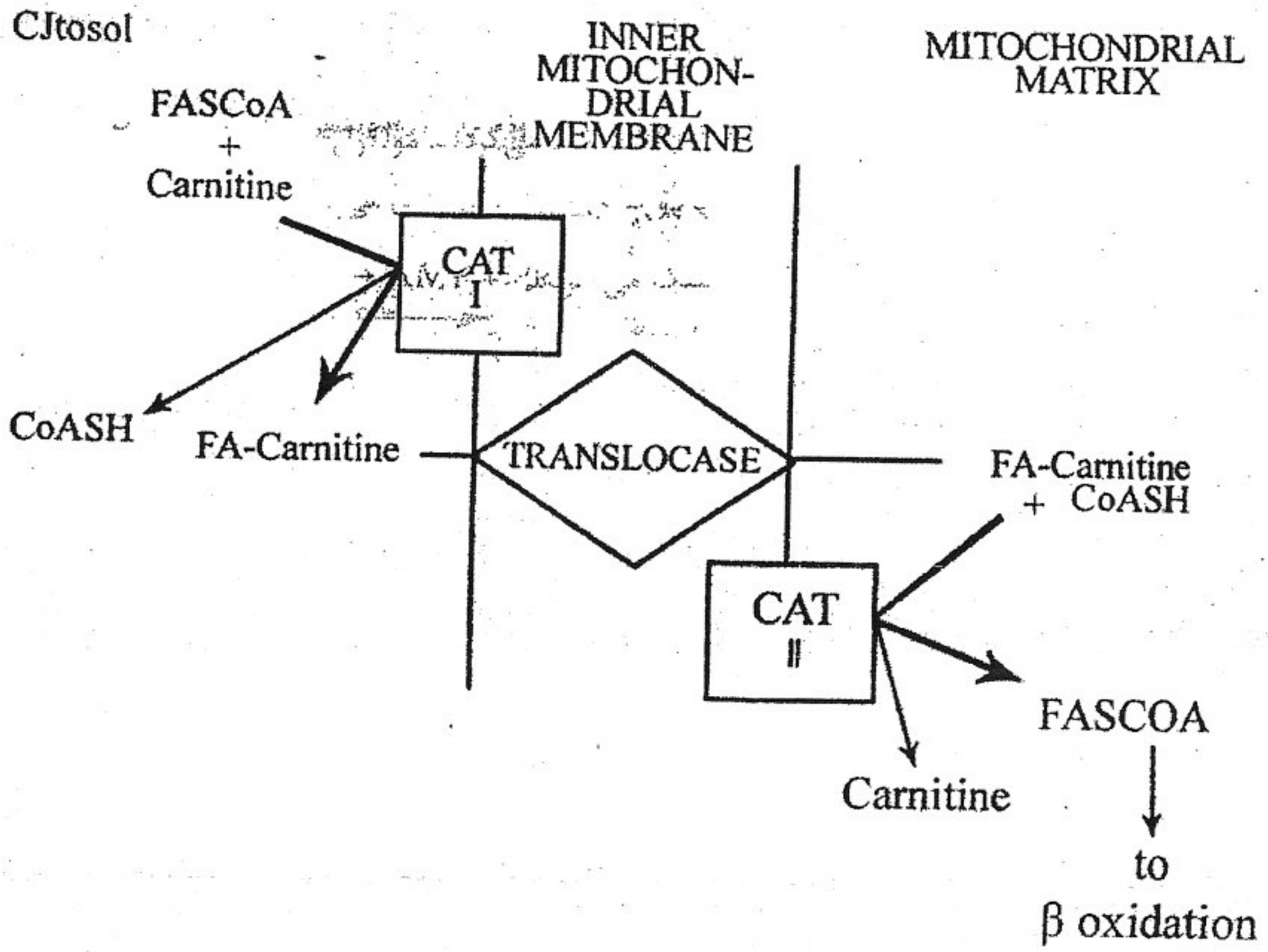
در واکنش دوم یک مولکول کارنیتین(L-carnitine) جایگزین کوآنزیم A شده و Fatty acylcarnitine حاصل می‌گردد. کارنیتین در بدن ازلیزین و سرین ساخته می‌شود.

$$\text{Fatty acyl-CoA} + \text{Carnitine} \rightarrow \text{Fatty acylcarnitine} + \text{CoA-SH}$$

واکنش فوق توسط آنزیم کارنیتین اسیل ترانسفراز (Car-nitine acyltransferase I,CAT) و یا کارنیتین پالمیتوییل ترانسفراز کاتالیز می‌گردد. این آنزیم در غشاء خارجی میتوکندری قرار داشته و یک آنزیم تنظیم شونده است. اسیل کارنیتین حاصل توسط یک سیستم پروتئینی انتقال که در غشاء داخلی میتوکندری قرار دارد از غشاء داخلی میتوکندری گذشته و در واکنش سوم سوبسترای ایزوآنزیم نوع II کارنیتین اسیل ترانسفراز واقع شده و درون میتوکندری مجدداً به Fatty acyl-CoA تبدیل می‌گردد (شکل ۲-۲).

$$\text{Fatty acylcarnitine} + \text{CoA-SH} \rightarrow \text{Fatty acyl- CoA} + \text{Carnitine}$$

موارد نقص ارثی در سطح هرکدام از دو ایزوآنزیم CAT گزارش شده است. افراد مبتلا برحسب نوع موتاسیون، دچار عوارض مختلفی از جمله ضعف در هنگام



شکل ۲-۲: انتقال اسید چرب فعال شده از سیتوزول به درون میتوکندری

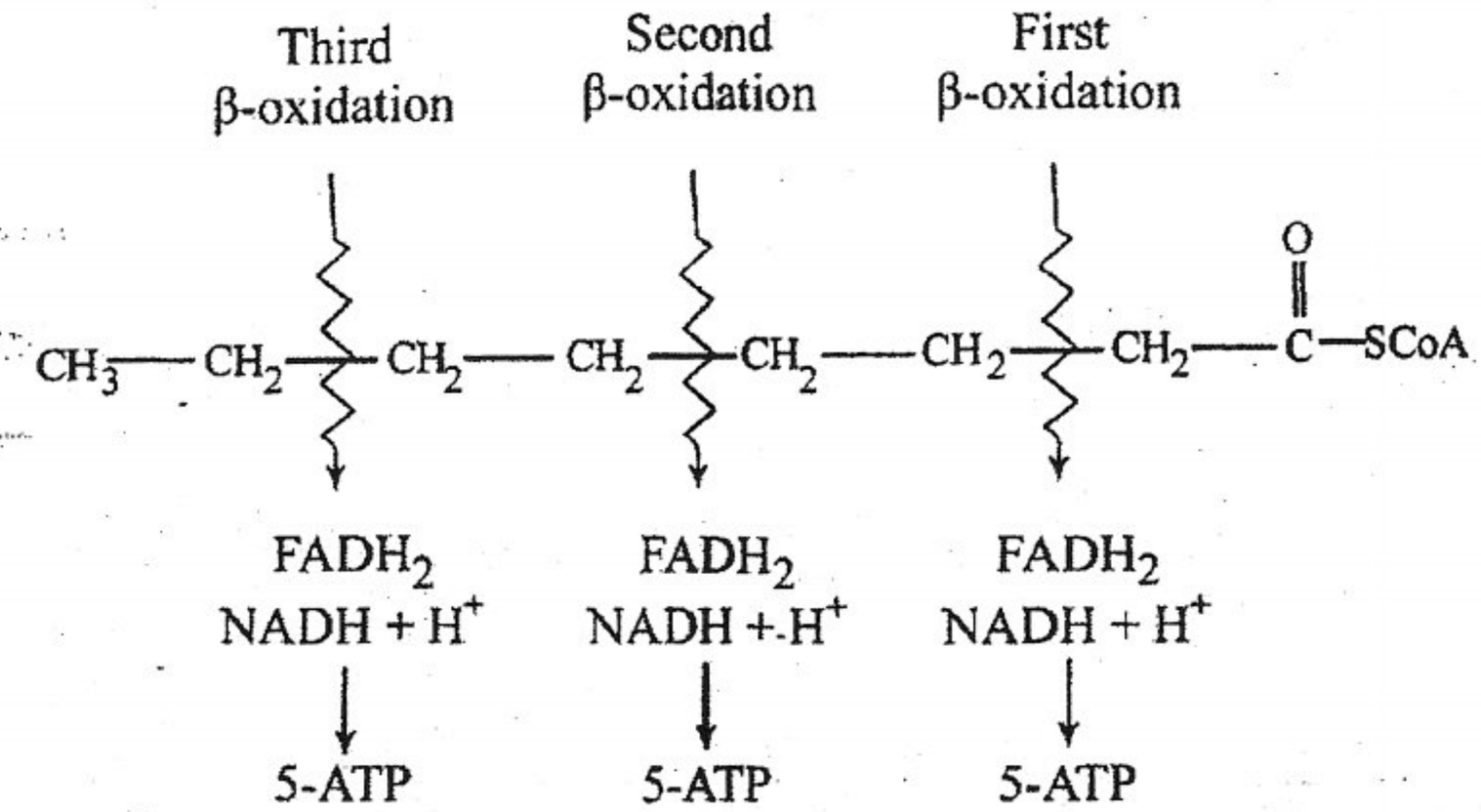
فعالیت‌های شدید و طولانی عضلانی و همچنین نارسایی قلبی و مرگ در سنین پایین می‌گردند.

کارنیتین اسیل ترانسفراز آنزیمی تنظیم شونده است. با افزایش یا کاهش فعالیت آن، ورود اسید چرب به میتوکندری و اکسیداسیون آن نیز افزایش یا کاهش می یابد.

اکسیداسیون اسیدهای چرب در میتوکندری در دو مرحله انجام می‌پذیرد:

مرحله اول (بتا اکسیداسیون، β oxidation): در این جریان، کربن بتا (CH_2) در مولکول اسید چرب اکسیده شده و به عامل کربنیل (CO) تبدیل می‌گردد. سپس اتصال بین کربن‌های آلفا و بتا شکسته شده و دو کربن ابتدای زنجیره به کوآنزیم آ منتقل شده و به‌صورت استیل کوآ جدا می‌شوند. دوره‌های متوالی بتا اکسیداسیون بر روی اسیدهای چرب کوتاه شده تکرار می‌شود تا تمامی زنجیره اسید چرب به مولکول‌های استیل کوآ تبدیل شود. بدین ترتیب از انجام سه دور متوالی بتا اکسیداسیون بر یک اسید چرب هشت کربن، تعداد چهار مولکول استیل کوآ حاصل می‌گردد. الکترون‌های خارج‌شده از کربن بتا در یک مولکول $FADH_2$ و یک مولکول NADH ظاهر شده و به زنجیره تنفسی منتقل شده و نهایتا صرف تبدیل اکسیژن تنفسی به آب می شوند (شکل ۳-۲).

مرحله دوم: مولکول‌های استیل کوآ حاصل از بتا اکسیداسیون وارد چرخه کربس شده و به CO_2 و آب تبدیل می‌گردند. بدین ترتیب الکترون‌های خارج‌شده از اسکلت کربنی اسید چرب در مولکول‌های $FADH_2$ و NADH ظاهر شده و به زنجیره تنفسی منتقل می‌شوند.



شکل ۳ـ۲: انجام واکنش‌های متوالی بتااکسیداسیون بر شکل فعال یک اسید چرب هشت کربن

۱ـ۴ـ۲ واکنش‌های بتا اکسیداسیون

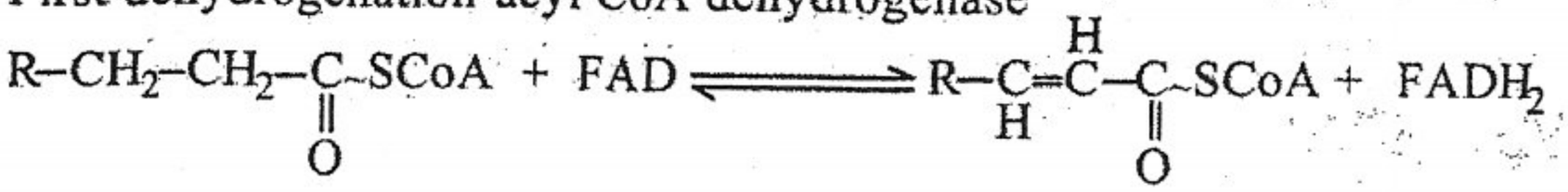
اولین واکنش بتا اکسیداسیون توسط یک آنزیم دهیدروژناز (Fatty acyl-CoA dehydrogenase) وابسته به FAD کاتالیز می‌گردد. این آنزیم واکنش انتقال دو اتم هیدروژن از دو کربن آلفا و بتا به FAD و ایجاد اتصال دوگانه بین این دو اتم کربن را کاتالیز می‌نماید.

دومین واکنش بتا اکسیداسیون توسط یک آنزیم هیدراتاز(Enoyl-CoA hydratase) کاتالیز شده و ضمن آن یک مولکول آب به اتصال دوگانه اضافه شده و درنتیجه یک عامل هیدروکسیل به کربن بتا اضافه می‌گردد.

سومین واکنش بتا اکسیداسیون توسط یک آنزیم دهیدروژناز وابسته به NAD^+ (β hydroxyacyl- CoA dehydrogenase) کاتالیز شده و ضمن آن معادل یک یون هیدرید (H^-) از عامل هیدروکسیل در کربن بتا برداشت و به NAD^+ منتقل شده و کربن بتا به عامل کربونیل تبدیل می‌گردد.

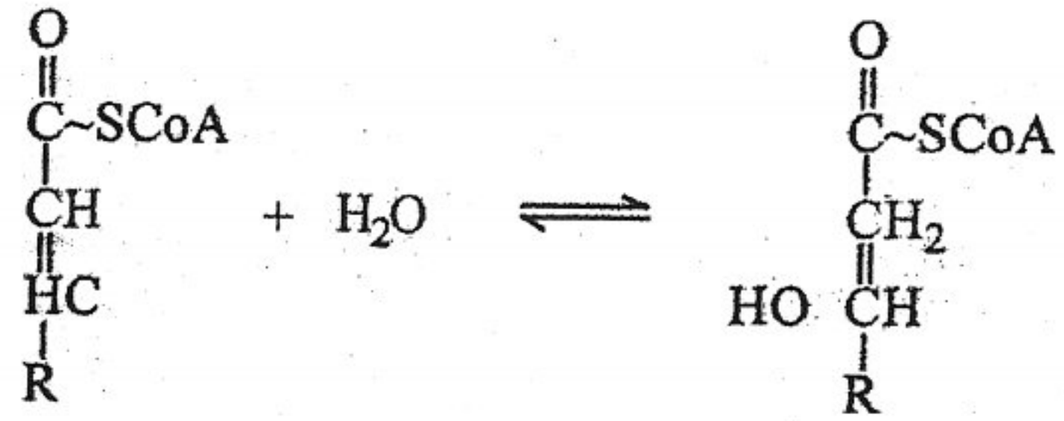
چهارمین واکنش بتا اکسیداسیون توسط یک آنزیم تیولاز(Thiolase) کاتالیز شده و بدین ترتیب اتصال بین کربن آلفا و بتا توسط عامل تیول یک مولکول کوآنزیم آ شکسته می‌شود. دوکربن ابتدای زنجیره اسید چرب به‌صورت استیل کوآ جدا شده و باقیمانده یک مولکول اسیل کوآ با تعداد دو اتم کربن کمتر نسبت به اسیل کوآ اولیه خواهد بود. واکنش‌های بتا اکسیداسیون در دورهای متوالی بر اسیل کوآهای کوتاه شده انجام می‌پذیرند. از انجام هر دور بتا اکسیداسیون یک مولکول $FADH_2$ و یک مولکول NADH حاصل شده که پس از ورود به زنجیره تنفسی موجب تبدیل حدوداً پنج مولکول ADP به ATP می‌گردند. نهایتاً در آخرین دور بتااکسیداسیون شکل ۳ـ۲: انجام واکنش‌های متوالی بتااکسیداسیون بر شکل فعال یک اسید چرب هشت کربن یک زنجیره چهار کربن به شکل استواستیل کوا حاصل می‌گردد که در آخرین واکنش

First dehydrogenation-acyl CoA dehydrogenase



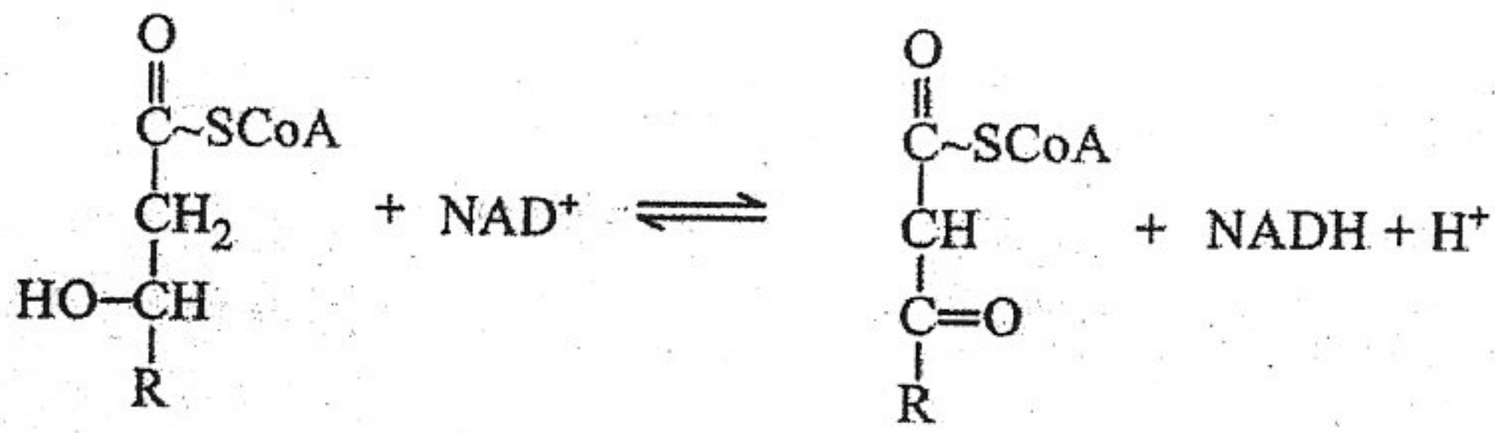
Δ_2 trans — Enoylacyl CoA

Hydration — enoylthydratase:



L-β-Hydroxyacyl CoA

Second dehydrogenation—L-β-hydroxyacyl dehydrogenase



β-Ketoacyl CoA

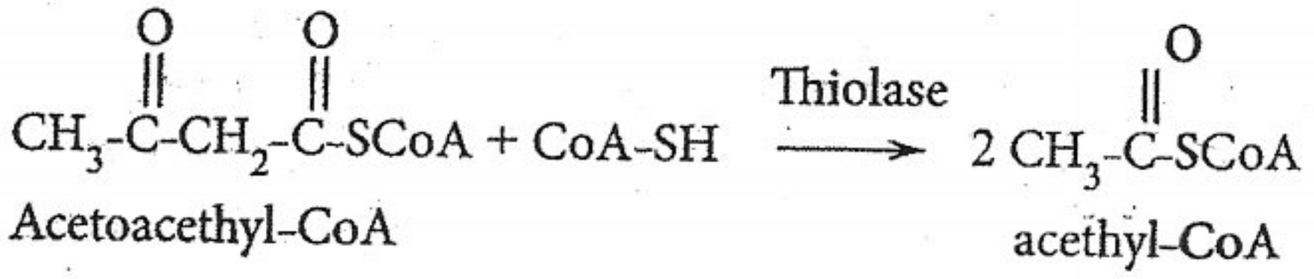
Thiolytic cleavage — thiolase:



Acyl CoA Acetyl CoA

شکل ۴-۲: واکنش‌های بتااکسیداسیون

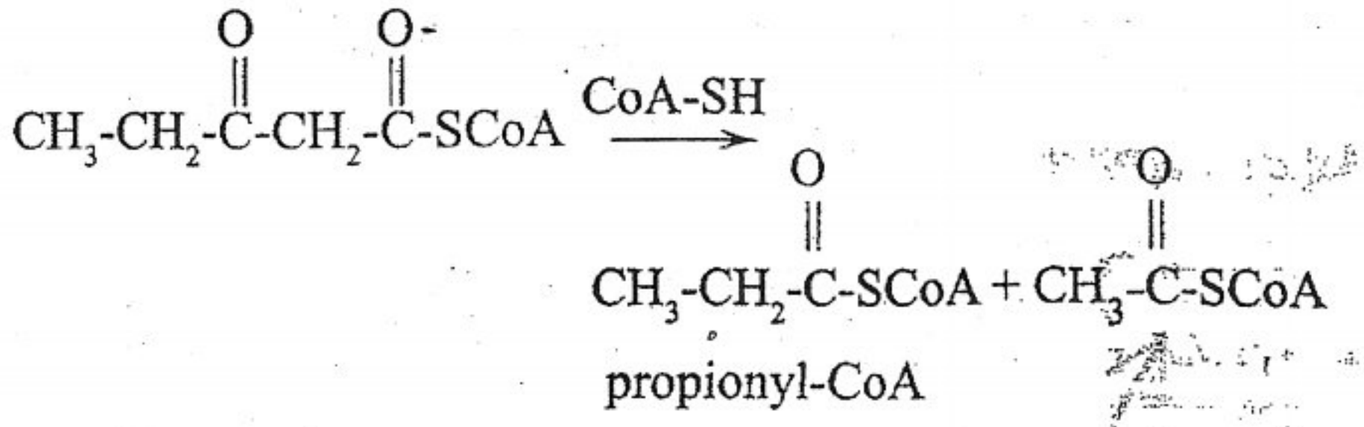
تیولیز به دو مولکول استیل کوا تبدیل می‌گردد.



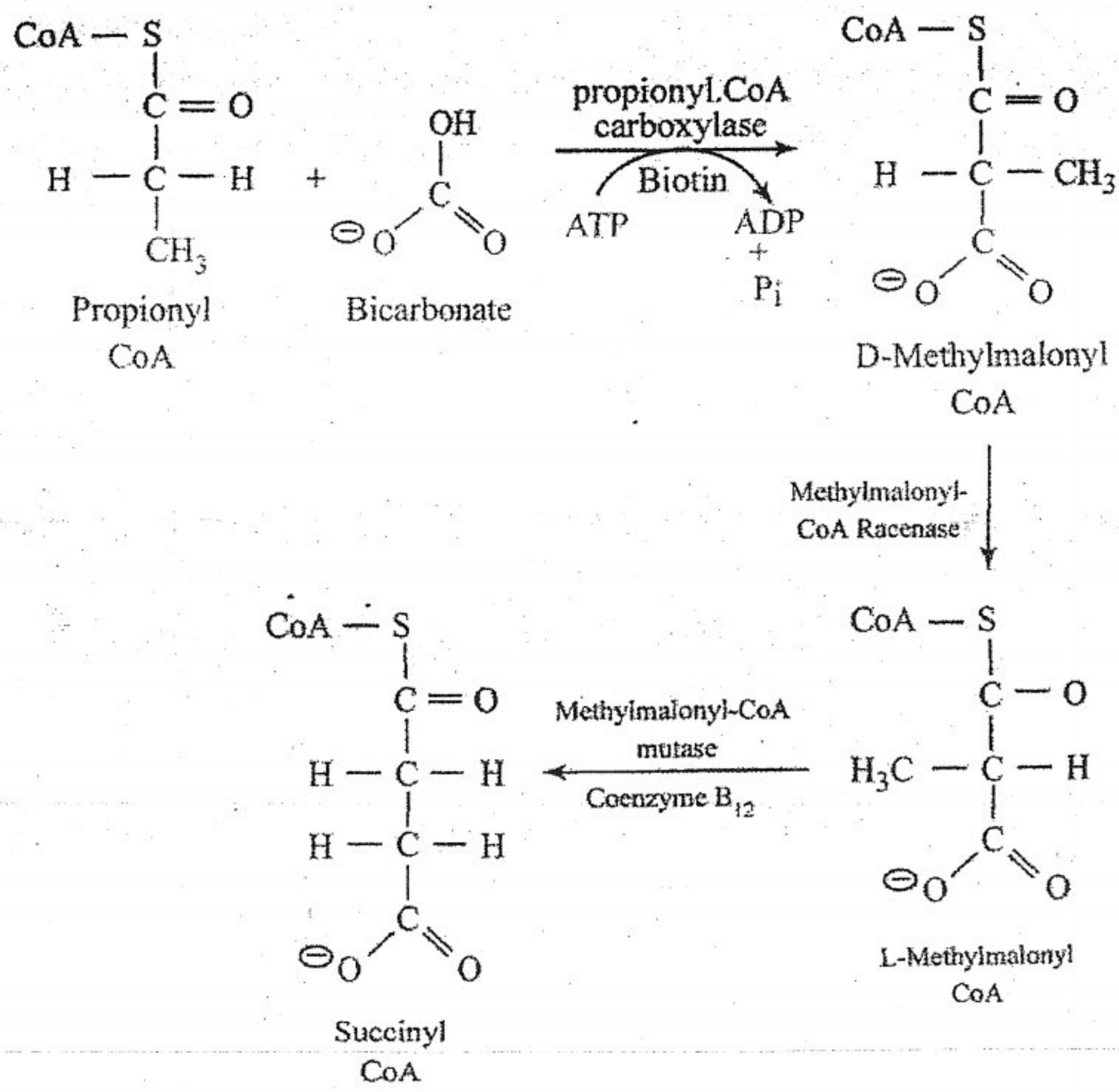
Acetoacethyl-CoA acethyl-CoA

اکسیداسیون اسیدهای چرب فرد کربن(Odd chain Fatty acids) مانند اسیدهای چرب زوج کربن پیشرفت می‌نماید. منتهی در چهارمین واکنش در آخرین دور بتا اکسیداسیون یک زنجیره پنج کربنه وارد واکنش تیولیز می‌شود که حاصل یک مولکول استیل کوآ و یک مولکول پروپیونیل کوآ (مربوط به اسید پروپیونیک

سه کربنی) می‌باشد.



مسیر ورود پروپیونیل کوآ به سیکل کربس در شکل ۵-۲ نمایش داده شده است. پروپیونیل کوآ، سوبسترای یک آنزیم کربوکسیلاز وابسته به بیوتین واقع شده و با مصرف یک پیوند پرانرژی فسفات به D متیل مالونیک اسید تبدیل می‌گردد. این ترکیب پس از تبدیل به ایزومر L خود، سوبسترای یک آنزیم متیل مالونیل کوآ میوتاز (Methylmalonyl-CoA mutase) وابسته به ویتامین B_{12} (5'-deoxyadenosyl cobalamine) واقع می‌گردد. لازم به یادآوری است که آنزیم‌های میوتاز واکنش جابجایی یک گروه شیمیایی متصل به یک کربن با اتم هیدروژن کربن مجاور را کاتالیز می‌نمایند. آنزیم متیل مالونیل کوآ یک موتاز وابسته به ویتامین B_{12} بوده و لذا در موارد کمبود این ویتامین متیل مالونیل کوآ در سلول‌ها انباشته شده و به‌صورت متیل مالونیک اسید به جریان خون نشت نموده (متیل



شکل ۵ـ۲: مسیر ورود پروپیونیل‌کوآ به سیکل کربس

مالونیک اسیدمیا) و از ادرار دفع می‌گردد (متیل مالونیک اسیدوریا).

امگا اکسیداسیون(Omega oxidation) اسیدهای چرب نیز در بدن انسان انجام می‌پذیرد. در جریان امگا اکسیداسیون کربن امگا (در عامل متیل انتهایی) در زنجیره اسید چرب اکسید شده و به عامل کربوکسیل تبدیل می‌گردد. اسید چرب دی کربوسیلیک حاصل می‌تواند در سیتوزول فعال شده و وارد مسیر بتا



اکسیداسیون گردد.

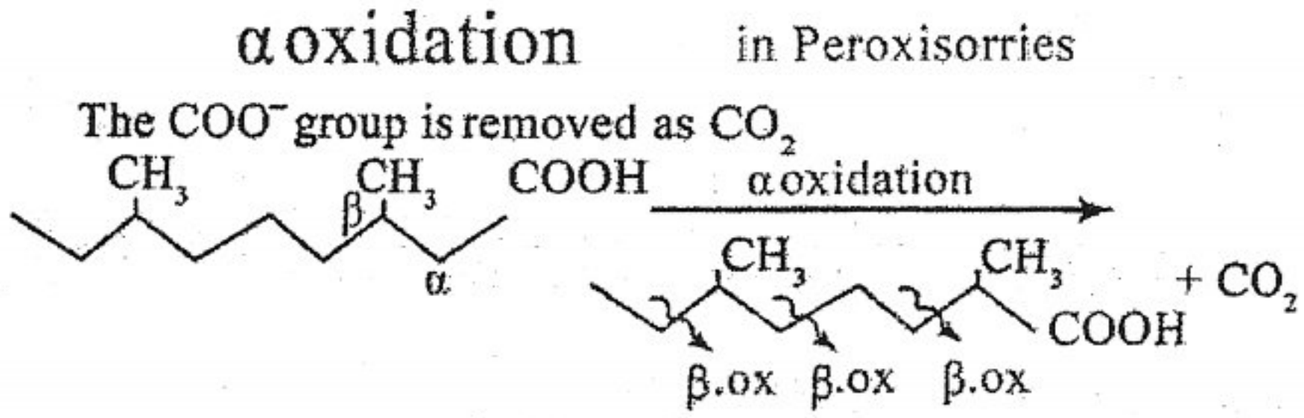
آلفا اکسیداسیون (Alpha oxidation) اسیدهای چرب در پروکسیزوم‌ها انجام شده و منجر به جدا شدن عامل کربوکسیل اسید چرب به صورت CO_2 می شود. در این جریان کربن آلفا به عامل کربوسیل اکسید می‌گردد (حاشیه ۱-۲).

کاتابولیسم اسیدهای چرب غیراشباع اصولاً در مسیر اسیدهای چرب اشباع پیشرفت می‌نماید منتهی در جریان بتا اکسیداسیون به ازای هر اتصال دوگانه موجود در اسکلت کربنی اسید چرب غیراشباع یک مولکول $FADH_2$ کمتر تولید شده و به همان میزان انرژی کمتری حاصل می‌گردد. البته پیشرفت اکسیداسیون اسیدهای چرب غیراشباع علاوه بر آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم اسیدهای چرب اشباع نیازمند برخی آنزیم‌های دیگر نیز می‌باشد (حاشیه ۲-۲).

تنظیم کاتابولیسم اسیدهای چرب بلند زنجیر (C۱۲-C۱۸) در مرحله ورود اسید چرب به میتوکندری انجام می‌گیرد. سیستم آنزیمی کارنیتین اسیل ترانسفراز توسط ترکیبی بنام مالونیل کوآ (Malonyl-CoA) مهار می‌گردد. در شرایط پس از صرف غذا که میزان ذخایر کربوهیدرات بدن بالا است میزان سنتز مالونیل کوآ افزایش یافته و بنابراین کارنیتین اسیل ترانسفراز و به دنبال آن کاتابولیسم اسیدهای چرب مهار می‌گردد. بنابراین در بدن کاتابولیسم مواد کربوهیدرات نسبت به اسیدهای چرب در اولویت قرار دارد. در حالت گرسنگی، پس از کاهش ذخایر کربوهیدرات و افت سطح مالونیل کوآ، میزان فعالیت کارنیتین اسیل ترانسفراز و روند کاتابولیسم اسیدهای چرب فعال می‌گردد. به علاوه، در حالت گرسنگی، تحت تأثیر پیام هورمون گلوکاگون نیز سطح آنزیم فوق در سلول افزایش می‌یابد.

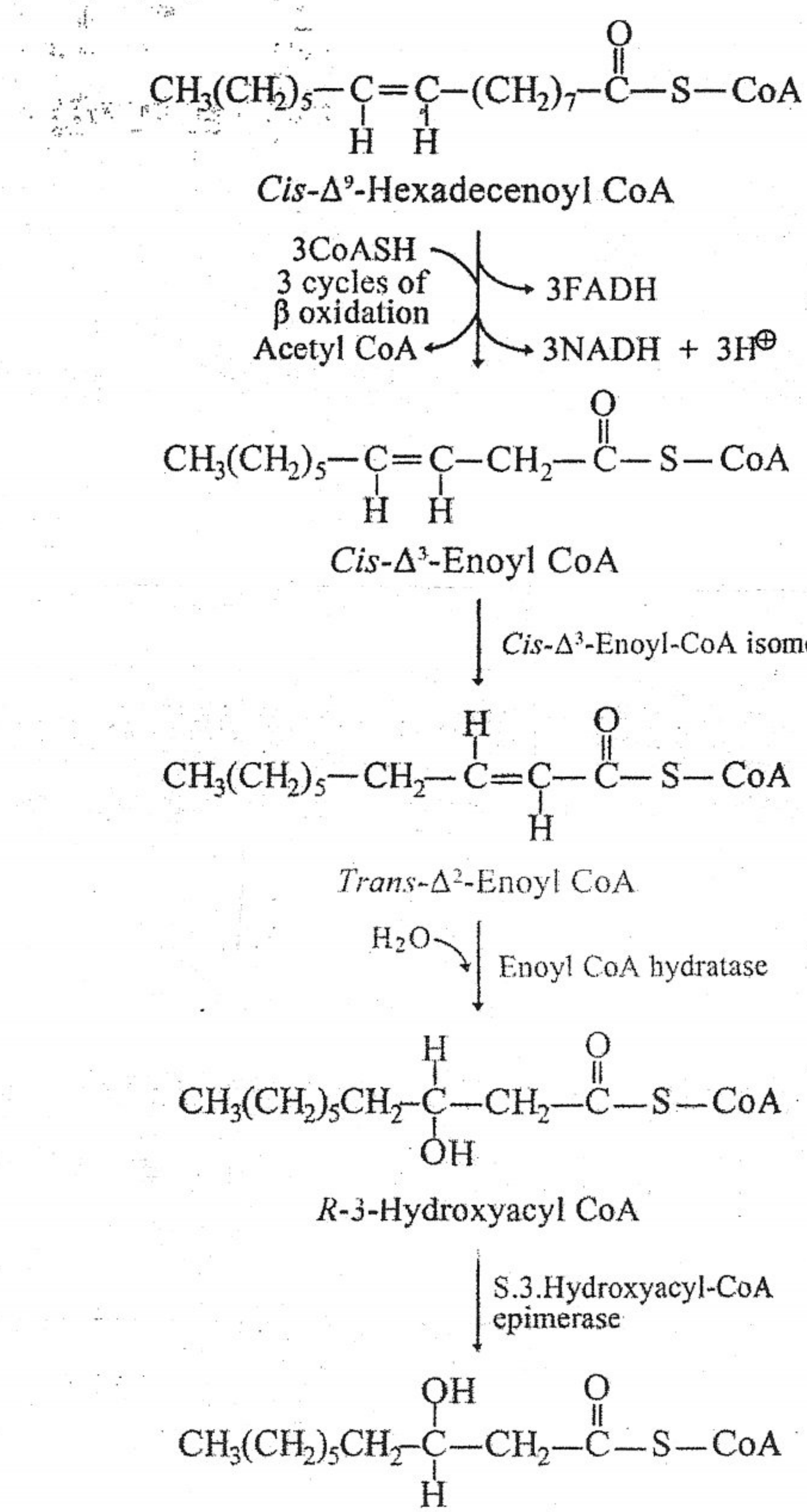
حاشیه ۱-۲ اکسیداسیون اسیدهای چرب در پروکسیزوم‌ها(Peroxisomes)

بدون انجام آلفا اکسیداسیون امکان کاتابولیسم اسکلت کربنی فیتانیک اسید (Phytanic acid) و سایر اسیدهای چرب شاخه‌دار در بدن انسان وجود نخواهد داشت زیرا فیتانیک اسید در کربن بتای خود دارای شاخه متیل بوده و امکان انجام اولین واکنش بتا اکسیداسیون بر آن وجود ندارد. با انجام یک واکنش آلفا اکسیداسیون بر فیتانیک اسید و جدا شدن عامل کربوکسیل آن، اسید چربی حاصل خواهد شد که دارای شاخه متیل در کربن آلفا بوده و کربن بتای آن به‌صورت CH_2 می‌باشد. این اسید چرب امکان ورود به جریان بتا اکسیداسیون را داشته منتهی (در موارد وجود عوامل متیل)، محصول هر دور بتا اکسیداسیون یک مولکول پروپیونیل کوآ خواهد بود. فیتانیک اسید از فیتول (از اجزاء مولکول کلروفیل) مشتق شده و از طریق شیر و گوشت نشخوارکنندگان به بدن انسان راه می‌یابد. در بیماری رفزوم (Refsum s disease) به علت نقص ارثی جریان آلفا اکسیداسیون، کاتابولیسم اسید فیتانیک مختل شده و تجمع اسید فیتانیک در سرم و بافت‌های بدن باعث ایجاد عوارضی مانند اختلال در شنوایی و در حرکات مرتبط با مخچه و نوروپاتی می‌گردد.



بتااکسیداسیون اسیدهای چرب بسیار بلند زنجیره (دارای بیش از ۲۰ کربن) و اسیدهای چرب دی کربوکسیلیک نیز در پروکسی زوم‌ها انجام می‌شود. منتهی اولین آنزیم مسیر بتااکسیداسیون در پروکسی زوم‌ها از زیر طبقه دهیدروژنازها نبوده بلکه یک آنزیم اکسیداز می‌باشد؛ بنابراین $FADH_2$ حاصل از عمل کاتالیزوری این آنزیم به زنجیره تنفسی وارد نشده بلکه زوج الکترون خود را به اکسیژن منتقل نموده و درنهایت آن را به H_2O_2 تبدیل می‌نماید. به خاطر داشته باشید که در پرواکسی زوم‌ها مسیر زنجیره تنفسی وجود ندارد. انجام دورهای متوالی این نوع بتاکسیداسیون بر روی زنجیرهای بلند اسیدهای چرب منجر به کوتاه شدن طول زنجیره تا حد هشت کربن می‌گردد. مولکول‌های استیل کوآ و آلتانوئیل کوآ حاصل شده نهایتاً به میتوکندری داده یافته و کاتابولیسم خود را در آن اندامک ادامه می‌دهند.

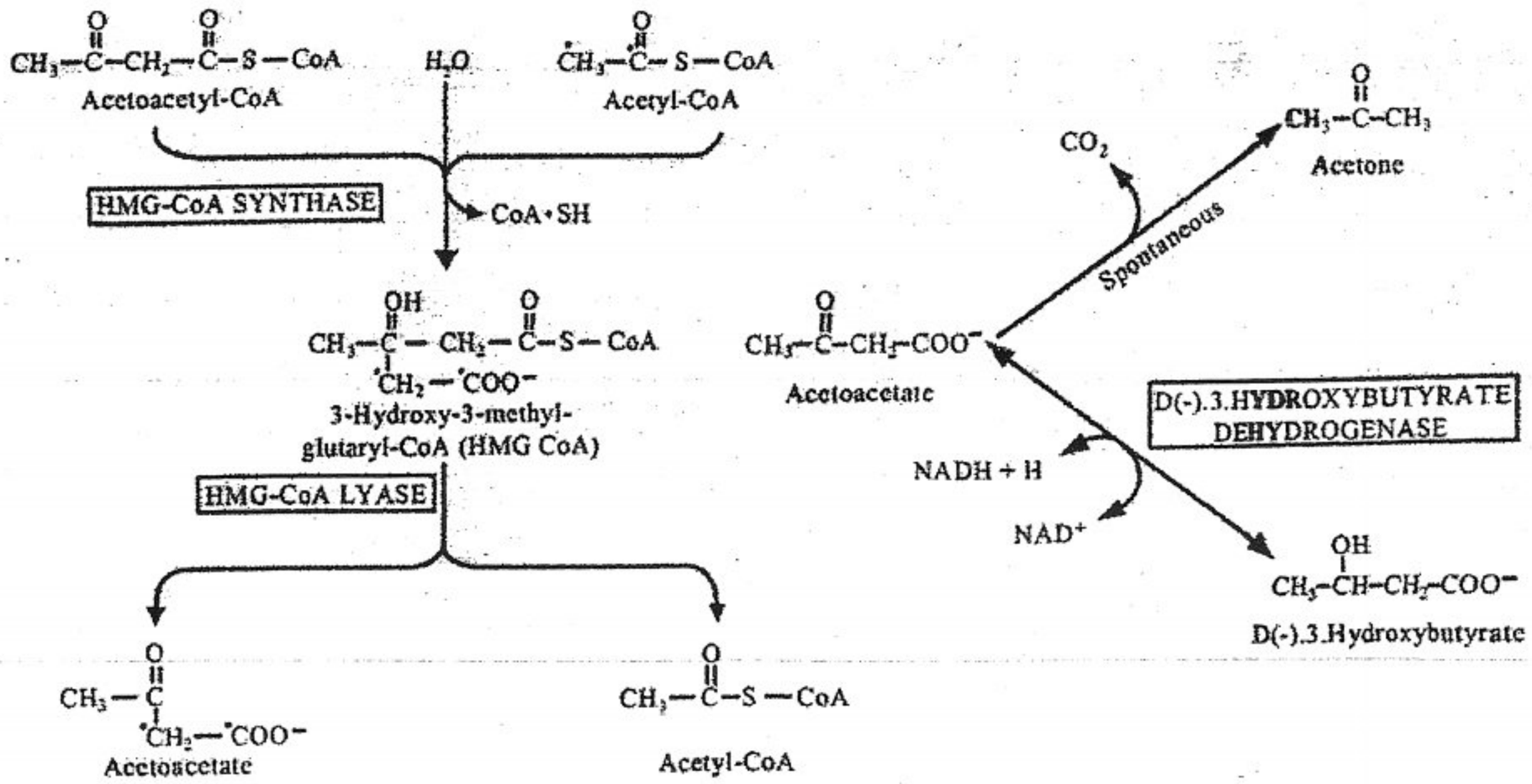
حاشیه ۲-۲ ورود اسیدهای چرب غیراشباع به جریان بتااکسیداسیون



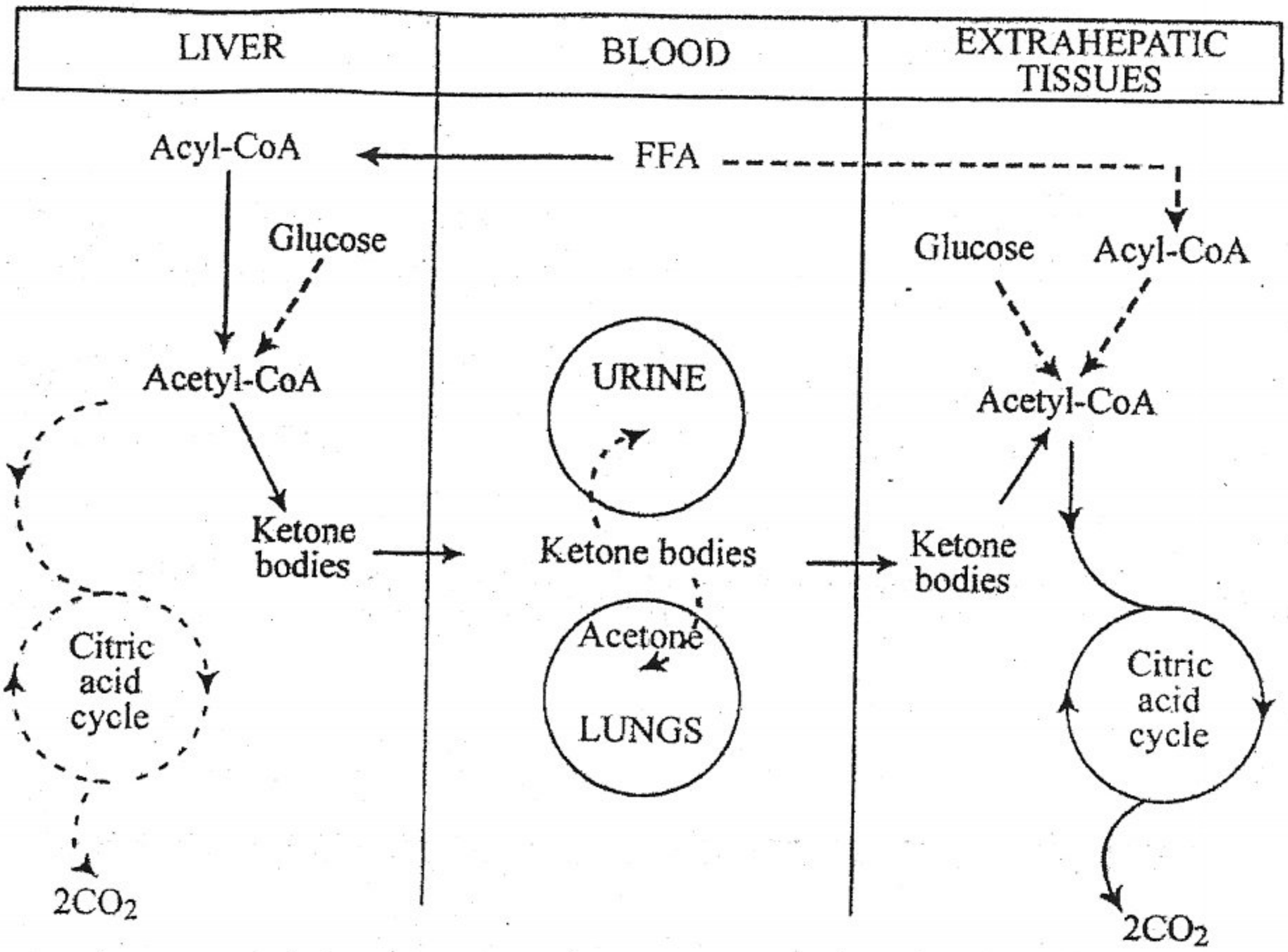
۲ـ۴ـ۲ اجسام ستنی(Ketone bodies):

اجسام ستنی شامل استواستیک اسید (Acetoacetic acid)، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (Beta-hydroxybutyrate) و استن (Acetone) می‌باشند. این ترکیبات در میتوکندری سلول‌های کبد و در مقیاس کمتری در کلیه سنتز شده و در شرایط گرسنگی طولانی، دیابت و مصرف الکل (حاشیه ۳-۲) تولید آن‌ها افزایش می‌یابد. تحت این شرایط بخش مهمی از استیل کوآ حاصل از جریان بتا اکسیداسیون به چرخه کربس وارد نشده بلکه به اجسام ستنی تبدیل می‌گردد.

تولید اجسام ستنی در شکل ۶-۲ نشان داده شده است: در اولین واکنش این مسیر دو مولکول استیل کوآ با یکدیگر ترکیب شده و استواستیل کوآ تشکیل می‌گردد. درنهایت کوآنزیم آ از استواستیل کوآ جدا می‌شود تا استواستیک اسید حاصل قابلیت عبور از غشاء سلول‌های کبد و ورود به جریان خون را بیابد. همچنین بخشی از موکول‌های استوآستیک اسید در سلول‌های کبد توسط یک آنزیم دهیدروژناز وابسته به NAD^+ احیا شده، به بتا هیدروکسی بوتیریک اسید تبدیل گردیده و به جریان خون وارد می‌گردند. بخش دیگری از مولکول‌های استواستیک اسید نیز در یک واکنش غیر آنزیمی عامل کربوکسیل خود را به‌صورت CO_2 ازدست‌داده و به استن تبدیل می‌گردد. استن نیز به‌راحتی از غشاءهای سلولی عبور نموده و به جریان خون وارد می‌شود. استن به‌عنوان منبع سوخت برای بدن قابل‌استفاده نبوده و از ریه و ادرار دفع می‌گردد، اما استواستیک اسید و بتا هیدروکسی بوتیریک اسید به بافت‌هایی مانند قلب، عضلات و به‌ویژه مغز وارد شده و به‌عنوان منبع سوخت مصرف می‌شوند. افزایش تولید اجسام ستنی در شرایط گرسنگی طولانی و دیابت نوع I را می‌توان به افزایش نسبت گلوکاگون به انسولین (Glucagon/Insulin) که در این شرایط روی می‌دهد مرتبط دانست. در چنین شرایطی جریان لیپولیز فعال شده و مقادیر زیادی اسید چرب از بافت چربی به کبد راه یافته، وارد مسیر بتا اکسیداسیون شده و به استیل کوآ تبدیل می‌گردد. اما تحت این شرایط سیکل کربس در سلول‌های کبد از کارایی کافـــــــی برای



شکل ۶-۲: واکنش‌های تولید اجسام ستنی



شکل ۷ـ۲: تولید و مصرف اجسام سنتی

اکسیداسیون استیل کوآ برخوردار نیست و بنابراین مولکول‌های انباشته شده استیل کوآ وارد مسیر تبدیل به اجسام ستنی می‌گردند. کارایی کم سیکل کربس در شرایط گرسنگی طولانی و دیابت را می‌توان به دو علت نسبت داد. اولاً درنتیجه فعالیت زیاد مسیر بتا اکسیداسیون تولید NADH افزایش میابد و افزایش نسبت $NADH/NAD^+$ باعث مهار سیکل کربس می‌گردد. ثانیاً به علت افزایش نسبت Glucagon/Insulin فعالیت مسیر گلوکونئوژنز افزایش یافته درنتیجه اگزالواستیک اسید در این مسیر مصرف و به گلوکز تبدیل می‌گردد با کاهش میزان اگزالواستیک اسید امکان ورود استیل کوآ به سیکل کربس کاهش میابد.

مصرف اجسام ستنی (شکل ۷ـ۲): در شرایط گرسنگی طولانی و کاهش قند خون برای بافت مغز اهمیت زیادی دارد زیرا نورون‌ها قادر به استفاده از اسیدهای چرب به‌عنوان منبع سوخت نبوده و از این نظر به مصرف قند شدیداً وابسته می‌باشند. مصرف اجسام ستنی به‌عنوان منبع سوخت جایگزین برای نورون‌ها اهمیت دارد. در میتوکندری بافت‌های خارج از کبد آنزیم بتا کتواسیل کوآ ترانسفراز (β-ketoacyl-CoA transferase) واکنش فعال شدن استواستیک اسید و تبدیل آن به استواستیل کوآ را کاتالیز می‌نماید.

$$\text{Acetoacetate} + \text{Succinlyl-CoA} \rightleftarrows \text{Acetoacetyl-CoA} + \text{Succinate}$$

فعالیت این آنزیم در کبد ناچیز بوده لذا کبد قادر به استفاده از اجسام ستنی نمی‌باشد. محصول استواستیل کوآ وارد واکنش تیولیز (چهارمین واکنش بتا اکسیداسیون) شده و به دو مولکول استیل کوآ تبدیل گردیده و به این صورت وارد سیکل کربس می‌گردد. اسکلت کربنی بتا هیدروکسی بوتیریک اسید نیز به استواستیک اسید اکسیده شده (عکس واکنش تولید آن) و به ترتیب فوق به چرخه کربس راه می‌یابد.

$$\underset{\text{Acetoacethyl-CoA}}{CH_3\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-}CH_2\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-SCoA}} + \text{CoA-SH} \xrightarrow{\text{Thiolase}} 2\ \underset{\text{Acethyl-CoA}}{CH_3\text{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\text{-SCoA}}$$

هنگامی‌که غلظت اجسام ستنی در خون از ۷۰mg/dl بیشتر شود در این صورت فرد در شرایط کتوز (Ketosis) قرار داشته و اجسام ستونی وارد ادرار می‌گردند(Ketonurea). در شرایط کتوز pH خون به سمت اسیدی میل نموده و اسیدوز (Acidosis) عارض می‌گردد. کتو اسیدوز دیابتی یا DKA (Diabetic ketoacidosis) وضعیت خطرناکی است که در دیابت نوع اول می‌تواند روی دهد.

۳ـ۴ـ۲ اختلالات ارثی در روندهای مرتبط با کاتابولیسم اسیدهای چرب در مواردی مانند نارسایی در عبور اسیدهای چرب از غشاء میتوکندری و بتا اکسیداسیون، دارای عوارض مشابهی هستند. این عوارض شامل افزایش کاتابولیسم مواد کربوهیدرات در بدن، کاهش قند خون و کاهش تولید اجسام سنتی (Hypoketotic hypoglycemia) و ضعف عضلانی می‌شوند. اختلال در پیشرفت بتا اکسیناسیون اولاً منجر به کاهش تولید اجسام ستنی و کاهش غلظت آن‌ها در خون و ادرار می‌گردد، ثانیاً باعث کاهش روند گلوکونئوژنز و کاهش قند خون می‌شود. لازم به یادآوری است که استیل کوآ در میتوکندری فعال‌کننده انزیم پیرووات کربوکسیلاز در مسیر گلوکونئوژنز می‌باشد؛ بنابراین کاهش سرعت بتا اکسیداسیون و کاهش تولید استیل کوآ در کبد این بیماران، منجر به کاهش سرعت گلوکونئوژنز و درنتیجه کاهش قند خون می‌گردد.

نقص ارثی در سطح پروتئین ویژه انتقال کارنیتین به درون سلول‌ها و یا از دست رفتن کارنیتین از ادرار در بیماران تحت دیالیز کلیوی منجر به گرفتگی‌های عضلانی عود کننده (Rrecurrent muscle cramp)، ضعف شدید و حتی مرگ

می‌گردد.

نقص ارثی در سطح آنزیم کارنیتین اسیل ترانسفراز (CAT) در سلول‌های عضله باعث بروز ضعف عضلانی در هنگام ورزش می‌گردد؛ زیرا در این شرایط بخش اصلی انرژی عضلات بایستی از اکسیداسیون اسیدهای چرب تأمین گردد. کاهش قند و کاهش اجسام ستنی در خون وجود داشته و در مواردی وجود میوگلوبین در ادرار به علت تخریب سلول‌های عضلانی، نارسایی عضلات قلبی و مرگ هم گزارش شده است. درمان این بیماری با حذف اسیدهای چرب بلند زنجیره از غذا و تجویز تری‌گلیسریدهای دارای اسیدهای چرب متوسط زنجیره میسر است؛ زیرا اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره از راه‌های غیر وابسته به کارنیتین از غشاء داخلی میتوکندری عبور می‌نمایند.

نقص ارثی سیستم آنزیمی اسیل- کوآ دهیدروژناز

(Fatty Acyl-CoA dehydrogenases deficiency) از فراوان ترین خطاهای وراثتی متابولیسم در انسان است. سیستم آنزیمی فوق یک آنزیم واحد نمی باشد. بلکه خانواده ای از آنزیم های مختلفی است که هر کدام نسبت به یکی از انواع اسیدهای چرب شامل: بسیار بلند زنجیره، بلند زنجیره، متوسط زنجیره و کوتاه زنجیره، اختصاصی عمل می نمایند. به طوری که هر ملکول اسید چرب با کوتاه تر شدن تدریجی زنجیره خود در جریان بتا اکسیداسیون، به نوبت سوبسترای هر کدام از آنزیم ها قرار می گیرد. نقص ارثی آنزیم اسیل کوآ دهیدروژناز ویژه اسیدهای چرب متوسط زنجیره (Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase, MCAD) از همه بیشتر مشاهده می شود. در شمال اروپا از هر چهل نفر یک نفر دارای نقص ارثی در یک ژن از دو ژن مربوط به آنزیم فوق می باشد. اما تنها افرادی که دارای نقص ارثی در هر دو ژن آنزیم می باشند (یک نفر در هر ده هزار نفر)، علائم بیماری را در دو سال اول تولد نشان میدهند. علائم بارز این بیماری پس از دوازده ساعت روزه عبارتند از : استفراغ، ضعف و غالبا" کوما. این بیماری می تواند باعث مرگ ناگهانی نوزادان گردد.

برای بررسی بیشتر به تمرین شماره ۳-۱۰- ۲ مراجعه نمایید.

حاشیه ۳-۲ـ متابولیسم الکل

اتانول در کبد تحت تأثیر آنزیم الکل دهیدروژناز (Alcohol dehydrogenases) به استالدئید تبدیل می‌گردد. استالدیید توسط آنزیم آلدیید دهیدروژناز (Aldehyde dehydrogenases) به استات تبدیل می‌شود. NAD^+ کوآنزیم هر دو آنزیم فوق بوده و در جریان واکنش‌های فوق به NADH تبدیل می‌شود. استات تولید شده از اتانول پس از تبدیل به استیل کوآ می‌تواند به چرخه کربس راه یافته و به CO_2 تبدیل شود. در واقع از اکسیداسیون هر گرم الکل در بدن تقریباً معادل ۷ kcal یا ۳۰ kJ انرژی حاصل می‌گردد.

$$CH_3CH_2OH + NAD^+ \longrightarrow CH_3CHO + NADH + H^+$$

$$CH_3CHO + NAD^+ \longrightarrow CH_3COOH + NADH + H^+$$

$$CH_3\,COOH + CoA\text{-}SH \longrightarrow CH_3\,CO\text{-}CoA + H_2O$$

انجام واکنش‌های فوق در کبد باعث مصرف NAD^+ شده، بنابراین کبد با کمبود نسبی این ترکیب مواجه می‌گردد. درنتیجه از سرعت واکنش‌هایی که نیاز به NAD^+ دارند کاسته می‌شود. از جمله، برخی آنزیم‌های مسیر گلوکونئوژنز مانند لاکتات دهیدروژناز به NAD^+ نیاز دارند تا روند سنتز گلوکز از لاکتات را تسریع نمایند؛ بنابراین مصرف الکل باعث مهار جریان گلوکونئوژنز، تجمع لاکتات و کاهش قند خون ناشتا می‌گردد. لذا **هیپوگلیسمی و اسیدوز لاکتیک** (کاهش pH خون ناشی ازتجمع لاکتات) از عوارض شایع مصرف الکل هستند. بتا اکسیداسیون اسیدهای چرب از دیگر روندهایی است که نیاز به NAD^+ داشته و کاهش میزان NAD^+ از سرعت آن می‌کاهد. در این صورت بخش مهمی از اسیدهای چرب به‌جای ورود به جریان بتا اکسیداسیون به تری‌گلیسرید تبدیل شده، در کبد تجمع یافته و باعث بروز کبد چرب (Fatty liver) می‌شود. بخش دیگری از این تری‌گلیسریدهای تولید شده در کبد نیز به‌صورت VLDL بسته‌بندی شده و وارد جریان خون می‌گردد. بسیاری دیگر از آثار سمی الکل در کبد مربوط به استالدئید می‌گردد؛ زیرا عامل آلدئیدی در استالدئید از نظر شیمیایی فعال بوده و با انجام واکنش با گروه‌های عاملی مانند گروه‌های آمین به مولکول‌های زیستی و در نهایت بافت کبد آسیب می‌رساند.

۲ـ۵ بیوسنتز لیپیدها (Lipogenesis):

۱ـ۵ـ۲ بیوسنتز اسیدهای چرب در سیتوزول بسیاری از سلول‌های بدن ازجمله مغز، کلیه، پستان و به‌ویژه کبد و چربی انجام می‌شود. استیل کوآ مصالح اولیه تکوین اسکلت کربنی اسیدهای چرب است. استیل کوآ لازم برای بیوسنتز اسیدهای چرب عمدتاً از واکنش‌هایی حاصل می‌گردد که در میتوکندری انجام می‌شوند. در مهم‌ترین این واکنش‌ها پیروات حاصل از جریان گلیکولیز توسط آنزیم پیروات دهیدورژناز به استیل کوآ تبدیل می‌گردد. استیل کوآ حاصل از کاتابولیسم اسیدهای آمینه نیز بخش مهم دیگری از مصالح اولیه بیوسنتز اسیدهای چرب را فراهم می‌آورد. مولکول‌های استیل کوآ امکان عبور از غشاء داخلی میتوکندری را نداشته و برای عبور از غشاء، در واکنشی که توسط آنزیم سیترات سینتاز کاتالیز می‌شود شرکت نموده و در مولکول سیترات ظاهرمی شوند.

$$\text{Acetyl-CoA} + \text{Oxaloacetate} + H_2O \rightarrow \text{Citrate} + \text{CoA-SH}$$

مولکول سیترات توسط یک سیستم پروتئینی انتقال ویژه اسیدهای آلی دارای سه عامل کربوکسیل، از میتوکندری به سیتوزول منتقل می‌گردد. مولکول‌های سیترات در سیتوزول تحت تأثیر آنزیم سیترات لیاز (Citrate Lyase) به استیل کوآ و اگزالواستیک اسید تبدیل شده و بدین ترتیب استیل کوآ لازم برای بیوسنتز اسیدهای چرب از میتوکندری به سیتوزول منتقل می‌گردد.

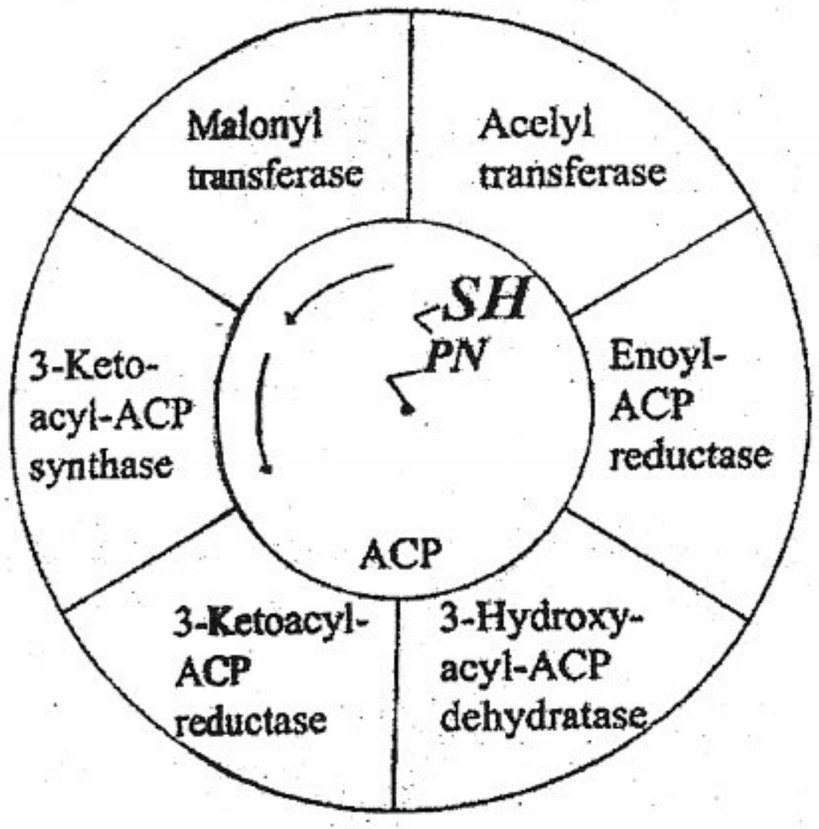
$$\text{Citrate} + \text{ATP} + \text{CoA-SH} \rightarrow \text{Acetyl CoA} + \text{ADP} + \text{Pi} + \text{Oxaloacetate}$$

اسکلت کربنی اگزالواستات به مالات و سپس پیروات تبدیل شده و مجدداً به میتوکندری راه می یابد.

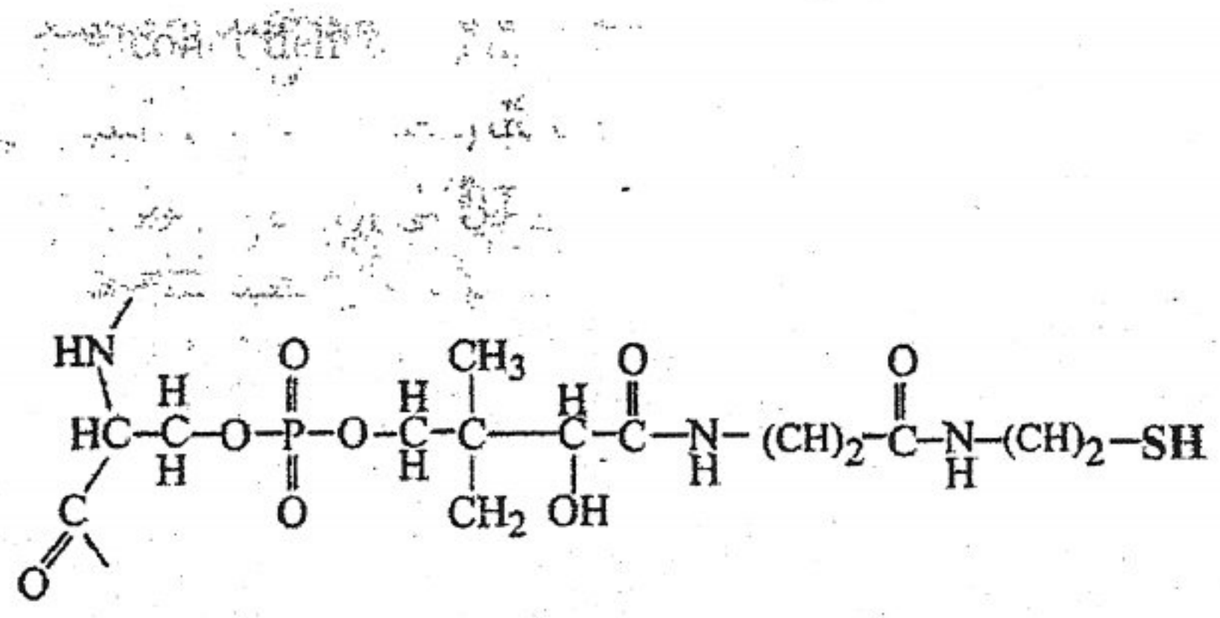
مولکول‌های استیل کوآ برای ورود به جریان بیوسنتز اسیدهای چرب ابتدا سوبسترای یک آنزیم کربوکسیلاز وابسته به بیوتین قرار گرفته و با مصرف یک پیوند پرانرژی فسفات به مولکول پرانرژی بنام مالونیل کوآ تبدیل می‌گردند.

$$CH_3\text{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}\text{-SCoA} + HCO_3^- + \text{ATP} \rightarrow -OOC\text{-}CH_2\text{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}\text{-SCoA} + H_2O + \text{ADP} + \text{Pi}$$

واکنش فوق توسط آنزیم کلیدی استیل کوآ کربوکسیلاز (Acetyl-CoA carboxylase) کاتالیز می‌گردد. فعالیت این آنزیم آلوستریک



کمپـــلکس سینتاز اسیـــد چـــرب

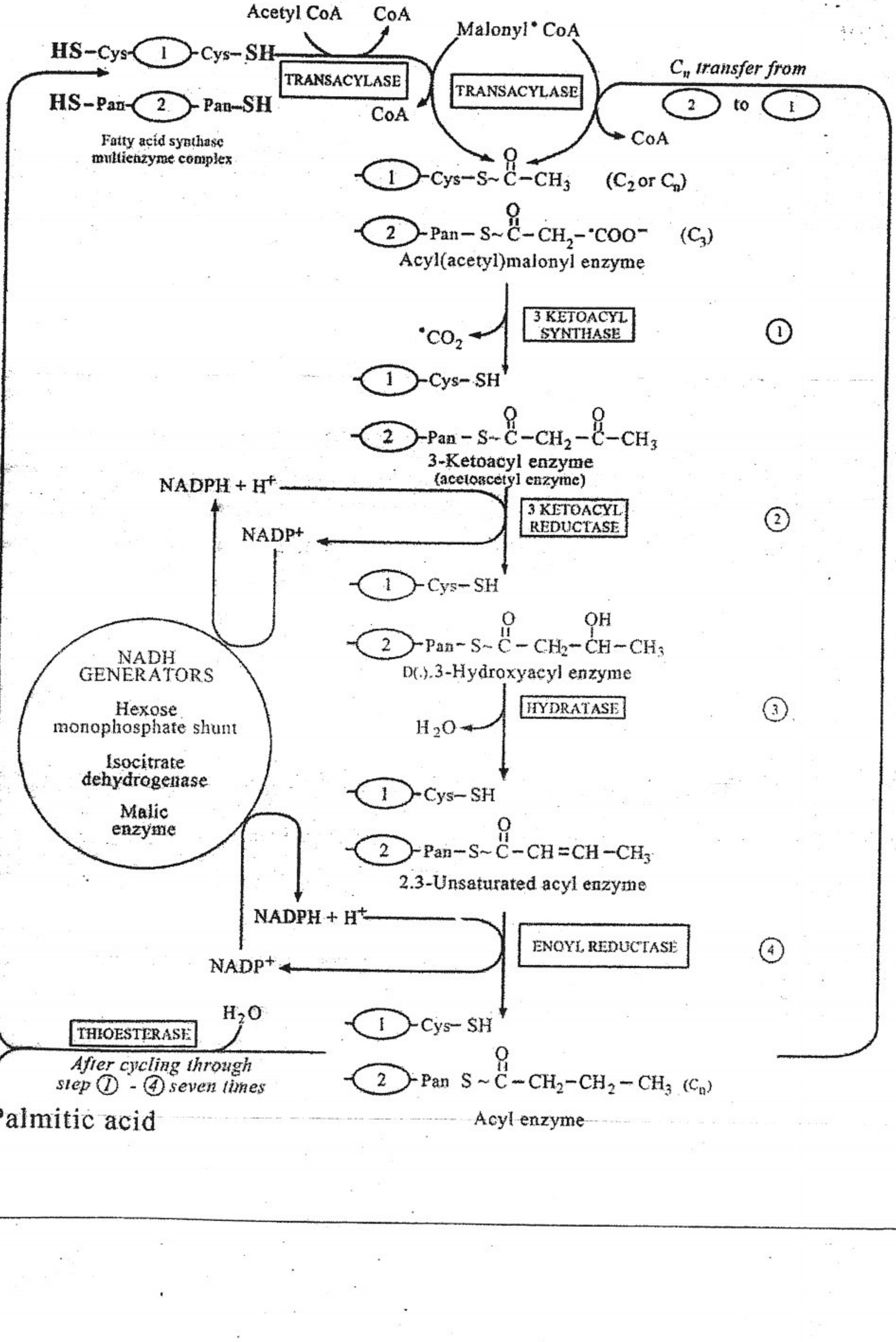


فسفو پنتتئین

توسط سیترات افزایش و توسط پالمیتوییل کوآ (محصول نهایی جریان بیوسنتزاسیدهای چرب) کاهش می یابد. سایر واکنش‌های بیوسنتز اسیدهای چرب توسط یک مجمـــوعه پروتئیـــنی بنـــام کمپـــلکس سینتاز اسیـــد چـــرب (Fatty acid synthase complex) کاتالیز می‌گردند (حاشیه ۴-۲). این مجموعه در باکتری E coli متشکل از شش آنزیم و یک پروتئین دیگر بنام پروتئین حامل اسیل یا ACP (Acyl carrier protein) می‌باشد. در ACP دو عامل تیول (SH-) وجود دارند که نقش مهمی در عملکرد مجموعه فوق ایفا می‌نمایند. یک عـــامل متعلق به یک اسیـــدآمینه سیستئین بوده و عامل دیـــگر متعلق به یک مولکول فسفو پنتتئین (Phosphopantetheine) می‌باشد که از طریق یک اتصال کووالانسی به ACP مرتبط است. فسفو پنتتئین به‌عنوان بازویی عمل می‌نماید که اسکلت کربنی اسید چرب در حال ساخت را حمل نموده و در معرض عمل کاتالیزوری آنزیم‌های مجموعه قرار می‌دهد.

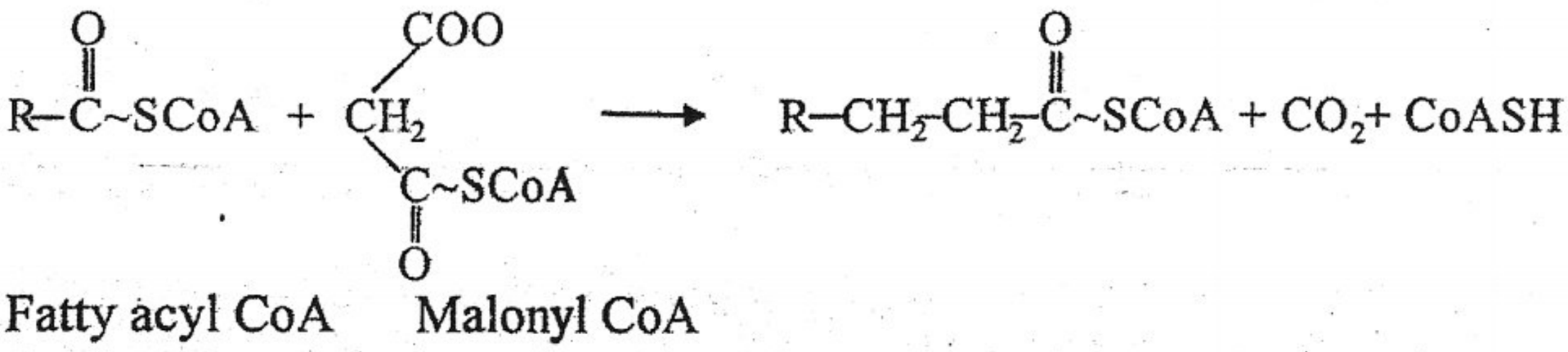
اولین دور عمل کاتالیزوری آنزیم سینتاز اسید چرب با انتقال جزء استیل از استیل کوآ به عامل تیـول سیســـتئین ACP و انتـــقال جزء مـــالونیل از مالونیل کـــوآ به عامل تیول فسفوپنتئین موجود در ACP شروع می‌گردد. سپس جزء مالونیل و جزء استیل در یک واکنش تراکمی شرکت نموده و یک مولکول CO_2 محیط واکنش را ترک و حاصل یک زنجیره چـــهار کربنی خواهـــد بود که دارای یک عامـــل کربونیل (-CO-) می‌باشد. این زنجیره مورد عمل کاتالیزوری آنزیم‌های بعدی قرار گرفته و نهایتاً عامل کربونیل آن به عامل متیلن ($-CH_2-$) احیا شده و بدین ترتیب زنجیره بوتیریل (مربوط به اسید بوتیریک) تکوین میابد. هیدروژن و الکترون لازم برای این عمل احیا از دو مولکول NADPH تأمین می‌گردد. بدین ترتیب دو کربن انتهای متیل زنجیره اسید چرب از استیل کوآ و سایر کربن‌ها از مالونیل کوآ منشأ می‌گیرد. هنگامی‌که طول زنجیره اسید چرب برابر شانزده کربن می‌گردد در این صورت این زنجیره سوبسترای یک آنزیم تیواستراز واقع شده و پیوند تیواستر بین اسید پالمیتیک

حاشیه ۴-۲ واکنش‌های بیوسنتز اسیدهای چرب که توسط کمپلکس سینتاز اسید چرب (Fatty acid synthase complex) کاتالیز می‌گردند.



و فسفوپنتتئین هیدرولیز شده، اسید پالمیتیک آزاد می‌گردد. در غدد شیری آنزیم‌های تیواسترازی وجود دارند که زنجیره اسید چرب نوساز را درتعداد کربن کمتر از شانزده نیز از ACP هیدرولیز نموده و موجب ایجاد اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره در شیر می‌گردند.

افزایش طول زنجیره اسید چرب در میتوکندری و یا در شبکه آندوپلاسمی انجام می‌پذیرد. در این جریان واحدهای دوکربنه از مالونیل کوآ به پالمیتوییل کوآ (شکل فعال پالمیتیک اسید) اضافه می‌شوند. الکترون لازم از NADPH تأمین گردیده و طول زنجیره در مواردی تا ۲۴ کربن افزایش می یابد. اسیدهای چرب کوتاه زنجیره معمولاً در میتوکندری وارد این‌گونه واکنش‌ها می‌شوند با این تفاوت که استیل کوآ به‌عنوان منبع واحدهای دو کربنه مورداستفاده قرار می‌گیرد



ایجاد اتصال دوگانه در زنجیره اسیدهای چرب توسط سیستم آنزیمی غیراشباع کننده اسیل کوآ(Fatty acyl- CoA desaturase) در شبکه آندوپلاسمی سلول‌هایی مانند هپاتوسیت‌های کبد و سلول‌های مغز انجام می‌پذیرد. این آنزیم مانند آنزیم‌های اکسیداز عمل نموده و یک مولکول O_2 را به آب احیاء می‌نماید. الکترون لازم برای احیاء اکسیژن از اکسید شدن اسید چرب و NADPH تأمین می‌گردد. به این سیستم آنزیمی، اکسیداز مختلط (Mixed function oxidase) نیز اطلاق می‌گردد، زیرا به‌طور همزمان دو سوبسترای مختلف را اکسید می‌نماید.

$$CH_3\text{-}(CH_2)_n\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}(CH_2)_n\text{-}COOH + NADPH + H^+ + O_2 \rightarrow$$
$$CH_3\text{-}(CH_2)_n\text{-}CH = CH - (CH_2)_n\text{-}COOH + NADP^+ + 2\ H_2O$$

اما این سیستم آنزیمی در پستانداران قادر به ایجاد اتصال دوگانه در هفت کربن انتهای متیل زنجیره اسید چرب نمی‌باشد؛ بنابراین اسیدهای چرب ω۳ (مانند اسید آلفا لینولنیک $\Delta^{9,12,15}$ ۱۸:۳) و اسیدهای چرب ω۶ (مانند اسیدلینولئیک $\Delta^{9,12}$ ۱۸:۲) در بدن انسان از اسید پالمتیک یا اسید استئاریک تولید نمی‌گردند. درعین‌حال در بدن انسان اسیدهای چرب هم‌خانواده قابل‌تبدیل به یکدیگر هستند. مثلاً اسید لینولئیک قابل‌تبدیل به اسید آراشیدونیک ($\Delta^{5,8,11,14}$ ۲۰:۴) می‌باشد (شکل ۸ـ۲).

تنظیم بیوسنتز اسیدهای چرب را در سه سطح می توان بررسی کرد :

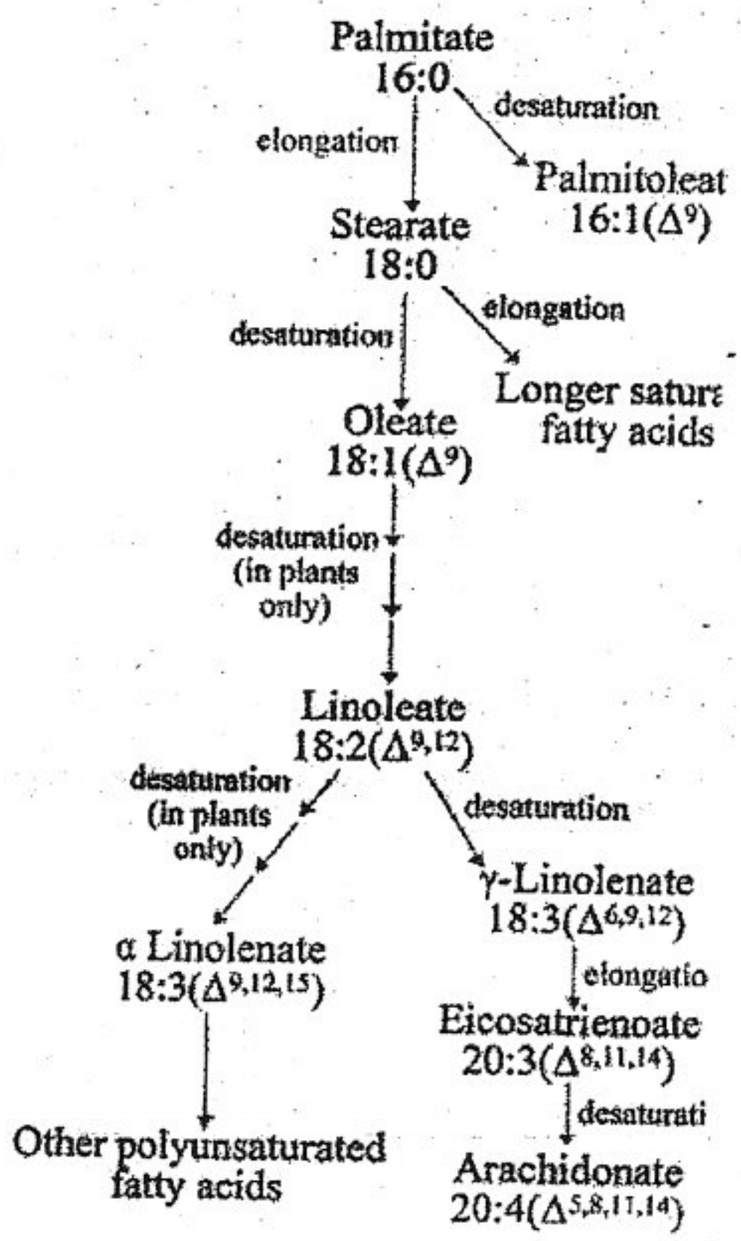
۱. تنظیم آلوستریک(Allosteric regulation) در سطح آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز انجام می‌شود. این آنزیم توسط پالمیتوئیل کوآ یعنی محصول نهایی جریان، **مهار** (مهار فیدبک) و به‌وسیله مولکول سیترات فعال می‌شود تا استیل کوآ حاصل از تجزیه سیترات به‌سرعت توسط آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز به مالونیل کوآ تبدیل شده و وارد مسیر سنتز اسیدهای چرب گردد.

۲. تنظیم هورمونی بیوسنتز اسیدهای چرب در حالت گرسنگی(Starvation) و در حالت سیری(Fed state) به‌طور گسترده مطالعه شده است.

(۱) در شرایط گرسنگی گلوکاگون و اپی‌نفرین به گیرنده‌های خود در سلول‌های کبد و چربی متصل شده و باعث افزایش غلظت cAMP و در نهایت فسفریله شدن وغیرفعال شدن آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز می‌گردند؛ بنابراین در شرایط گرسنگی بیوسنتز اسیدهای چرب مهار می‌گردد.

(۲) در شرایط سیری (Fed state) به علت فراوانی ذخایر کربوهیدرات و تحت تأثیر انسولین مسیر گلیکولیز در سیتوزول و آنزیم پیروات دهیدروژناز در میتوکندری فعال می‌باشند. درنتیجه پیروات به استیل کوآ تبدیل شده و استیل کوآ به‌صورت سیترات در سیتوزول ظاهر می‌گردد. انسولین آنزیم سیترات لیاز را فعال و تبدیل سیترات به استیل کوآ را افزایش می‌دهد. انسولین فعالیت آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز را نیز افزایش داده و درنتیجه تبدیل استیل کوآ به مالونیل کوآ نیز افزایش میابد.

ظهور مالونیل کوآ در سیتوزول دو پیامد در پی دارد. اولاً مالونیل کوآ سوبسترای سیستم آنزیم سینتاز اسید چرب واقع شده و به اسید چرب تبدیل می‌گردد. لازم به ذکر است که فعالیت سینتاز اسید چرب نیز توسط انسولین افزایش میابد. ثانیاً مالونیل کوآ باعث مهار جریان اکسیداسیون اسید چرب می‌گردد. درنتیجه در حالت سیری اکسیداسیون اسیدهای چرب مهار و بیوسنتز چربی افزایش می‌یابد.



شکل ۸ـ۲: تولید اسیدهای چرب غیراشباع از اسید پالمیتیک

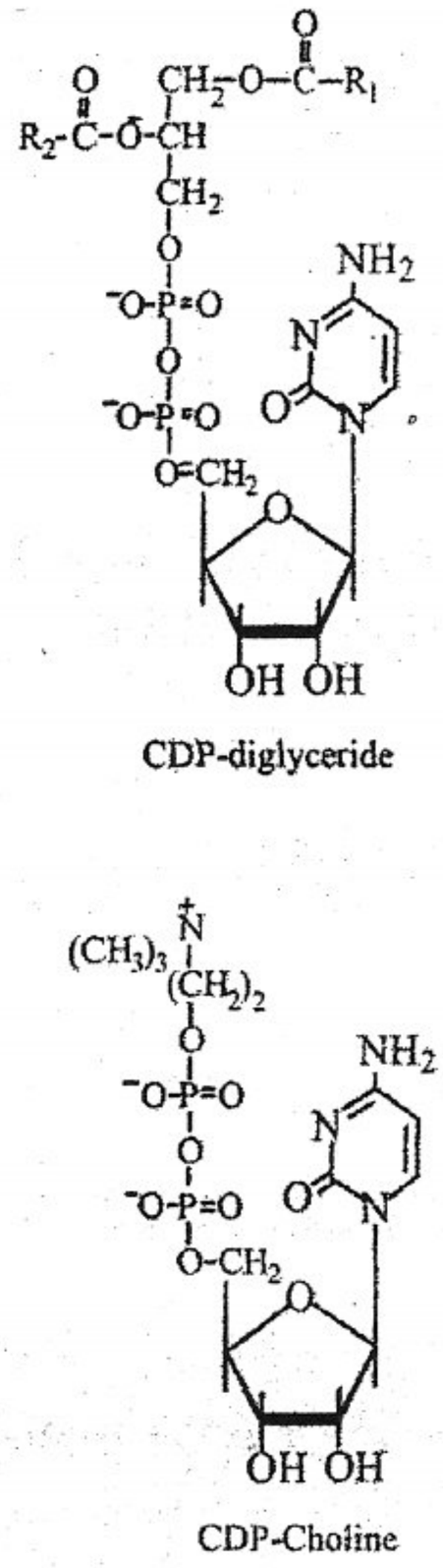
۲ـ۵ـ۲ بیوسنتز تری‌گلیسیریدها و فسفولیپیدها

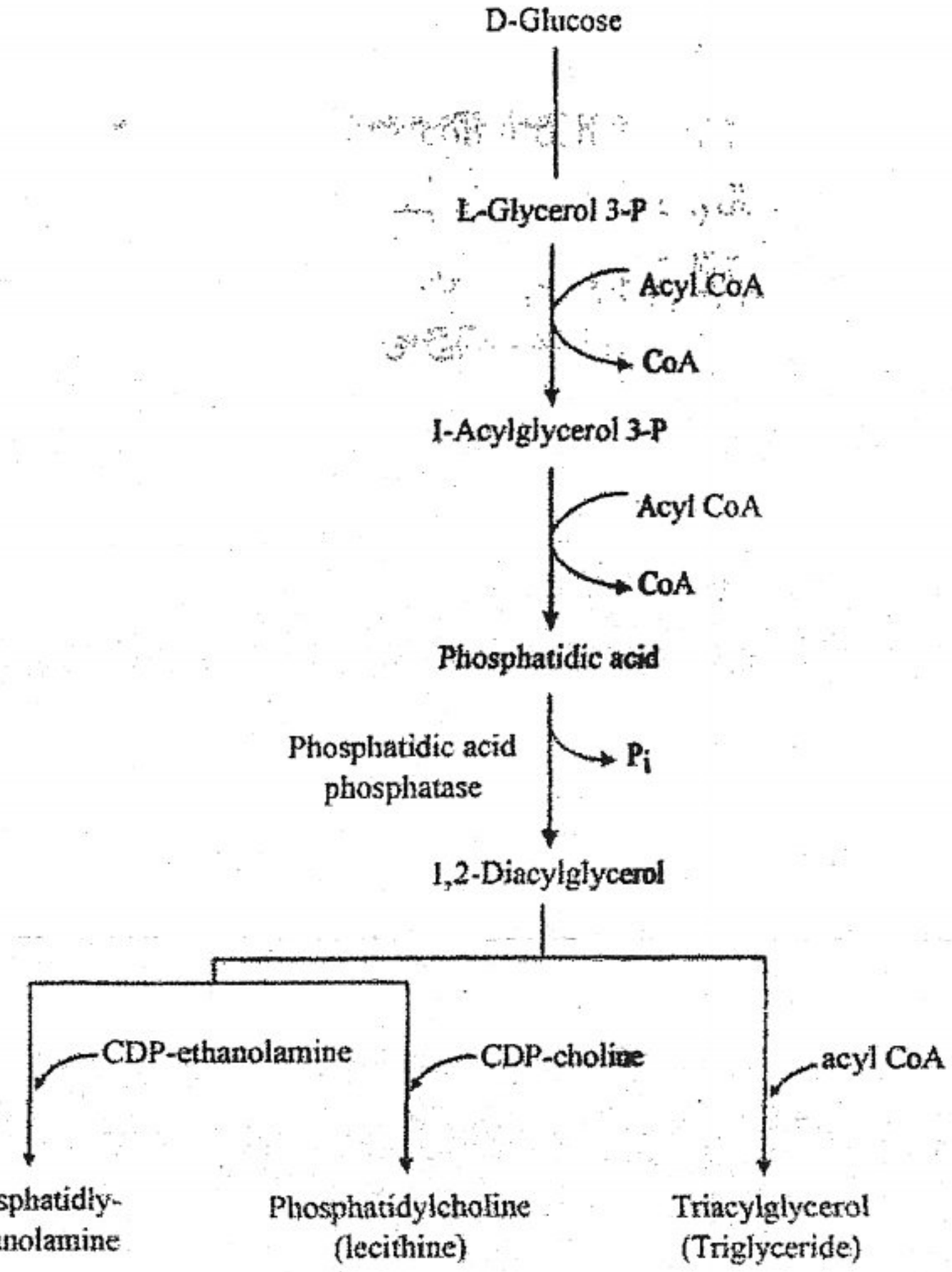
در این روند دو نوع مولکول پیش ساز مشترک مورد استفاده قرار می گیرد (شکل ۹-۲).

۱. اسیل کوآ مربوط به اسیدهای چرب (Fatty acyl-CoA) به‌عنوان فرم فعال اسید چرب

۲. گلیسرول ۳- فسفات (Glycerol ۳-phosphte) به‌عنوان فرم فعال گلیسیرول. یکی از منابع تأمین این مولکول جریان گلیکولیز می‌باشد.

$$\text{Dihydroxyacetone phosphate} + \text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{glycerol 3-phosphate} + \text{NAD}^+$$





شکل ۹ـ۲: بیوسنتز تری‌گلیسریدها و فسفولیپیدها از گلوکز

در این مسیر پس از ترکیب دو مولکول اسیل کوآ با گلیسرول ۳ – فسفات و تشکیل فسفاتیدیک اسید، عامل فسفات این مولکول هیدرولیز شده و دی گلیسیرید حاصل می‌گردد. از ترکیب یک مولکول اسیل کوآ و دی گلیسیرید، تری‌گلیسرید حاصل می‌شود. هنگامی‌که جزء کولین فسفات از مولکول CDP-choline به دی گلیسیرید اضافه شود، فسفاتیدیل کولین ایجاد می‌شود. اگر جزء اتانول آمین فسفات از CDP-ethanolamine به دی گلیسیرید منتقل گردد فسفاتیدیل اتانول آمین حاصل می‌شود. CDP-choline و CDP-ethanolamine اشکال پرانرژی و مولکول‌های ناقل کولین فسفات و اتانول آمین فسفات محسوب می‌گردند.

۳-۵-۲ بیوسنتز کلسترول:

بیوسنتز کلسترول از استیل کوآ در سیتوزول تمامی سلول‌های بدن جریان دارد اما ظرفیت بافت‌های کبد، روده، قشر آدرنال، غدد جنسی و جفت از سایرین بیشتر است. سنتز هر مولکول کلسترول از نظر مصرف ATP و NADPH هزینه سنگینی در بر دارد. بااین‌وجود بدن قادر به استفاده از اسکلت کربنی کلسترول به‌عنوان

منبع سوخت نمی‌باشد. (شکل ۱۰-۲).

مراحل پیچیده جریان بیوسنتز کلسترول را می‌توان در چهار مرحله زیر خلاصه نمود:

مرحله اول: بیوسنتز موالونیک اسید از استیل کوآ می‌باشد. در این جریان از ترکیب سه مولکول استیل کوآ در دو واکنش متوالی ترکیب هیدروکسی متیل گلوتاریل کوآ (HMG-CoA) حاصل می‌گردد. این مولکول تحت تأثیر آنزیم کلیدی HMG-CoA reductase به ترکیب شش کربنی به نام موالونیک اسید تبدیل می‌گردد.

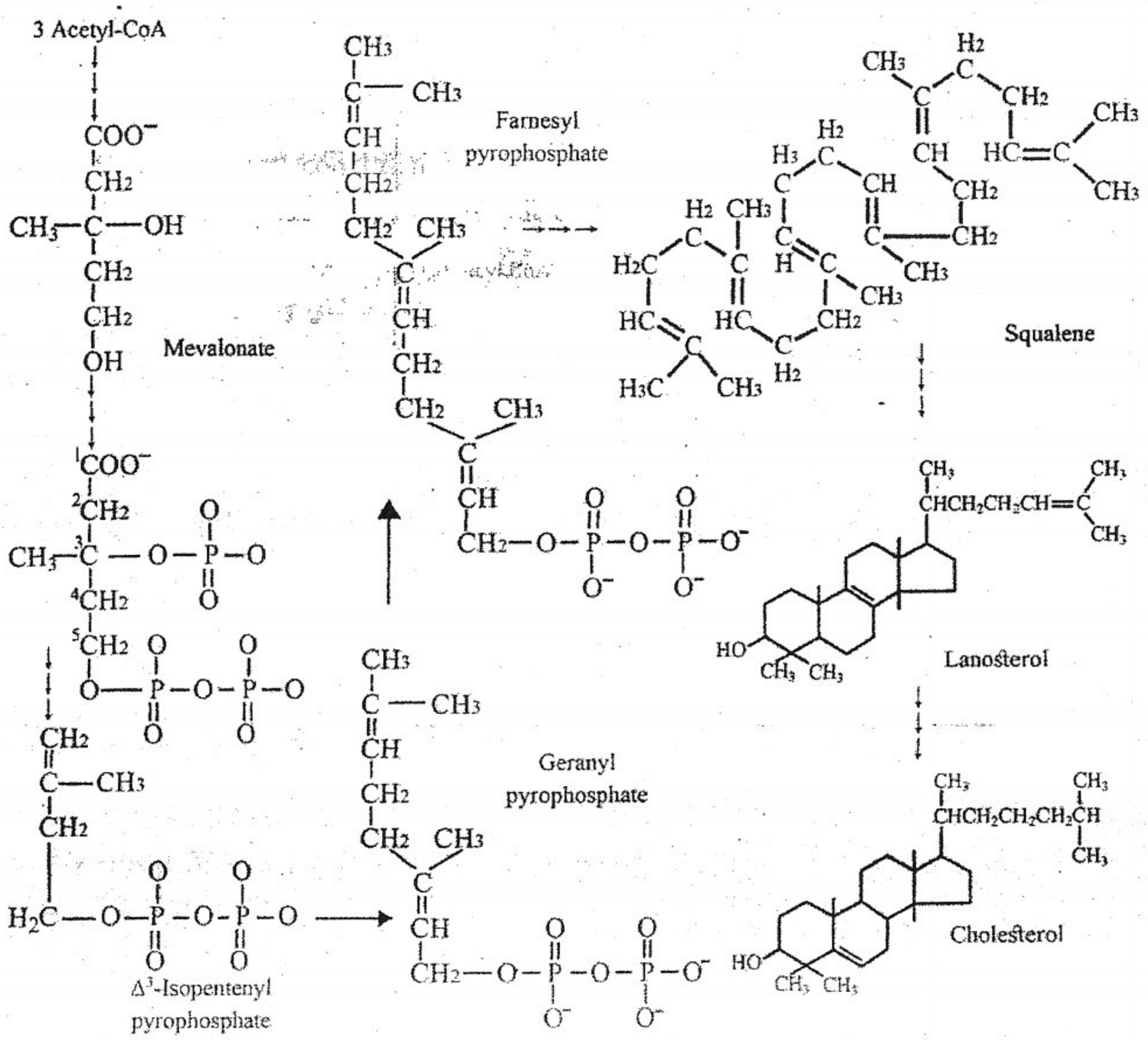
$$\text{HMG-CoA} + 2\,\text{NADPH} + 2\,\text{H}^+ \rightarrow \text{Mevalonate} + 2\,\text{NADP}^+ + \text{CoA-SH}$$

روند بیوسنتز کلسترول در سطح واکنش فوق کنترل می‌گردد. مهار فیدبک آنزیم HMG-CoA reductase توسط کلسترول و برخی مشتقات اکسیژنه کلسترول تنها یکی از راه‌های کنترل فعالیت آنزیم فوق می‌باشد.

مرحله دوم: تبدیل موالونیک اسید به ۳Δ- ایزوپنتنیل پیروفسفات در واکنش‌های متوالی می‌باشد. در این واکنش‌ها سه پیوند پرانرژی فسفات مصرف شده و عامل کربوکسیل موالونیک اسید به‌صورت CO_2 از آن جدا می‌گردد. ۳Δ- ایزوپنتنیل پیروفسفات به‌عنوان شکل فعال واحدهای پنج کربنه ایزوپرن عمل می‌نماید. این ترکیب در گیاهان و باکتری‌ها نیز از یک مسیر متفاوت تشکیل و در جریان تولید ترکیبات ایزو پرنوئید شرکت می‌نماید؛ اما در انسان ترکیب فوق به‌عنوان دهنده واحدهای پنج کربنه در جریان بیوسنتز کلسترول عمل می‌نماید.

مرحله سوم: واکنش‌های متوالی تراکمی واحدهای پنج کربن و تشکیل اشکال فعال ترکیبات ده کربنی ژرانیل پیروفسفات (Geranyl pyrophosphate)، پانزده کربنی (فارنزیل پیروفسفات) و درنهایت ترکیب سی کربنی خطی اسکوالین (Squalene) را شامل می‌گردد. این مسیر در گیاهان و میکروارگانیسم‌ها نیز وجود دارد. اولین بار ژرانیول از روغن گل سرخ و رایحه گل شمعدانی و فارنزول از گل درخت فارنیزآکاسیا استخراج گردیدند.

مرحله چهارم: شامل تبدیل اسکوالین به کلسترول در سلول‌های حیوانی می‌شود. اسکوالین در میکروارگانیسم‌ها به ارگوسترول(Ergosterol) و در گیاهان به استرول‌های گیاهی تبدیل می‌گردد.



شکل ۱۰ـ۲: بیوسنتز کلسترول

تنظیم بیوسنتز کلسترول از راه‌های مختلف انجام می‌شود:

تنظیم آلوستریک: در سطح واکنش تبدیل HMG-CoA به موالونات انجام می‌شود. کلسترول و برخی مشتقات اکسیژنه کلسترول به‌صورت فیدبک آنزیم HMG-CoA reductase را مهار می‌نمایند. موالونات نیز به‌واسطه شباهت به HMG-CoA به‌طور رقابتی این آنزیم را مهار می‌نماید (Product inhibition). دو محصول دارویی لوستاتین (Lovastatin) و کمپکتین(Compactin) که بدواً از قارچ‌ها استخراج شدند، در ساختمان خود دارای ناحیه‌ای شبیه به موالونات بوده و بنابراین از مهارکننده‌های دارویی مؤثر HMG-CoA reductase می‌باشند.

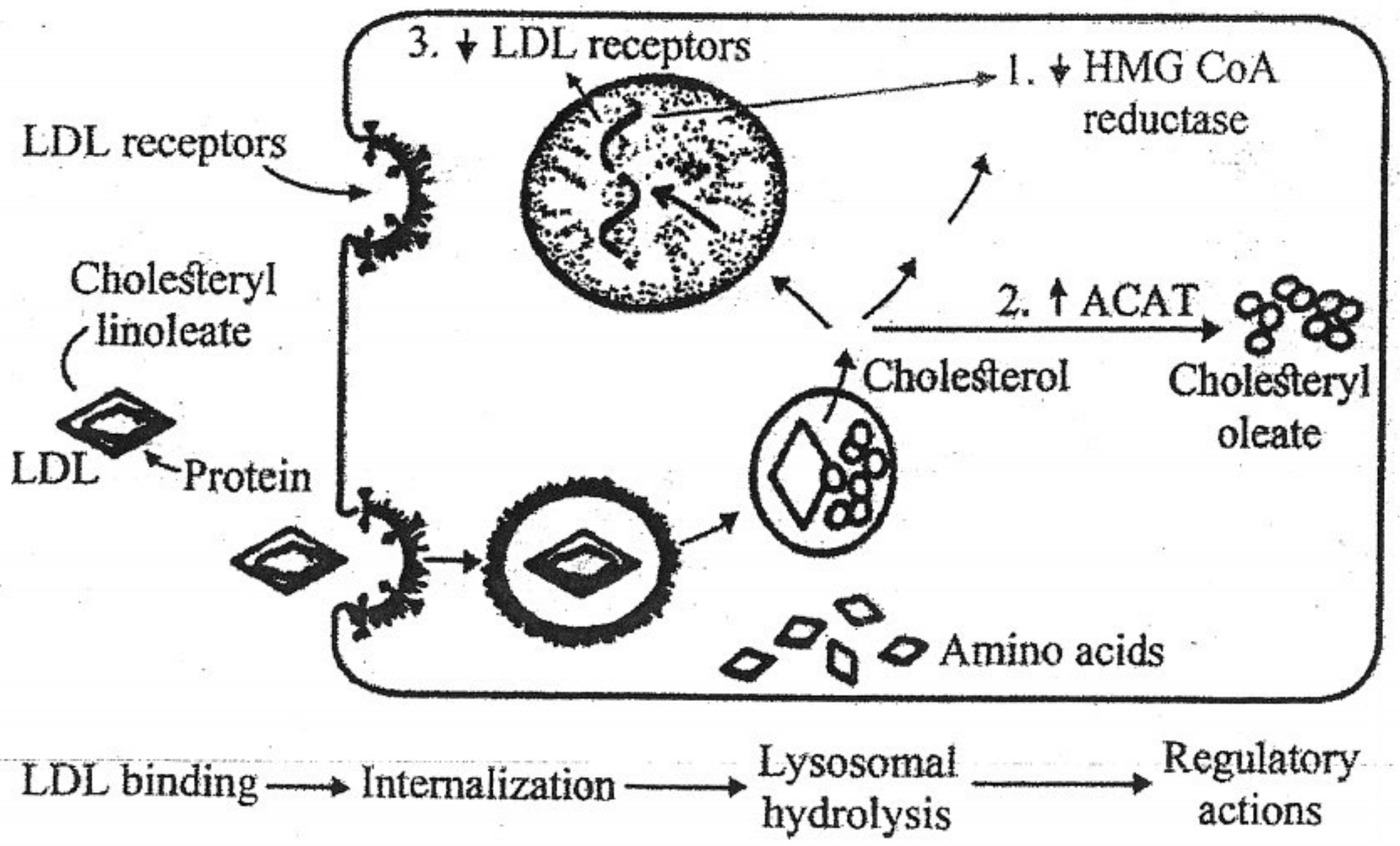
تنظیم هورمونی بیوسنتز کلسترول شامل فسفریله شدن و غیرفعال شدن HMG-CoA reductase تحت تأثیر گلوکاگون و بالعکس دفسفریله شدن (جدا شدن مولکول فسفات) آنزیم و فعال شدن آن تحت تأثیر انسولین می‌گردد.

تنظیم بیوسنتز کلسترول از طریق تنظیم تعداد گیرنده‌های LDL در سطح سلول‌ها انجام می‌پذیرد (شکل ۱۱ـ۲). به دنبال اتصال apoB100 موجود در LDL به گیرنده‌های آن در سطح سلول‌های بدن مجموعه‌های LDL- گیرنده در مواضع خاصی در سطح سلول مجتمع شده و سپس در این ناحیه از غشاء فرورفتگی ایجاد می‌گردد. این فرورفتگی‌ها عمیق شده و سطح آن‌ها از درون سلول توسط شبکه‌ای از پروتئین کلاترین (Clathrin) پوشیده می‌شود (Coated Pits). سرانجام این ساختار به درون سلول وارد شده و ایجاد اندامک‌هایی بنام اندوزوم (Endosome) می‌نماید. تعدادی از گیرنده‌های apoB100 از اندوزوم‌ها مجدداً به سطح سلول راه میابند؛ اما غشاء اندوزوم‌ها می‌تواند بالیزوزوم‌ها هم‌جوشی نموده و بدین ترتیب محتویات اندوزوم شامل مجموعه‌های LDL- گیرنده تحت تأثیر آنزیم‌های هیدرولیتیک لیزوزومی قرار گرفته و به موکول‌های تشکیل‌دهنده خود من‌جمله کلسترول آزاد تجزیه گردند. کلسترول آزاد از لیزوزوم خارج شده و به منبع درون‌سلولی کلسترول آزاد ملحق می‌گردد. اصولاً افزایش کلسترول آزاد درون‌سلولی سه پیامد بیوشیمیایی مهم در پی دارد.

۱. آنزیم HMG-CoA reductase به‌صورت فیدبک مهار می‌شود تا از بیوسنتز بیشتر کلسترول جلوگیری گردد.

۲. روند ذخیره کلسترول به‌صورت استر کلسترول در سلول تقویت می‌گردد تا کلسترول آزاد در سلول انباشته نشود زیرا کلسترول آزاد می‌تواند به غشاءهای سلولی وارد شده، سیالیت(Fluidity) آن‌ها را تغییر داده و نهایتاً در عملکرد صحیح غشاء اختلال ایجاد نماید.

۳. از فعال شدن و انتقال یک فاکتور نسخه‌برداری از سیتوپلاسم به هسته جلوگیری می‌گردد. این فاکتور پروتئینی به ردیف‌های نوکلئوتیدی خاصی از DNA متصل



شکل ۱۱-۲: نقش تنظیمی کلسترول موجود در LDL

شده و بدین ترتیب نسخه‌برداری از بیش از ۲۰ ژن که در بیوسنتز و جذب کلسترول به درون سلول دخالت دارند را کنترل می‌نماید. ژن HMG-CoA reductase و ژن گیرنده‌های apoB100 در زمره این ژن‌ها هستند. نتیجه نهایی اثر کلسترول بر بیان این ژن‌ها کاهش میزان HMG-CoA reductase و کاهش تعداد گیرنده‌های apoB100 در سلول می‌باشد، بنابراین از ورود LDL بیشتر به سلول و انباشته شدن کلسترول در سلول‌ها جلوگیری می‌گردد.

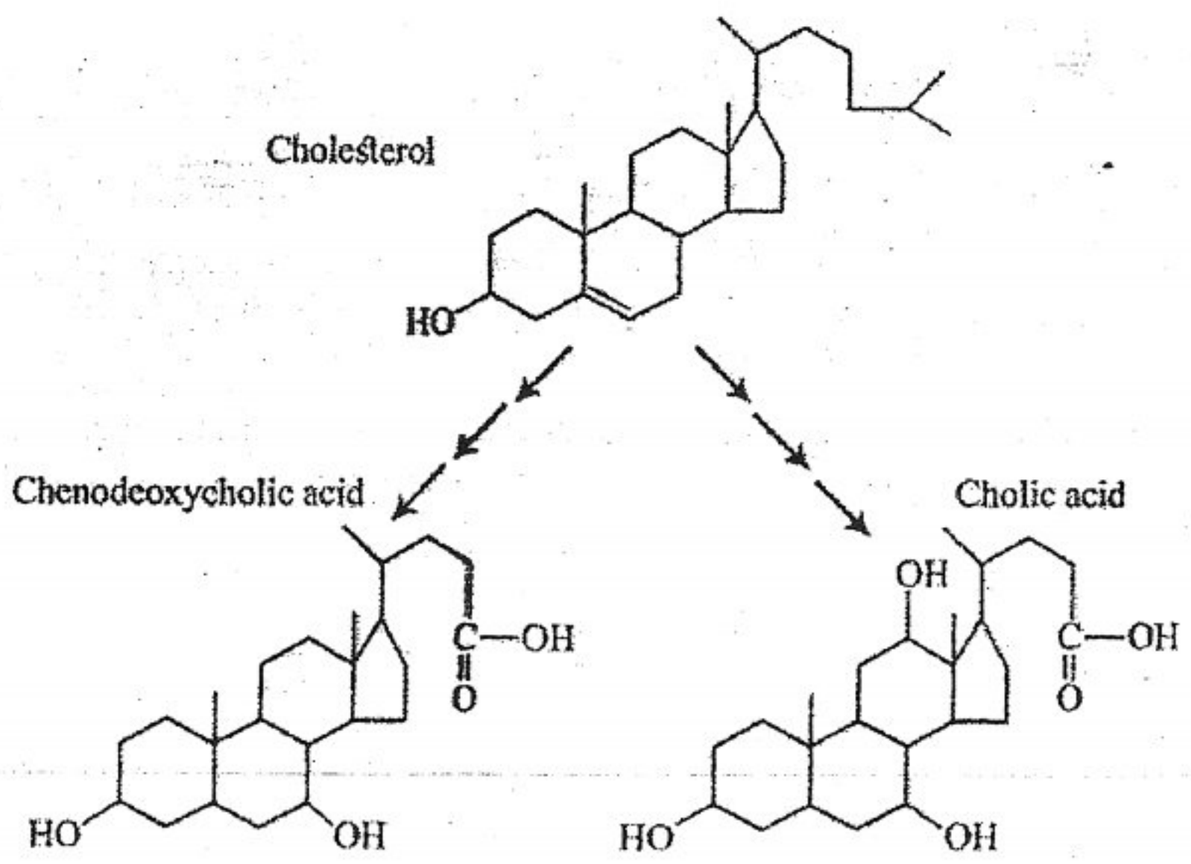
۴-۵-۲ بیوسنتز املاح صفراوی:

تبدیل کلسترول به املاح صفراوی (شکل ۱۲ـ۲) مهم‌ترین راه دفع اسکلت کربنی کلسترول از بدن است؛ زیرا اسکلت کربنی کلسترول نمی‌تواند وارد مسیر کاتابولیسم شده، به‌عنوان منبع سوخت مورداستفاده قرار گرفته و به CO_2 و H_2O تبدیل شود. در اولین واکنش مسیر تولید املاح صفراوی، کلسترول سوبسترای آنزیم ۷-آلفا هیدروکسیلاز(۷-α hydroxylase) واقع شده و هرکدام از دو مشتق هیدروکسیل‌دار کلسترول (3,7 dihydroxy cholesterol و یا 3,7,12 trihydroxycholesterol) تولید می‌گردند.

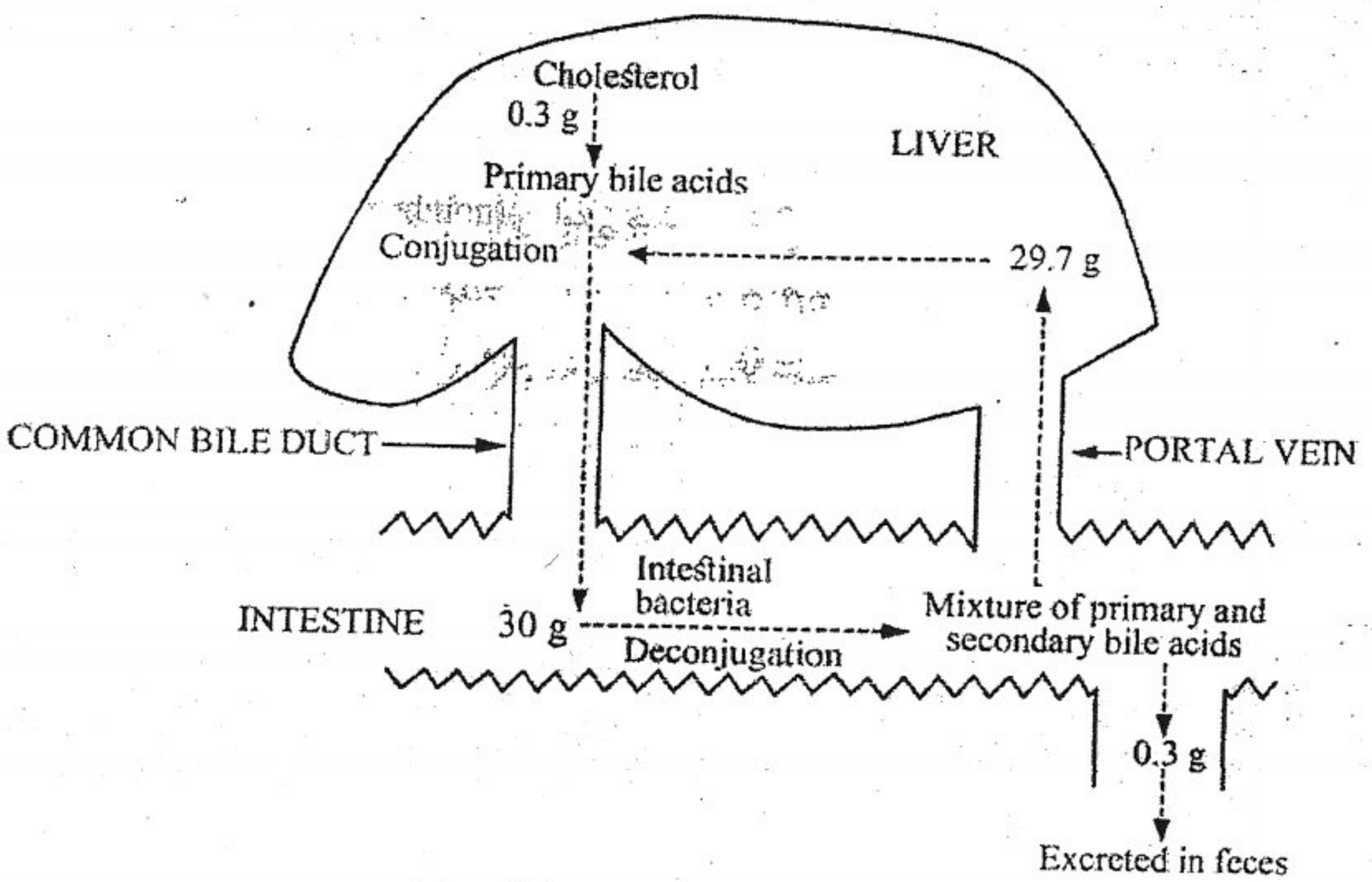
$$\text{Cholesterol} + \text{NADPH} + H^+ + O_2 \rightarrow$$

$$\text{3,7 dihydroxy cholesterol} + NADP^+ + H_2O$$

۷- آلفا هیدروکسیلاز آنزیم کلیدی این مسیر بوده و به‌صورت فیدبک توسط املاح صفراوی مهار می‌گردد. واکنش‌های بیشتری بر دو محصول فوق انجام شده و نهایتاً زنجیره هیدروکربنی موجود در کربن شماره ۱۷ آن‌ها اکسیده و کوتاه شده و یک عامل کربوکسیل در آن ایجاد می‌گردد. بدین ترتیب ۳ و ۷ دی هیدروکسی کلسترول به کینوداوکسی کولیک اسید (Chenodeoxy cholic acid) و ۳ و ۷ و ۱۲ تری‌هیدروکسی کلسترول

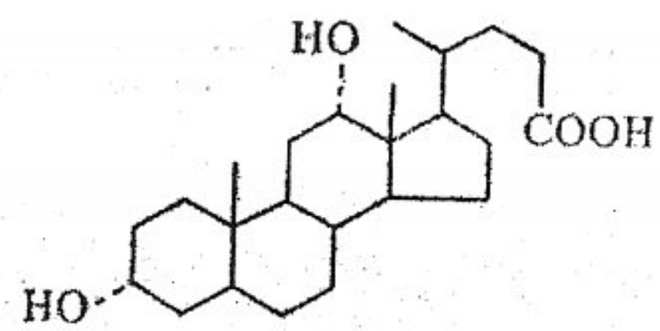


شکل ۱۲ـ۲ بیوسنتز املاح صفراوی

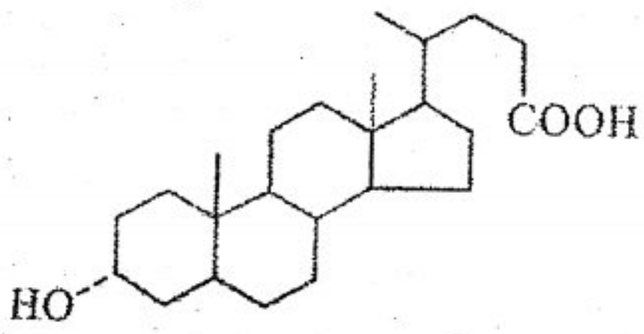


شکل ۱۳-۲ گردش روده‌ای کبدی املاح صفراوی

به کولیک اسید (Cholic acid) تبدیل می‌گردند. به این دو محصول املاح صفراوی اولیه (Primary bile salts) گفته می‌شود. عوامل کربوکسیل این دو ترکیب می‌توانند با عوامل آمین دو اسیدآمینه گلیسین و یا اسیدآمینه غیر پروتئین گوگرددار بنام تارین (Taurine) پیوند آمید ایجاد نموده و املاح صفراوی اصطلاحاً کانژوگه (Conjugated) حاصل شوند. املاح صفراوی اولیه وارد صفرا و روده شده و تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها پیوندهای آمید در گلیسین و تارین هیدرولیز شده و هرکدام از املاح صفراوی اولیه یک عامل هیدروکسیل ازدست‌داده و به املاح صفراوی ثانویه (Secondary bile salts) تبدیل می‌گردند



Deoxycholic acid



Lithocholic acid

گردش روده‌ای کبدی املاح صفراوی (Entero-hepatic circulation):

در کبد انسان روزانه حدود ۳۰ گرم کلسترول به املاح صفراوی اولیه تبدیل شده که پس از ورود به روده قسمتی از آن باز جذب و قسمتی دیگر به املاح صفراوی ثانویه تبدیل می‌گردد. بخشی از املاح صفراوی ثانویه نیز از مدفوع دفع شده و بخشی دیگر از روده جذب و پس از ورود به کبد وارد صفرا و مجدداً وارد روده می‌گردند. به‌طوری‌که روزانه حدود ۲۹/۷ گرم املاح صفراوی ثانویه و اولیه از روده به کبد وارد شده و به همراه ۰/۳ گرم املاح صفراوی اولیه نوساز مجدداً به روده وارد می‌گردند؛ بنابراین روزانه حدود ۳۰ گرم املاح صفراوی اولیه و ثانویه از صفرا به روده وارد می‌گردند. حدود ۲۹/۷ گرم آن باز جذب شده و حدود ۰/۳ گرم آن دفع مـــــی‌گردد (شکل ۱۳-۲) کنترل روند بیوسنتز املاح صفراوی در سطح آنزیم ۷- آلفا هیدروکسیلاز انجام می‌شود. فعالیت این آنزیم به دو عامل بستگی دارد:

۱. **غلظت سوبسترای آنزیم:** با افزایش میزان کلسترول موجود در سلول‌های کبد تولید املاح صفراوی نیز افزایش میابد.

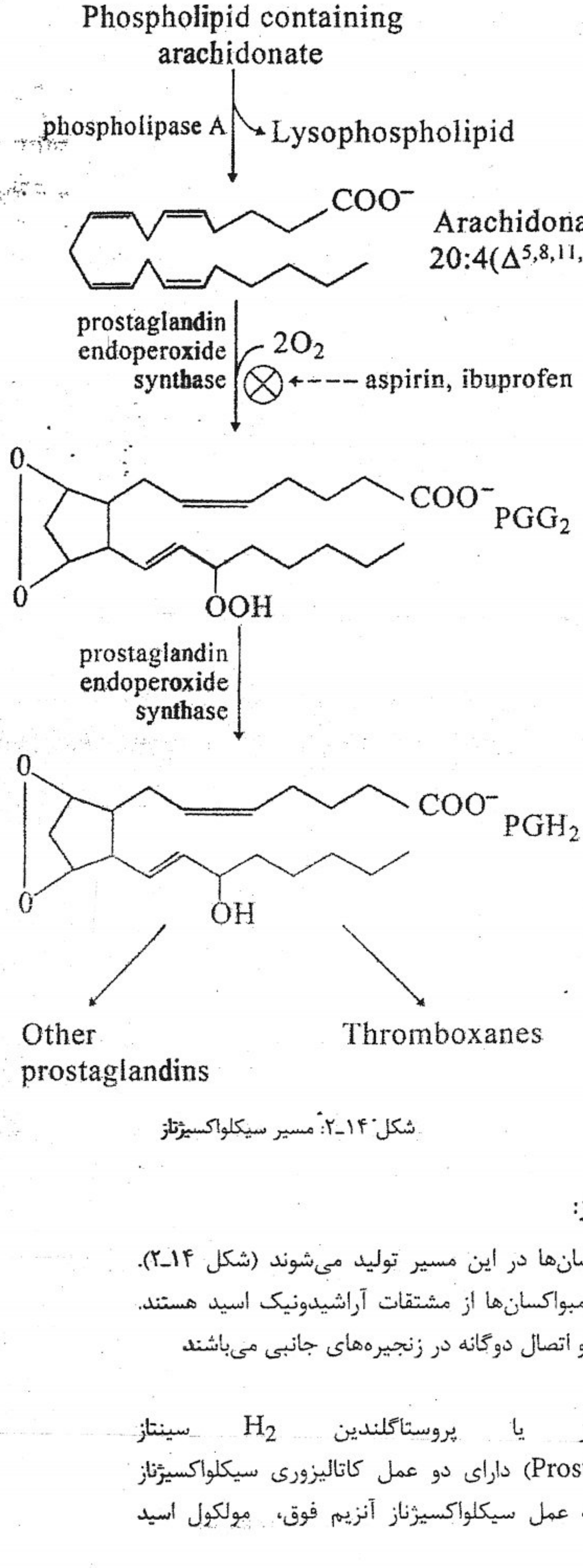
۲. **غلظت محصولات آنزیم:** با افزایش میزان املاح صفراوی موجود در کبد فعالیت آنزیم ۷- آلفا هیدروکسیلاز به‌صورت فیدبک کاهش یافته و تولید املاح صفراوی نیز کاهش میابد و برعکس؛ بنابراین از رزین‌های جاذب املاح صفراوی مانند کلستیرامین (Cholestyramine) به‌منظور کاهش کلسترول خون استفاده می‌گردد. کلستیرامین با اتصال به املاح صفراوی از باز جذب آن‌ها جلوگیری می‌نماید؛ بنابراین میزان املاح صفراوی وارد شده به کبد کاهش یافته، مهار از آنزیم ۷- الفا هیدورکسیلاز برداشته شده و تبدیل کلسترول به املاح صفراوی افزایش میابد. املاح صفراوی افزایش یافته به روده وارد شده پس از اتصال به کلستیرامین دفع می‌گردند. درنتیجه تجویز کلستیرامین باعث افزایش دفع اسکلت کربنی کلسترول از بدن و کاهش میزان کلسترول خون می‌گردد.

تشکیل سنگ‌های صفراوی(Cholelithiasis):

املاح صفراوی به همراه فسفولیپیدها و کلسترول آزاد میسل‌های مختلط موجود در صفرا را تشکیل می‌دهند. کلسترول حلالیت ناچیزی در آب دارد ولی با الحاق به میسل‌های مختلط حلالیت آن افزایش میابد، اما ظرفیت میسل‌های مختلط در پذیرش کلسترول محدود می‌باشد. اگر میزان کلسترول وارد شده به صفرا فراتر از این ظرفیت باشد در این صورت مازاد کلسترول اطراف یک هسته اولیه از جنس بیلی‌روبین و بعضی پروتئین‌ها رسوب نموده و با رشد این رسوب اولیه سنگ‌های صفراوی تشکیل می‌گردند.

۲-۶ متابولیسم ایکوزانوئیدها(Eicosanoids):

ایکوزانوئیدها دسته مهمی از مولکول‌های پیام‌رسان زیستی هستند که اثر خود را به‌صورت موضعی و در محل ترشح خود ایجاد می‌نمایند. این موکول‌ها محصول دو مسیر بیوشیمیایی هستند که با اثر کاتالیزوری دو آنزیم سیکلواکسیژناز (Cyclooxygenase = COX) و لیپواکسیژناز (Lipoxygenase) بر اسیدهای چرب ۲۰ کربنی شروع می‌گردد. جریان بیوسنتز ایکوزانوئیدها هنگامی شروع می‌شود که یک محرک خارجی گیرنده‌های خاصی را در سطح سلول‌ها تحت تأثیر قرار می‌دهد. مثلاً هنگامی‌که ترومبین به گیرنده‌های خود در سطح پلاکت‌ها متصل می‌گردد. در این شرایط آنزیم غشایی فسفولیپاز A2 فعال شده و واکنش هیدرولیز اسید چرب موجود در کربن شماره ۲ فسفولیپیدهای غشاء را کاتالیز می‌نماید. این اسیدهای چرب معمولاً غیراشباع بوده و در غالب موارد آراشیدونیک اسید می‌باشند. بدین ترتیب سوبسترای اصلی مسیر بیوسنتز ایکوزانوئیدها فراهم می‌گردد. داروهای ضدالتهاب استروئیدی (Steroidal anti-inflammatory drugs) مانند هیدورکورتیزون، بتامتازون و پردنیزون از فعال شدن فسفولیپاز A2 و آزاد شدن اسید آراشیدونیک ممانعت می‌نمایند.



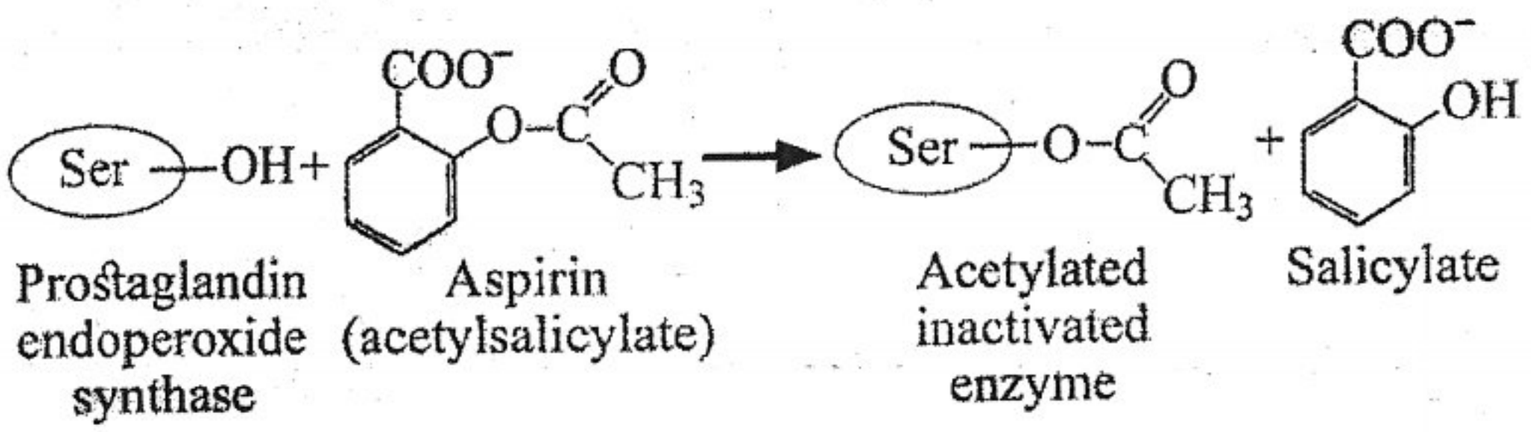
شکل ۱۴ـ۲: مسیر سیکلواکسیژناز

۱ـ۶ـ۲ مسیر سیکلواکسیژناز:

پروستاگلندین‌ها و ترومبواکسان‌ها در این مسیر تولید می‌شوند (شکل ۱۴ـ۲). پروستاگلندین‌های عمده و ترومبواکسان‌ها از مشتقات آراشیدونیک اسید هستند. ایکوزانوئیدهای سری ۲ دارای دو اتصال دوگانه در زنجیره‌های جانبی می‌باشند

آنزیم سیکلواکسیژناز یا پروستاگلندین H_2 سینتاز (Prostaglandin H_2 synthase) دارای دو عمل کاتالیزوری سیکلواکسیژناز و پراکسیداز می‌باشد. به‌واسطه عمل سیکلواکسیژناز آنزیم فوق، مولکول اسید

آراشیدونیک بر روی خود تاخورده و در محل تاخوردگی یک حلقه پنج‌ضلعی ایجاد می‌گردد. ضمناً یک مولکول اکسیژن به‌صورت اندوپراکسید (-O-O-) در حلقه پنج‌ضلعی و یک مولکول اکسیژن به‌صورت هیدروپراکسی (OOH-) در کربن شماره ۱۵ اسید آراشیدونیک جایگزین می‌گردند. محصول این واکنش PGG2 می‌باشد. خاصیت سیکلواکسیژناز آنزیم فوق به عامل هم (Heme) به‌عنوان کوفاکتور نیاز دارد. تحت تأثیر عمل پراکسیدازی سیکلواکسیژناز عامل هیدروپراکسی کربن شماره ۱۵ در PGG2 به هیدروکسیل تبدیل شده و PGH2 تولید می‌گردد. آسپرین یا استیل سالسیلات (Acetyl salycilate) باعث اتصال جزء استیل به عامل هیدروکسیل یک اسیدآمینه سرین در جایگاه فعال سیکلواکسیژناز و مهار غیر برگشت‌پذیر این آنزیم می‌گردد.

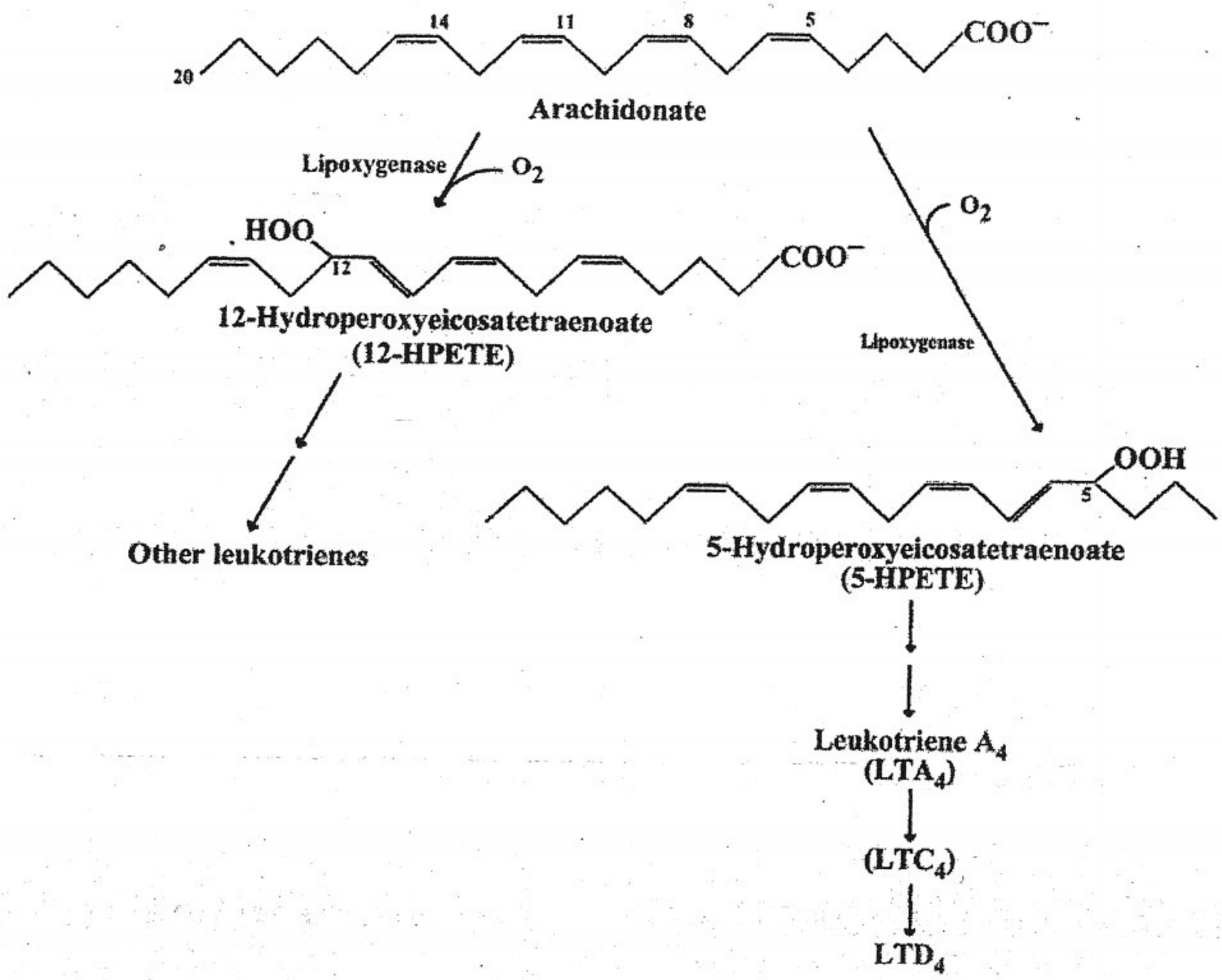


PGH2 در واکنش‌های بعدی به سایر پروستاگلندین‌ها و نیز ترومبواکسان A2 تبدیل می‌گردد. نوع پروستاگلندین تولید شده در هر سلول بستگی به ماهیت آنزیم‌هایی دارد که PGH2 را تحت تأثیر قرار می‌دهند. مثلاً پلاکت‌ها دارای آنزیم ترومبواکسان سینتاز (Thromboxane synthase) می‌باشند که واکنش تبدیل PGH2 به TXA2 را کاتالیز می‌نماید.

غیرفعال‌سازی پروستاگلندین‌ها ظرف مدت کوتاهی پس از ترشح آن‌ها انجام می‌شود. این جریان شامل تبدیل عامل هیدروکسیل کربن شماره ۱۵ به عامل کتو و یا ایجاد بتا اکسیداسیون در انتهای کربوکسیل زنجیره جانبی پروستاگلندین می‌باشد.

۲-۶-۲ مسیر لیپوکسیژناز (Lipoxygenase):

لوکوتری ان‌ها (Leukotrienes) محصولات مسیر لیپوکسیژناز هستند. آنزیم‌های لیپوکسیژناز یک مولکول اکسیژن را به‌صورت عامل هیدروپراکسی به یک اتم کربن حامل اتصال دوگانه اضافه می‌نمایند. ضمناً اتصال دوگانه را به کربن مجاور منتقل می‌کنند. آنزیم‌های لیپوکسیژناز بر اساس شماره کربن هدف آن‌ها در مولکول اسید آراشیدونیک مشخص می‌شوند. با انجام واکنش‌های بیشتری بر محصولات عمل این آنزیم‌ها، لوکوتری ان‌های مختلف ایجاد می‌شوند. مولکول‌های لوکوتری ان غالباً دارای چهار اتصال دوگانه هسند که سه اتصال دوگانه نسبت به هم در وضعیت کانژوگه (Conjugated –C=C-C=C-) می‌باشند، درحالی‌که در ساختمان اسید آراشیدونیک یک عامل متیلن (CH_2) بین دو اتصال دوگانه



شکل ۱۹ـ۲: مسیر لیپواکسیژناز

قرار دارد (Unconjugated $-C=C-CH_2-C=C-$). برخی از خواص زیستی لوکوتری ان‌ها عبارتند از: دخالت در پدیده شیموتاکسی (حرکت سلول در جهت شیب غلظت یک ماده)، التهاب و واکنش‌های آلرژیک. مثلاً LTB4 که در مواضع التهاب ترشح می‌گردد؛ بنابراین در این مواضع تعداد زیادی نوتروفیل وائوزینوفیل وجود دارند. LTC4 و LTD4 اوکوتری ان های دیگری هستندکه باعث انقباض عضلات صاف می‌شوند، هنگامی‌که این لکوتری ان ها عضلات مجاری هوایی ریه را منقبض می‌کنند، آن مجاری تنگ می‌شوند. در چنین مواردی تأثیر LTC4 و LTD4 هزار برابر از هیستامین قوی تراست. همچنین، لوکوتری ان‌ها با تأثیر بر جداره عروق باعث افزایش تراوایی و قطر آن‌ها و درنتیجه ایجاد خیز (Edem) و قرمزی در محل التهاب نیز می‌گردند.

۱۰ـ۲ سوالات

۱-۱۰-۲ بازده انرژی اکسیداسیون اسید پالمیتیک (Energy yield of palmitic acid oxidation) را محاسبه نمائید:

الف) از اکسیداسیون کامل اسید پالمیتیک در بدن معادل چند پیوند پر انرژی فسفات ذخیره می گردد.

ب) اگر انرژی احتراق (Energy of combustion) اسید پالمتیک برابر ۹۷۹۱ KJ/mol باشد. در این‌صورت از سوختن(اکسیداسیون کامل) هر گرم اسید پالمیتیک (MW=۲۵۸ g/mol) در بدن چند کیلو کالری انرژی حاصل می‌گردد.

ج) بازده سلول در ذخیره انرژی حاصل از اکسیداسیون کامل اسید پالمیتیک به صورت پیوند انرژی فسفات را محاسبه نمائید.

۲-۱۰-۲ سئوالات متفرقه

۲- تمامی ترکیبات زیر در میسل های مختلط (Mixed micells) موجود درروده یافت میشوند باستثنای:

الف) استر کلسترول

ب) مونو گلیسرید

ج) املاح صفراوی

د) لیزولسیتین

۳- تمامی واکنش‌های زیر مربوط به تولید اجسام ستنی در کبد می‌گردند باستثنای:

الف- $HMGCoA \rightarrow Acetoacetate + AcetylCoA$

ب- $Acetoacetate + SuccinylCoA \rightarrow AcetoacetylCoA + Succnate$

ج- $Acetoacetate + NADH + H^{+} \rightarrow 3\text{-}Hydroxybutyrate + NAD^{+}$

د- $2AceylCoA \rightarrow AcetoacetylCoA + CoA\text{-}SH$

۴- استیل کوا لازم جهت بیوسنتز اسیدهای چرب در سیتوزول از کدامیک از ملکول‌های زیر تامین می‌گردد.

الف) پیروات ب) سیترات

ج) مالات د) اگزالواستات

۵- در پی اتصال LDL به گیرنده‌های خود در سطح سلول ها کدامیک از رویدادهای زیر در سلول رخ می‌دهد.

الف) مهار آنزیم HMGCoA reductase توسط کلسترول آزاد

ب) افزایش تعداد گیرنده های LDL در سطح سلول

ج) کاهش جریان تبدیل کلسترول آزاد به استر کلسترول

د) تمام رویدادهای فوق

۶-اسکلت کربنی لینولئیک اسید ($18:cis,cis\Delta^{6,9}$) در مسیر تبدیل خود به ترومبواکسان A_2 (TXA_2) در تمامی ملکول های زیر ظاهر می گردد

باستثنای :

الف- Acrachidonic acid

ب - PGG_2

ج - PGH_2

د - PGI_2

۷-اسکلت کربنی یک اسید چرب در روند تبدیل به کلسترول، در تمامی ملکول های سمت چپ ظاهر می گردد. کدامیک از ردیف های زیر (از چپ به راست) بیانگر ترتیب صحیح این روند میباشد.

a) acetoacetyl CoA
b) acetyl CoA
c) mevalonic acid
d) HMG CoA

الف- b, a, d, c

ب - a, b, c, d

ج - b, a, c, d

د - a, b, d, c

۸-در حالت سیری (Fed state) سرعت کدامیک از واکنش های زیر افزایش میابد:

الف- $Acetoacete + NADH \rightarrow \beta\text{-hydroxybutyrote} + NAD^+$

ب - $R\text{-}CH_2\text{-}CH_2\text{-}CO\sim SCoA + FAD \rightarrow R\text{-}CH{=}CH\text{-}CO\sim SCoA + FADH_2$

ج - $Citrate + HS\sim CoA + ATP \rightarrow AcetylCoA + Oxaloacetate + ADP + Pi$

د - $acyl\sim SCoA + Carnitine \rightarrow acyl\sim carnitine + CoA - SH$

۳-۱۰-۲ کمبود آنزیم MCAD

(Medium-chain acyl-CoA dehydrogenase)

متن زیر از کتاب بیوشیمی دولین (Devlin Textbook of Biochemistry 7th edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه این متن، انتظار میرود بتوانید موارد ذیل را توضیح داده و به سوالات زیر پاسخ دهید. این مطالب در زمره بخش های ضروری درس متابولیسم چربی است

- اساس بیوشیمیایی عوارض کمبود MCAD
- روش های تشخیص و درمان کمبود MCAD

Genetic Deficiencies in the Acyl-CoA Dehydrogenases

Deficiencies in the acyl-CoA dehydrogenases represent a recently discovered group of inherited disorders that affect the first reaction in the β-oxidation of fatty acids. Patients with mutations that affect enzymes with specificity for different chain length have been described. These include very long-chain acyl-CoA dehydrogenase (VLCAD), long-chain acyl-CoA dehydrogenase (LCAD), medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD), and short-chain acyl-CoA dehydrogenase (SCAD). Patients with these autosomal recessive mutations share many of the same clinical features. The best characterized is MCAD deficiency which, though first recognized in 1982, is among the most common of all inborn errors of metabolism.

MCAD deficiency usually manifests itself within the first 2 years of life. Typical symptoms, which are seen after 12 h or more of fasting, include vomiting, lethargy, and frequently coma, accompanied by hypoketotic hypoglycemia and dicarborylic aciduria. The absence of ketosis is due to the block in hepatic fatty acid oxidation, which also causes a slowing of gluconeogenesis. This blockade, coupled with impaired fatty acid oxidation in muscle, promotes glucose utilization, leading to profound hypoglycemia.

Accumulation of medium-chain acyl CoAs forces their metabolism through in tissues alternative pathways including ω-oxidation and transesterification to glycine or carnitine. Excessive urinary excretion of the reaction products (medium-chain dicarboxylic acids together with medium-chain esters of glycine and carnitine) provide diagnostic clues to this disorder. Many cases previously diagnosed loosely as Reye-like syndrome or sudden infant death syndromes were in fact due to MCAD deficiency.

Patients with this disorder are treated by avoidance of prolonged fasting and consumption of a high-carbohydrate diet. Supplementing the diet with carnitine replenishes carnitine that is lost by the increased excretion of acylcarnitines. This is consistent with the fact that the metabolic complications of MCAD deficiency are seen only when tissues become heavily dependent energy. on fatty acids as a source of

Rinaldo, Matern. D., and Bennett, M.J.Fatty acid oxidation disorders Rev. physiol. 64; 477, 2002; and wanders, R.I.A., Vreken.P.,den Boct, M.E.J,. et al. Disorders of mitochondrial fatty acyl CoA β-oxidation. J. Dts.22: 442. 1999.

۹- پس از ۱۲ ساعت گرسنگی، تمامی عوارض زیر در مبتلایان به کمبود MCAD مشاهده می شود بجز:

الف) lethargy ب) Hyperglycemia

ج) Vomiting د) Coma

۱۰- در مقایسه با افراد سالم، کدامیک از روندهای بیوشیمیایی زیر در افراد مبتلا به کمبود MCAD فعال تر می باشد

الف) Omega oxidation ب) Gluconeogenesis

ج) Glycogen synthesis د) Keton body formation

۱۱- افزایش دفع ادراری کدامیک از موارد زیر در افراد مبتلا به کمبود MCAD شایع است

الف) Dicarboxylic acids ب) Acetoacetic acid

ج) Glucose د) beta-Hydroxybutyric acid

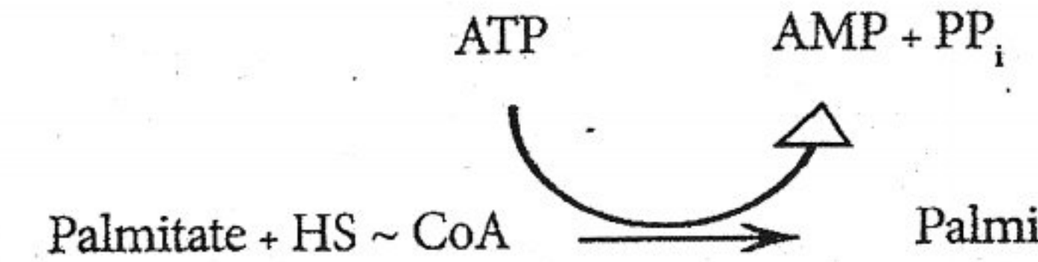
۱۲- انجام تمامی موارد زیر درراستای بهبودی افراد مبتلا به کمبود MCAD موثر می باشند بجز:

الف) پرهیز از گرسنگی ب) مصرف غذاهای پر کربوهیدرات

ج) تجویز کارنیتین د) ورزش

پاسخ نامه

سوال ۱



Palmitoyl ~ CoA	-۱
$PP_i \rightarrow 2\ P_i$	-۱
Palmitoyl ~ CoA + 7 HS ~ CoA → 8 acetyl CoA	+۳۵
8 acetyl CoA + 1602 → 16 Co_2 + 16 H_2O + 8 CoA	+۹۶
Sum	۱۲۹

M.W. of palmitic acid = 258 g/mol

The Energy of combustion of palmitate = 9791 KJ/mole

9791 ÷ 258 = 37.9 KJ/g

37.9 ÷ 4.18 = 9.1 Kcal/g

129 * 51.6 = 6656 KJ

6656 / 9791 = % 68

شماره سوال	پاسخ
۲	الف
۳	ب
۴	ب
۵	الف
۶	د
۷	الف
۸	ج
۹	ب
۱۰	الف
۱۱	الف
۱۲	د

۳

فصل سوم:
متابولیسم اسیدهای آمینه

دکتر زهره مصطفوی پور

متابولیسم پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه

هدف کلی: آشنایی با متابولیسم شامل سنتز و تجزیه اسیدهای آمینه و بیوسنتزآمین‌های بیولوژیک

اهداف اختصاصی:

پس از مطالعه این فصل انتظار می‌رود بتوانید:

- چگونگی برقراری تعادل ازت را از طریق سیکل نیتروژن بشناسید.
- هضم و جذب و اختلالات موجود در جذب اسیدهای آمینه را بشناسید.
- آنزیم‌ها و هورمون‌های دخیل در هضم پروتئین‌ها در معده و روده باریک را بشناسید.
- دلیل مهم بودن pH پائین معده و تعریف زیموژن Zymogen را بدانید.
- جذب اسیدهای آمینه از طریق روده باریک و بعضی اختلالات ارثی در راه جذب را بشناسید.
- آمونیاک و سیکل اوره و نحوه سم‌زدایی از آمونیاک را بدانید.
- سیکل گلوکز آلانین و نحوه انتقال آمونیاک در بدن را بشناسید.
- اختلالات متابولیکی سیکل اوره و درنتیجه اختلالات آنزیمی این مسیر را بشناسید.
- چگونگی دآمیناسیون اسیدهای آمینه و ترانس آمیناسیون را بدانید.
- آنزیم‌های مسیر دآمیناسیون اکسیداتیو و کوفاکتورهای آن‌ها را بشناسید.
- استفاده از ترانس آمینازها در تشخیص‌های پزشکی و نقش تشخیصی آنزیم‌های قلبی را بدانید.
- کاتابولیسم اسیدهای آمینه و سرنوشت اسکلت کربنی اسیدهای آمینه را بشناسید.
- اسیدهای آمینه گلوکوژن و کتوژن را تعریف کنید.
- متابولیسم برخی از اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری را بدانید.
- خطاهای وراثتی که در متابولیسم اسیدهای آمینه وجود دارد نظیر آلبینیسم و فنیل‌کتونوریا وآلکاپتونوریا را بدانید.
- در مورد متابولیسم آمینواسیدهای حاوی سولفور و نقش آن‌ها در بیماری‌های مختلف را بدانید.
- درباره گلو تاتیون و نقش مهم آن در احیاء و سم‌زدایی از رادیکال‌های آزاد را بدانید.
- ارتباط مفاهیم پایه‌ای تدریس شده را با مکانیسم و توجیه بیماری‌های مرتبط که توسط اساتید بالینی مطرح می‌شود برقرار نمایید.

تجویز کراتامیل GH
۹

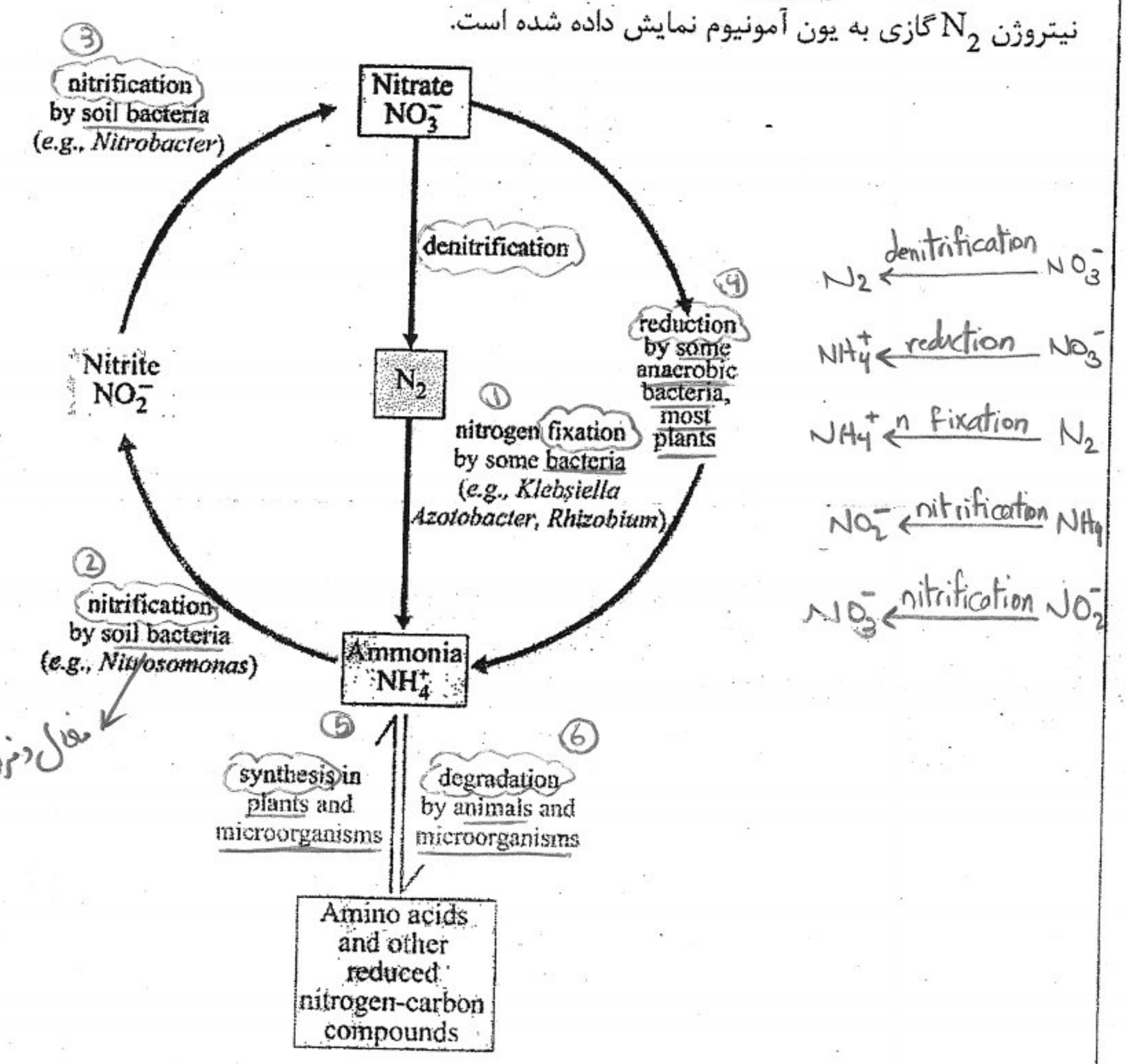
بیماری‌ها: سلیاک - التهاب حاد پانکراس - هایپرانسولینیسم هایپرآمونی - نقص N-استیل GH نشناز
اورمیا (سندرم اورمیک) - آلبینیسم - PKU - آلکاپتونوریا - MSUD

آنزیم‌ها:
- نیترات و نیتریت ردوکتاز
- پپسین
- ترپسین
- کیموترپسین
- کربوکسی پپتیداز B و A
- الاستاز
- پرولیدازها
- آمینوپپتیداز
- آمینوترانسفراز / ترانس آمیناز: AST (آسپارتات به آلانین) ALT (آلانین به ...) — وجود PLP
- L-گلوتامات دهیدروژناز — NAD+ یا NADP+ — ADP (+) GTP (-)
- کراتین کیناز CK
- لاکتات دهیدروژناز — نیل آنالین دهیدروژناز (NADPH)
- گلوتامین سنتتاز — یون Mn^{2+} (+) و ATP (-)
- گلوتامیناز — تترا هیدروبیوپترین (BH4) — تیروزین هیدروکسیلاز
- کربامیل سنتتاز I — Mg-ATP — N-استیل گلوتامات (+) — نقص ← هیپرآمونمی تیپ ۱
- اورنیتین ترانس کربامیلاز
- آرژینوسوکسینات سنتتاز — Mg-ATP — نقص ← هیپرسیترولینمی
- آرژینوسوکسیناز
- آرژینیناز — نقص ← حذف Arg در چرخه اوره

- گلوتامات دهیدروژناز — NAD+ یا NADP+ — ADP (+) GTP (-)
- گلوتامین سنتتاز — نیل آنالین دهیدروژناز (NADPH)
- گلوتامیناز — تترا هیدروبیوپترین (BH4) — تیروزین هیدروکسیلاز
- کربامیل سنتتاز I — Mg-ATP — N-استیل گلوتامات (+) — نقص ← هیپرآمونمی تیپ ۱
- اورنیتین ترانس کربامیلاز
- آرژینوسوکسینات سنتتاز — Mg-ATP — نقص ← تجویز Arg

حاشیه ۱-۳. چرخه نیتروژن مخزن نیتروژنی را حفظ می‌نماید که به طریق بیولوژیک قابل‌دسترسی است.

مهم‌ترین منبع نیتروژن هوا می‌باشد که چهارپنجم آن را نیتروژن مولکولی (N_2) تشکیل می‌دهد. گونه‌های نسبتاً کمی از موجودات زنده قادرند که نیتروژن گازی N_2 را به اشکال قابل‌استفاده در طی چرخه‌ای که در شکل ۱-۳ مشاهده می‌شود درآورند: یون آمونیم (NH_4^+) ساده‌ترین شکل نیتروژن قابل استفاده توسط بعضی از موجودات زنده می‌باشد. در شکل ۱-۳ کلیات تبدیل نیتروژن N_2 گازی به یون آمونیوم نمایش داده شده است.



شکل شماره ۱-۳: چرخه نیتروژن - میزان کل نیتروژن که سالیانه در بیوسفرزمین فیکس می‌شود 10^{11} کیلوگرم می‌باشد.

اولین مرحله در چرخه، تثبیت (احیاء) نیتروژن اتمسفر توسط باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن و تولید آمونیاک (NH_3 یا NH_4^+) می‌باشد. اگرچه موجودات زنده می‌توانند از آمونیاک استفاده نمایند اما باکتری‌های خاک که انرژی خود را از اکسیداسیون آمونیاک به نیتریت (NO_2^-) و نهایتاً نیترات (NO_3^-) به دست می‌آورند، آن‌قدر فراوان و فعال هستند که تقریباً تمامی آمونیاکی که به خاک می‌رسد را به نیترات اکسیده می‌کنند. این فرآیند تثبیت نیتروژن را نیتریفیکاسیون گویند. گیاهان و بسیاری از باکتری‌ها می‌توانند نیترات را برداشت نموده و توسط آنزیم‌های نیترات و نیتریت ردوکتازها آن‌ها را به‌سادگی احیاء نمایند. آمونیاک تولیدی توسط گیاهان در ساختمان اسیدهای آمینه وارد می‌شود. سپس حیوانات با خوردن گیاهان، اسیدهای آمینه (ضروری و یا غیرضروری) مورد نیاز برای سنتز پروتئین‌های خود را تأمین می‌نمایند. با مرگ موجودات و تجزیه پروتئین‌ها توسط میکروب‌ها، آمونیاک آن‌ها به خاک برگشته و دوباره توسط باکتری‌ها به نیترات و نیتریت تبدیل می‌شوند. باکتری‌های تبدیل‌کننده نیترات به N_2 در شرایط بی‌هوازی و در طی فرآیندی بنام دنیتریفیکاسیون(Denitrification)، موجب تعادل بین نیتروژن تثبیت شده و نیتروژن موجود در اتمسفر می گردند(شکل ۱-۳).

۲-۳ اکسیداسیون اسیدهای آمینه و تشکیل اوره

اسیدهای آمینه نقش مهمی در تولید انرژی در بدن دارند. گوشت‌خواران (بلافاصله پس از غذا خوردن) می‌توانند تا ٪۹۰ نیازهای خود به انرژی را از اکسیداسیون اسیدهای آمینه به دست آورند، درحالی‌که گیاه‌خواران تنها قسمت کوچکی از انرژی موردنیاز خود را از این طریق به دست می‌آورند.

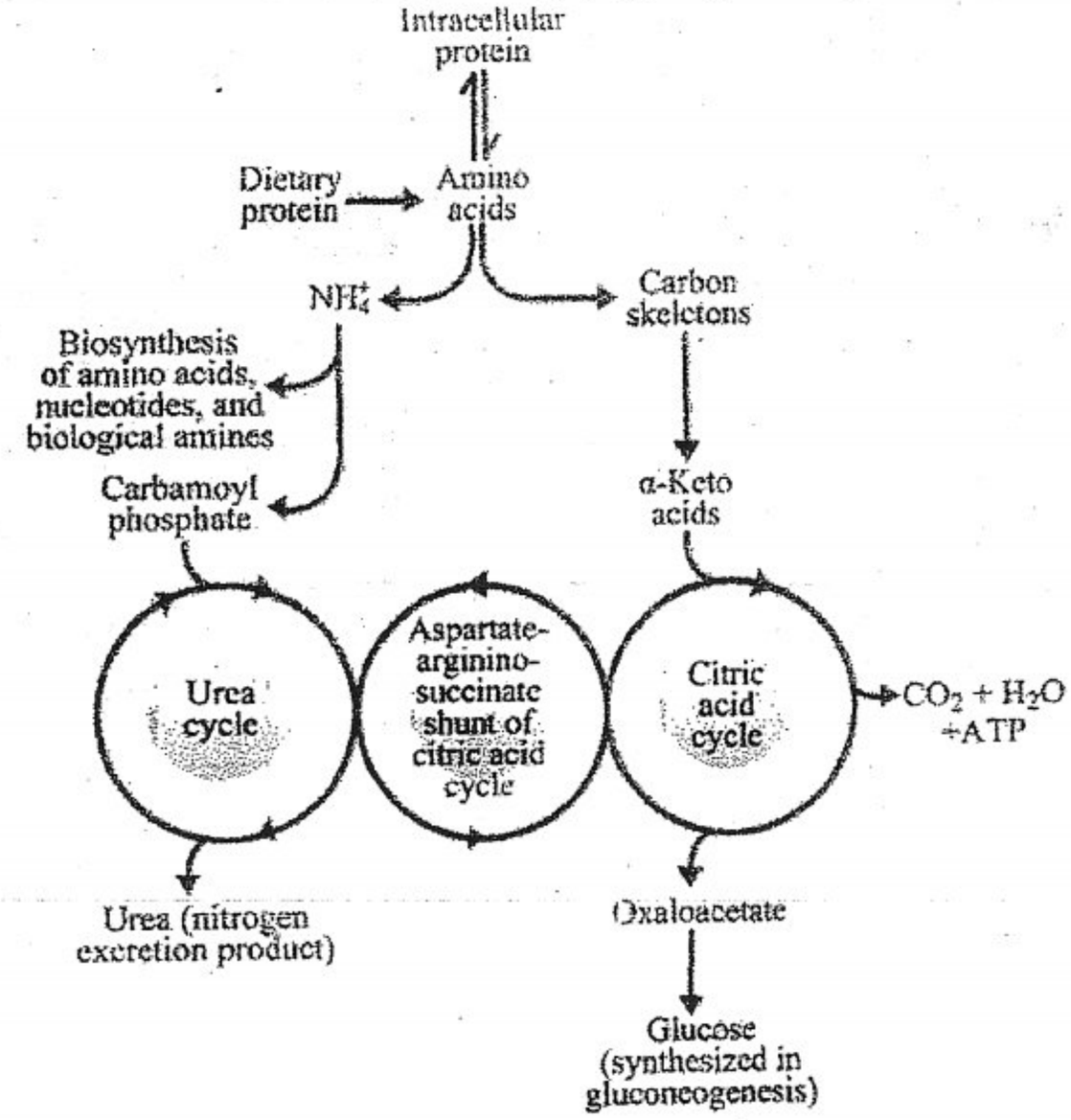
در حیوانات اسیدهای آمینه با سه حالت متابولیکی مختلف دچار تخریب اکسیداتیو می‌شوند:

۱. طی تخریب و سنتز طبیعی پروتئین‌های سلولی، بعضی از اسیدهای آمینه آزاد شده هنگام تخریب پروتئین‌ها درصورتی‌که در بیوسنتز پروتئین‌های جدید به آنان نیازی نباشد تحت تجزیه اکسیداتیو قرار می‌گیرند.

۲. در هنگامی‌که غذای غنی از پروتئین مصرف می‌شود و اسیدهای آمینه حاصل از هضم بیش از نیاز بدن برای سنتز پروتئین‌ها باشند به دلیل اینکه اسیدهای آمینه نمی‌توانند ذخیره شوند تجزیه می‌شوند.

۳. در هنگام گرسنگی‌های طولانی مدت (Starvation) و یا دیابت قندی (Diabetes mellitus) که کربوهیدرات‌ها یا در دسترس سلول‌ها نبوده و یا به مقدار کم مورداستفاده قرار می‌گیرند. پروتئین‌های سلولی به‌عنوان سوخت مورد مصرف قرار می‌گیرند.

در طی سه حالت متابولیکی فوق، اسیدهای آمینه گروه آمینی خود را ازدست‌داده و اسکلت کربنی (carbon skeleton) آن‌ها تولید α - کتواسید می‌نمایند. α - کتواسیدها می‌توانند به CO_2 و H_2O اکسیده شوند. گروه خاصی از اسیدهای آمینه تولید واحدهای سه یا چهار کربنی می‌نمایند که می‌توانند طی گلوکونئوژنز به گلوکز تبدیل گردند تا بدین‌وسیله سوخت مغز، عضله اسکلتی و یا سایر بافت‌ها را تأمین نمایند (شکل ۲-۳).



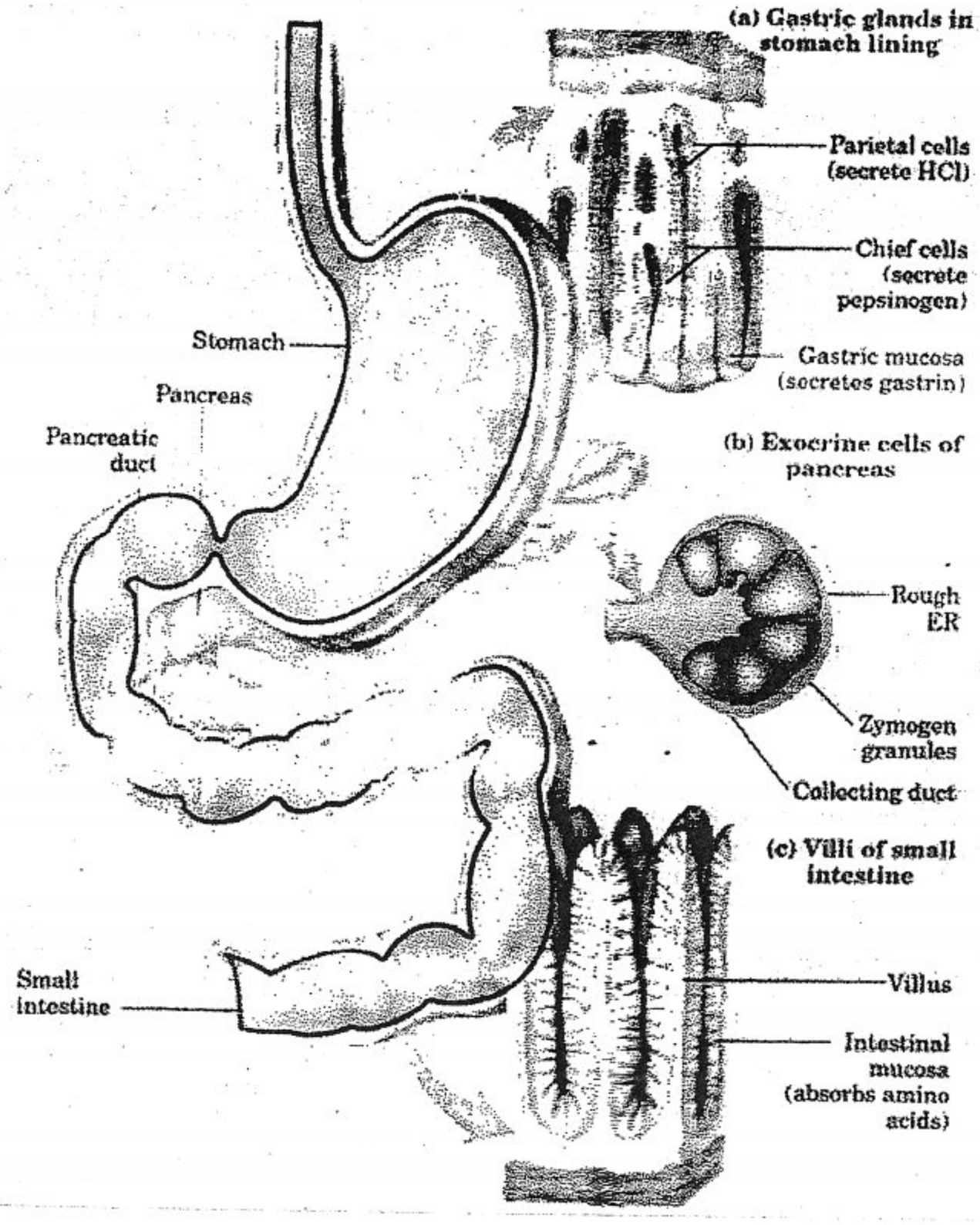
شکل شماره ۲-۳: مرور کلی کاتابولیسم اسیدهای آمینه در پستانداران

۳-۳ تجزیه پروتئین‌های غذا به طریق آنزیمی در روده

در انسان، تجزیه پروتئین‌های قابل‌هضم به اسیدهای آمینه سازنده‌شان در دستگاه گوارش (Gastrointestinal tract, GI) انجام می‌شود. ورود پروتئین‌های غذایی به داخل معده سبب تحریک ترشح هورمون گاسترین (Gastrin) از مخاط معده می‌شود، که خود باعث ترشح اسیدکلریدریک توسط سلول‌های جداری (محیطی) (Parietal cells) و ترشح پپسینوژن (Pepsinogen) از سلول‌های اصلی (Chief cells) معده می‌گردد (شکل ۳-۳). شیره معده دارای pH اسیدی حدود ۲ - ۱/۵ می‌باشد. اسیدی بودن شیره معده اولاً خاصیت عفونت‌زدایی دارد، یعنی باکتری‌ها و سلول‌های خارجی را از بین می‌برد و دوماً در محیط اسیدی پروتئین‌های کروی (Globular) دناتوره شده و پیوندهای پپتیدی داخلی هر چه بیشتر در معرض عمل آنزیمی قرار می‌گیرد تا هیدرولیزشان بهتر انجام پذیرد.

P60 ← معده ← ترشح گاسترین از مخاط معده ← ترشح HCl توسط سلول‌های جداری و ترشح پپسینوژن از سلول‌های اصلی

اسید معده { عفونت زدایی / دناتوراسیون پم } pH=1/5 - 2



شکل شماره ۳-۳ : مجرای گوارشی (معده‌ای - روده‌ای) انسان (توضیح کامل در متن داده شده است).

پپسینوژن فرم پیش سازو غیرفعال (zymogen) آنزیم پپسین می‌باشد که در شرایط اسیدی معده و توسط پپسین شکسته و به فرم فعال تبدیل می‌شود. در این عمل ۴۲ واحد (residue) اسیدآمینه از انتهای آمینی زنجیره پلی پپتید پپسینوژن جدا شده و آنچه باقی می‌ماند پپسین می‌باشد. فعال شدن پپسینوژن در حضور پپسین نمونه‌ای ازاتوکاتالیز (autocatalysis) می‌باشد. در داخل معده، پپسین در صورتی می‌تواند پیوندهای پپتیدی پروتئین‌ها را هیدرولیز نماید که در قسمت آمینی آن‌ها یکی از سه اسیدآمینه آروماتیک Trp, Phe و یا Tyr وجود داشته باشد و بدین ترتیب پلی پپتیدهای دارای زنجیر طولانی به مخلوطی از پپتیدهای کوچک‌تر شکسته می‌شوند.

هنگامی‌که محتویات اسیدی معده وارد روده کوچک می‌گردد پایین بودن pH باعث تحریک ترشح هورمون سکرتین (Secretin) توسط سلولهای دوازدهه (اثنی عشر) روده به درون خون می‌گردد. سکرتین باعث تحریک پانکراس به ترشح بی‌کربنات به داخل روده کوچک می‌گردد که باعث می‌شود که اسید کلریدریک شیره معدی را خنثی کرده و pH آن را به حدود ۷ تا ۸ برساند. هضم پروتئین‌ها در داخل روده باریک ادامه می‌یابد.

ورود اسیدهای آمینه به ابتدای روده باریک، در ناحیه موسوم به دوازدهه (Duodenum) باعث ترشح هورمون کولی سیستوکنین (Cholecystokinin) به داخل خون شده که خود سبب تحریک پانکراس به ترشح آنزیم‌های غیرفعال تریپسینوژن (trypsinogen)، کیموتریپسینوژن (Chymotrypsinogen) و پروکربوکسی پپتیداز A و B(Procarboxypeptidase A and B) از سلول‌های برون‌ریز (Exocrine) به داخل روده باریک می‌گردد.

تریپسینوژن توسط انتروپپتیداز (Enteropeptidase) که یک آنزیم هیدرولیز کننده پروتئین می‌باشد به فرم فعال تریپسین تبدیل می‌گردد. تریپسین نیز به‌نوبه خود کیموتریپسیتوژن، پروکربوکسی پپتیداز و پروالاستاز (Proelastase) را به آنزیم‌های فعال تبدیل می‌نماید. سنتز آنزیم‌های تخریب‌کننده پروتئین‌ها به فرم غیرفعال از تخریب سلول‌های برون‌ریز سازنده آن‌ها در پانکراس جلوگیری می‌کند. سیستم دفاعی دیگر پانکراس در مقابل هرگونه فعالیت نابجای آنزیم‌های هیدرولیز کننده پروتئین‌ها وجود پروتئین منع‌کننده تریپسین (Pancreatic trypsin inhibitor) می‌باشد که به‌طور مؤثر از فعال شدن این آنزیم‌ها در بافت پانکراس جلوگیری می‌نماید. تریپسین باندهای پپتیدی که گروه کربونیل آن‌ها توسط اسیدهای آمینه Arg و یا Lys به اشتراک گذاشته شده باشند را هیدرولیز می‌نماید. کیموتریپسین باندهای پپتیدی را موردحمله قرار می‌دهد که گروه کربونیل آن‌ها توسط اسیدهای آمینه Phe, Tyr و یا Trp به اشتراک گذاشته شده باشند.

خرد شدن پپتیدهای کوچک‌تر در روده باریک توسط آنزیم‌های پپتیداز دیگر کامل می‌شود. این آنزیم‌ها شامل کربوکسی پپتیداز A و B می باشند که هر دو آنزیم دارای اتم روی (Zn) می‌باشند و فعالیت این آنزیم‌ها توسط سرب منع می‌شود. فعالیت این آنزیم‌ها باعث جدا شدن اسیدهای آمینه به‌صورت تکی از انتهای گروه کربوکسیل می‌گردند. همچنین آنزیمی به نام آمینو پپتیداز(Aminopeptidase) که از سلول‌های جدار روده باریک

ترشح می‌شود باعث جداسازی اسیدهای آمینه از انتهای آمینی پلی پپتیدی می‌شوند. عمل توأم این آنزیم‌ها به همراه سایر آنزیم‌های روده باریک منجر به ایجاد اسیدهای آمینه آزاد می‌شوند که می‌توانند از داخل سلول‌های اپی‌تلیال که پوشش دیواره روده باریک هستند عبور کرده وارد مویرگ‌های خونی که در پرزهای جدار روده کوچک هستند شده و سپس به کبد (Liver) برده می‌شوند.

تمام پروتئین‌ها در انسان الزاماً قابل‌هضم نیستند] بسیاری از پروتئین‌های حیوانی کاملاً به اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده‌شان هیدرولیز می‌شوند درحالی‌که بعضی از پروتئین‌های فیبری نظیر کراتین (Keratin) به مقدار کم قابل‌هضم هستند. بسیاری از پروتئین‌های گیاهی مثل غلات Cereal grains به‌طور ناقص هضم می‌شوند چون این پروتئین‌ها توسط یک پوشش یا پوسته سلولزی غیرقابل‌هضم پوشیده شده‌اند.

بیماری سلیاک (Celiac disease) بیماری نادری است که در آن آنزیم‌های جدار روده باریک قادر نیستند که پروتئین‌های غیرقابل‌حل در آب نظیر gliadin که پروتئین مخصوص دانه گندم می‌باشد را هضم بکند و این باعث جراحت سلول‌های پوششی جدار روده می‌گردد. بنابراین محصولات غذایی حاوی گندم نباید به این بیماران داده شود.

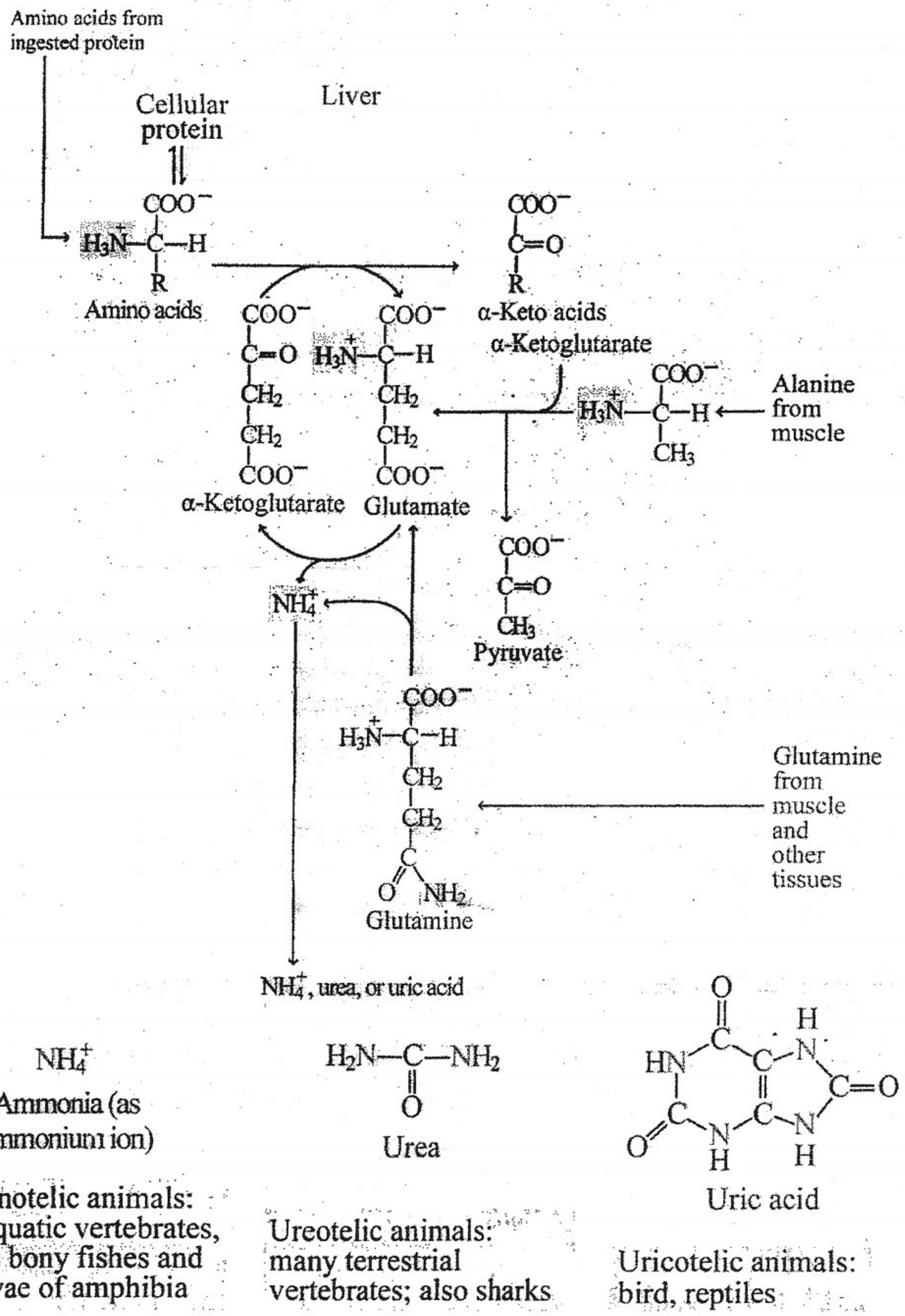
التهاب حاد پانکراس (Acute Pancreatitis) بیماری دیگر است که در اثر انسداد مجاری پانکراس به روده باریک به وجود می‌آید. فرم‌های غیرفعال آنزیم‌های تخریب‌کننده در داخل پانکراس به فرم فعال تبدیل شده و به سلول‌ها و بافت پانکراس حمله می‌کنند. این بیماری با دردهای ناحیه شکم توأم است و به علت آسیب‌دیدگی شدید به بافت پانکراس حتی ممکن است منجر به مرگ فرد شود.

۴-۳ سرنوشت متابولیکی گروه‌های آمینی

مرور کلی بر کاتابولیسم آمونیاک و گروه‌های آمینی در مهره‌داران در شکل a ۴-۳ نشان داده شده است. منبع بیشتر گروه‌های آمینی، اسیدهای آمینه‌ای هستند که از هضم و جذب پروتئین‌های مواد غذایی حاصل شده‌اند. اکثر اسیدهای آمینه در کبد متابولیزه می‌شوند. مقداری از آمونیاک تولیدی طی این فرآیند مجدداً چرخش نموده و در مسیرهای متابولیکی متعددی مورداستفاده قرار می‌گیرد.

مقادیر اضافی نیز یا مستقیماً دفع می‌گردد و یا پس از تبدیل به اسیداوریک و اوره دفع می‌شوند (شکل b ۴-۳). مقدار اضافی آمونیاک تولیدی در بافت‌های غیر کبدی (extrahepatic tissue) نیز به کبد وارد شده (به فرم گروه‌های آمینی) و سپس به فرم‌های قابل دفع تبدیل می‌شوند.

گلوتامات و گلوتامین دارای نقش‌های بسیار مهم در متابولیسم نیتروژن می‌باشند. در سیتوزول سلول‌های کبدی، گروه‌های آمینی اکثر اسیدهای آمینه به α- کتوگلوتارات انتقال داده می‌شود و ایجاد گلوتامات می‌نماید (شکل ۵-۳). سپس گلوتامات به میتوکندری منتقل شده و در آنجا گروه آمینی آن به شکل NH_4^+ برداشته می‌شود. همچنین آمونیاک اضافی تولیدی در بیشتر بافت‌ها می‌توانند به نیتروژن آمیدی گلوتامین تبدیل شده، به کبد رفته و وارد سلول‌های کبدی شوند.

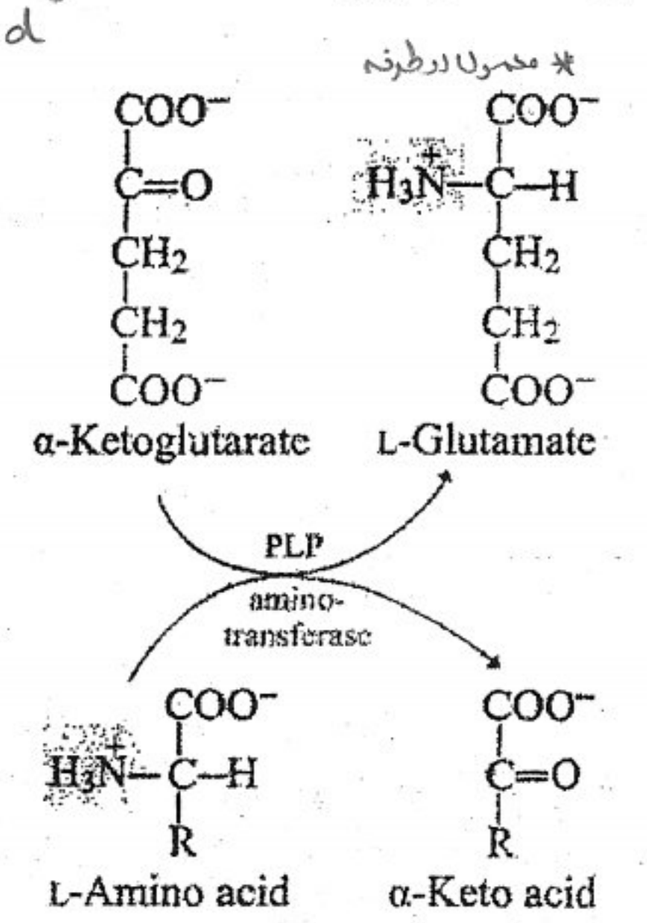


شکل ۴-۳ : کاتابولیسم گروه آمینی. (a) مرور کلی کاتابولیسم گروه آمینی در کبد مهره‌داران (گروه‌های هاشور زده شده). (b) اشکال دفعی نیتروژن. NH_4^+ اضافی به فرم آمونیاک (میکروب‌ها و ماهی‌های استخوانی)، اوره (اکثر مهره‌داران زمینی) یا اسیداوریک (پرندگان و خزندگان زمینی) دفع می‌گردد.

در اکثر بافت‌ها غلظت گلوتامین و گلوتامات بیش از غلظت سایر اسیدهای آمینه می‌باشد. در ماهیچه‌ها، مقادیر اضافی گروه‌های آمینی به پیروات منتقل شده و به آلانین تبدیل گردیده سپس آلانین وارد کبد می‌شود (شکل 4a-۳). آلانین یکی دیگر از اسیدآمینه مهم است که به فراوانی در جریان خون وجود دارد و در انتقال گروه‌های آمینی به کبد ایفا نقش دارد.

۱-۴-۳ نقش پیریدوکسال فسفات در انتقال گروه آمینی به α ـ کتوگلوتارات

اولین مرحله در کاتابولیسم بیشتر اسیدهای آمینه در کبد، انتقال گروه آمینی توسط آنزیم آمینوترانسفرازها (Aminotransferases) یا ترانس آمینازها (Transaminases) می‌باشد. در این واکنش ترانس آمیناسیون (شکل ۵-۳) گروه آمینی اسیدهای آمینه به اتم کربن α/آلفا کتوگلوتارات متصل شده و ایجاد گلوتامات می‌کند و α – کتواسید مشتق اسیدآمینه مربوطه ایجاد می‌شود. در سلول‌ها آنزیم‌های آمینوترانسفراز مختلف وجود دارند. در بسیاری از این واکنش‌ها α – کتوگلوتارات به‌عنوان پذیرنده گروه آمینی نقش داشته ولی آنزیم منتقل‌کننده گروه آمین برای هرکدام از ۲۰ اسیدآمینه متفاوت می‌باشد. معمولاً آنزیم بر اساس دهنده گروه آمینی نامگذاری می‌شود، مثال – آلانین آمینوترانسفراز و آسپارتات آمینوترانسفراز، واکنش‌هایی که توسط آمینوترانسفرازها کاتالیز می‌شوند معمولاً دوطرفه هستند.



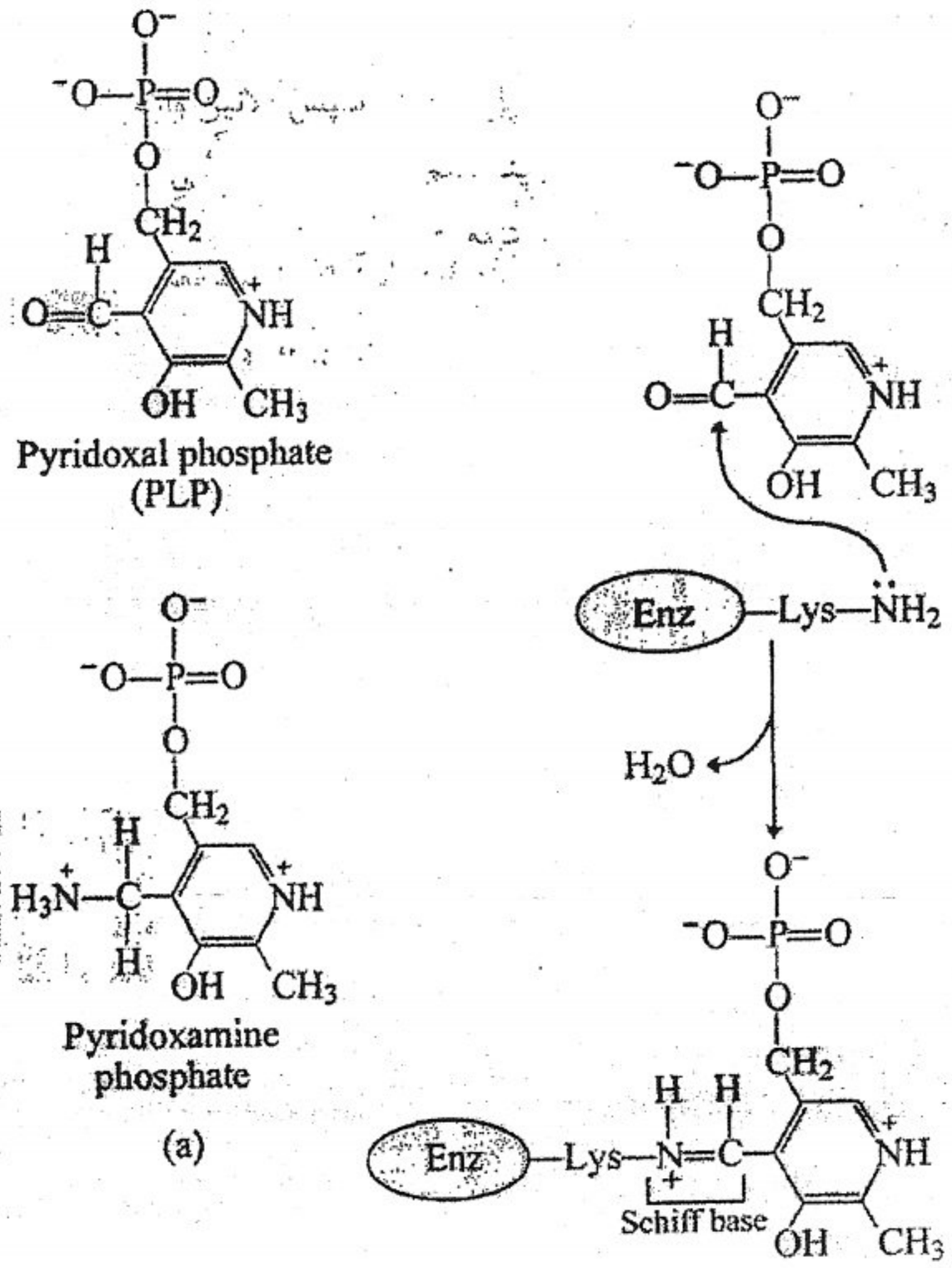
شکل شماره ۵-۳ : ترانس آمیناسیون‌های آنزیمی – در بسیاری از واکنش‌های آمینوترانسفرازها یا ترانس آمینازها، α – کتو گلوتارات گیرنده گروه آمینی می‌باشد. همه این آنزیمها به پیریدوکسال فسفات (PLP) به عنوان کوفاکتور نیاز دارند.

همه آمینوترانسفرازها دارای گروه پروستتیک یکسان و دارای مکانیسم مشابه می‌باشند. گروه پروستتیک، پیریدوکسال فسفات (Pyridoxal phosphate, PLP) است که کوآنزیمی مشتق از پیریدوکسین یا ویتامین B6 می باشد. پیریدوکسال فسفات به‌عنوان حامل حد واسط گروه‌های آمینی در جایگاه فعال آمینوترانسفرازها عمل می‌نماید. این کوآنزیم در این واکنش‌ها، درنتیجه ترانس آمیناسیون‌های قابل‌برگشت بین شکل آلدئیدی (پیریدوکسال فسفات) با توانایی دریافت یک گروه آمینی و شکل آمینی آن (پیریدوکسامین فسفات) با توانایی دادن یک گروه آمینی به یک α- کتواسید تبدیل می‌گردد (شکل a ۶-۳).

پیریدوکسال فسفات با پیوند کووالانسی توسط یک اتصال آلدیمینی(Aldimine) باز شیف، به گروه ε- آمینی یک ریشه لیزین موجود در جایگاه فعال آنزیم متصل می‌باشد (شکل b ۶-۳). اندازه‌گیری میزان فعالیت آلانین آمینوترانسفراز ALT و آسپارتات آمینوترانسفراز AST در سرم برای بعضی تشخیص‌های پزشکی مهم می‌باشد (کادر ۱-۳).

۲-۴-۳ گلوتامات آمونیاک را در کبد آزاد می‌کند.

در سلول‌های کبدی، گلوتامات از سیتوزول به میتوکندری منتقل شده و در آنجا توسط آنزیم L- گلوتامات دهیدروژناز وارد واکنش دآمیناسیون اکسیداتیو (Oxidative deamination) می‌گردد. در پستانداران (Mammals) این آنزیم در ماتریکس میتوکندری سلول‌های کبدی (هپاتوسیت‌ها) وجود دارد و برای فعالیت به کوفاکتورهای NAD^+ یا $NADP^+$ نیاز دارد (شکل ۷-۳). عمل توأم آمینوترانسفراز



شکل شماره ۶-۳ : پیرودوکسال فسفات، گروه پروستتیک آمینوترانسفرازها. (a) پیروکسال فسفات (PLP) و فرم آمینه آن، پیریدوکسامین فسفات، دو کوآنزیمی هستند که با پیوند کوالانس به آمینوترانسفرازها اتصال دارند. (b) پیرودوکسال فسفات هم از طریق پیوندهای کووالان و هم از طریق باز شیف (Schiff base) که پیوندی کووالانسی است به اسیدآمینه Lys در جایگاه فعال این آنزیم‌ها اتصال می‌یابد.

و گلوتامات دهیدروژناز را ترانس دآمیناسیون(Transdeamination) می‌نامند.

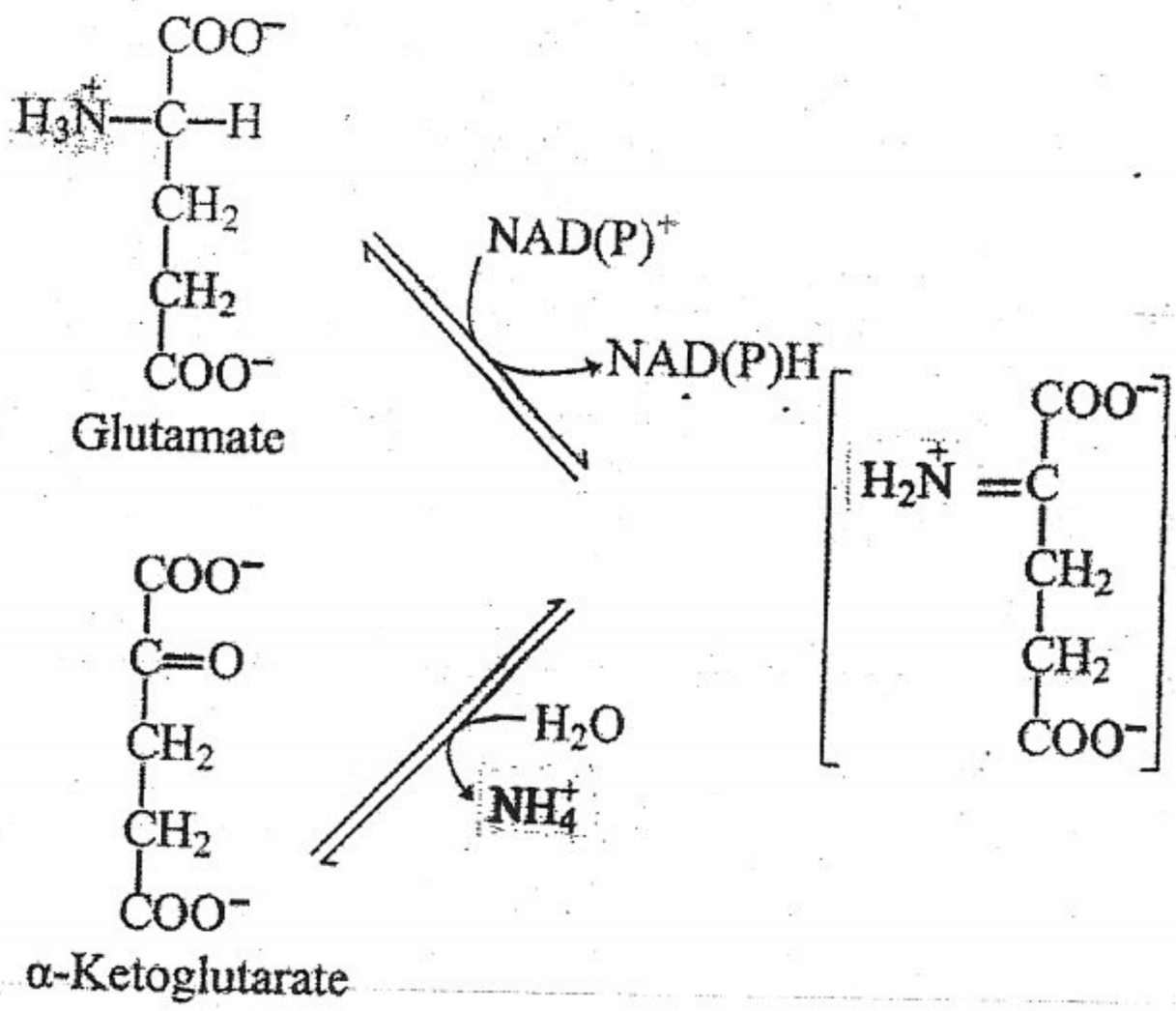
فعالیت آنزیم گلوتامات دهیدروژناز به‌عنوان یک آنزیم آلوستریک، تحت اثر مجموعه پیچیده‌ای از تنظیم‌کننده‌های آلوستریک می‌باشد. بهترین مورد مطالعه شده، تنظیم‌کننده مثبت ADP و تنظیم‌کننده منفی GTP است (شکل ۷-۳). جهش‌هایی که جایگاه آلوستریک برای GTP را تغییر داده و یا به طریقی سبب فعال شدن دائمی گلوتامات دهیدروژناز می‌گردد منجر به ناهنجاری ارثی بنام هیپرانسولین - هیپر آمونمی (Hyperinsulinemia-Hyperammonemia) در انسان می‌شود که با افزایش آمونیاک در گردش خون همراه با هیپوگلیسمی مشخص می‌گردد.

کادر ۱-۳ : آزمایش‌های تعیین آسیب‌های مربوط به بافت‌ها

تعیین میزان فعالیت بعضی از آنزیم‌ها در گردش خون، اطلاعات با ارزشی را در مورد تعدادی از بیماری‌ها فراهم می‌آورد. آلانین آمینوترانسفراز ALT (یا گلوتامات پیرووات ترانس آمیناز GPT) و آسپارتات آمینو ترانسفراز AST (یاگلوتامات – اگزالواستات ترانس آمیناز GOT) در تشخیص بیماری‌های قلبی و صدمات کبدی حاصل از حمله قلبی، مسمومیت دارویی و یا عفونت مهم می‌باشند. بعد از یک حمله قلبی، انواع مختلفی از آنزیم‌ها، از جمله آمینوترانسفرازهای نامبرده از سلول‌های آسیب‌دیده قلب به داخل گردش خون می‌ریزند. اندازه‌گیری غلظت این دو آنزیم در سرم (SGPT و SGOT) و سایر آنزیم‌های نظیر کراتین کیناز CK سرمی می‌تواند شدت آسیب را نشان دهد. آنزیم CK اولین آنزیمی است که پس از حمله قلبی وارد خون شده و همچنین سریعاً از گردش خون ناپدید می‌گردد. GOT آنزیم بعدی است که ظاهرشده و بعدازآن GPT در خون پدیدار می‌گردد. لاکتات دهیدروژناز نیز از عضله قلب آسیب‌دیده یا در شرایط بی‌هوازی، آزاد می‌گردد. آزمون‌های SGOT و SGPT در پزشکی صنعتی برای تشخیص افرادی که در تماس با تتراکلرید کربن، کلروفورم یا سایر حلال‌های صنعتی که منجر به آسیب کبدی می‌گردند نیز مهم هستند. فعالیت این آمینوترانسفرازها در کبد زیاد بوده و می‌توان فعالیت مقادیر کم آن‌ها را تعیین نمود.

$$\text{L-alanine} + \alpha\text{-ketoglutarate} \xrightleftharpoons[\text{Alanine transaminase}]{\text{ALT (GPT)}} \text{Pyruvate} + \text{L-glutamate}$$

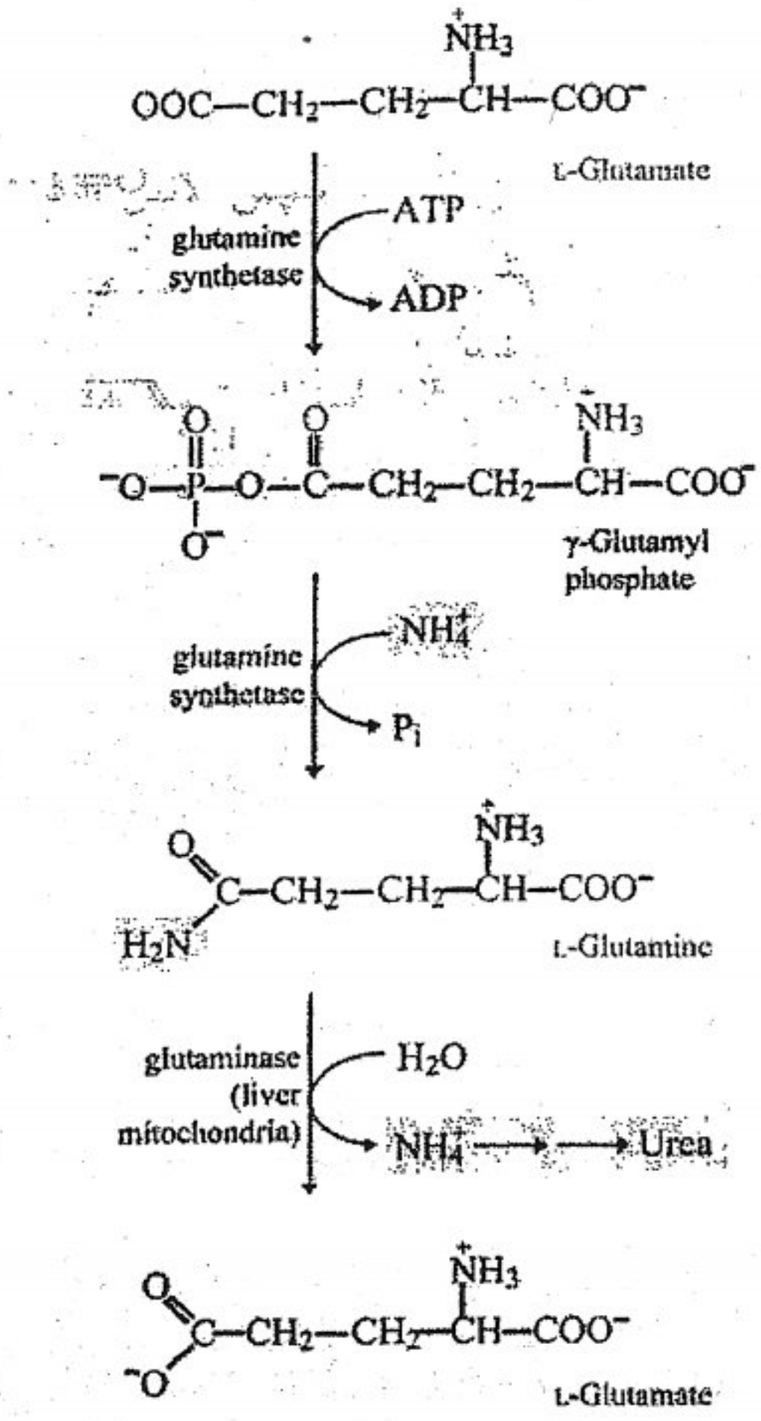
$$\text{L-Aspartate} + \alpha\text{-ketoglutarate} \xrightleftharpoons[\text{Aspartate transaminase}]{\text{AST (GOT)}} \text{Oxaloacetate} + \text{L-glutamate}$$



شکل ۷-۳: واکنش گلوتامات دهیدروژناز- این آنزیم در کبد پستانداران و به طریق آلوستریک توسط GTP و ADP تنظیم می‌گردد. کوفاکتورهای NAD^+ و یا $NADP^+$ برای فعالیت آنزیم ضروری هستند.

۳-۴-۳ گلوتامین آمونیاک را در گردش خون انتقال می‌دهد.

آمونیاک برای بافت‌های حیوانی کاملاً سمی است. در اکثر حیوانات، قبل از انتقال از بافت‌های غیر کبدی به داخل گردش خون و حمل به سمت کبد و کلیه، مازاد آمونیاک به یک ترکیب غیر سمی تبدیل می‌شود. برای این منظور گلوتامات به L- گلوتامین تبدیل می‌شود در بسیاری از بافت‌ها، از جمله مغز، طی فرآیندهایی نظیر تخریب نوکلئوتیدی، مقداری آمونیاک تولید می‌شود. این آمونیاک آزاد توسط آنزیم گلوتامین سنتتاز (Glutamine synthetase) با گلوتامات ترکیب شده و تولید گلوتامین می‌نماید. همان‌طور که در شکل مشاهده می‌شود، این واکنش نیاز به ATP داشته و در دو مرحله صورت می‌گیرد. ابتدا گلوتامات با ATP واکنش داده تولید ADP و یک حد واسط به نام γ-glutamyl phosphate می‌شود در مرحله دوم این ترکیب با آمونیاک واکنش نموده و تولید گلوتامین و فسفات معدنی می‌نماید. گلوتامین فرم انتقال‌دهنده غیر سمی آمونیاک است، غلظت خونی این اسیدآمینه بسیار بیشتر از اسیدهای آمینه دیگر می‌باشد. گلوتامین سنتتاز در تمامی موجودات زنده وجود داشته و همیشه دارای یک نقش متابولیکی مرکزی است.

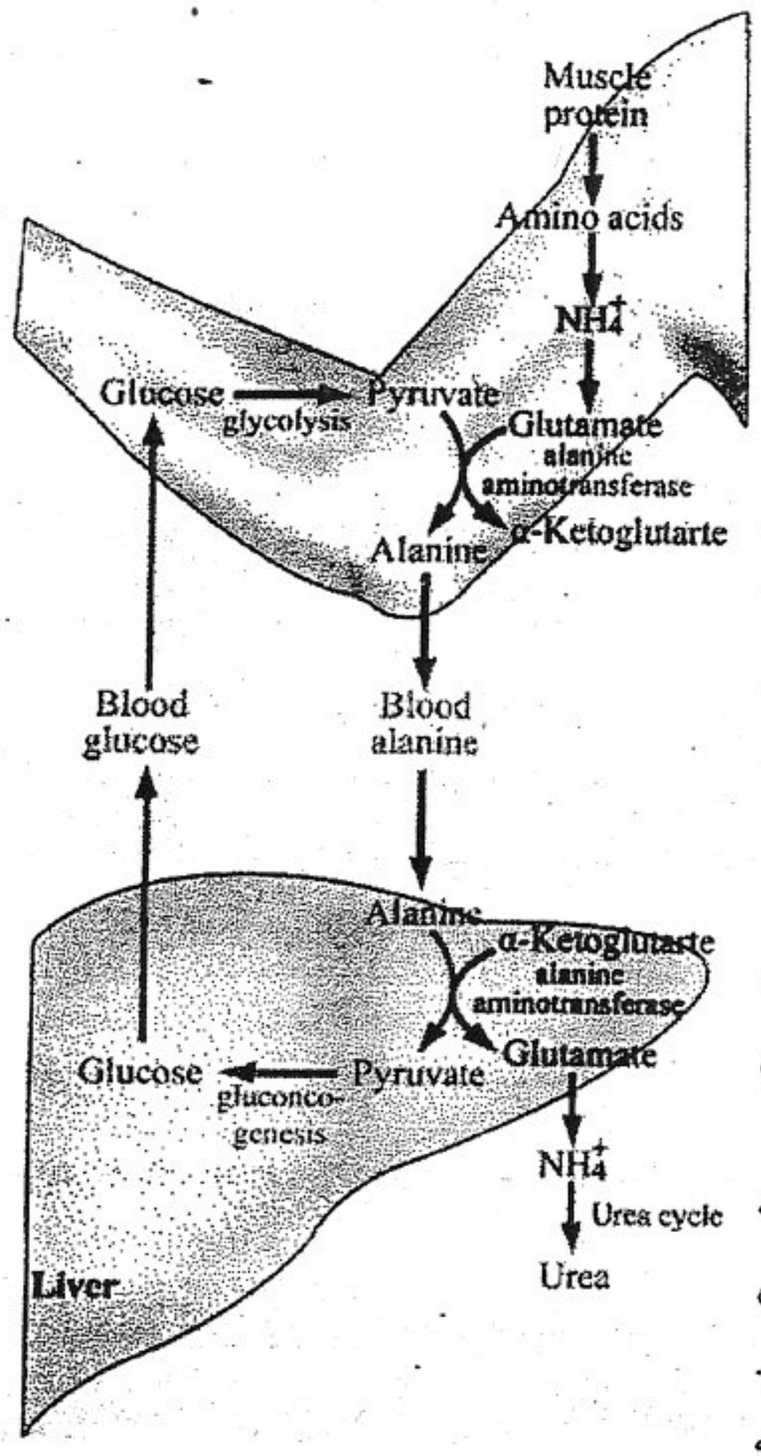


در تمام موجودات خشکی زی اسیدآمینه گلوتامین به مقدار زیاد در خون وجود دارد که به کبد و کلیه می‌رود. نیتروژن آمیدی به فرم آمونیاک در میتوکندری کبد آزاد می‌شود که این عمل توسط آنزیم گلوتامیناز(glutaminase) انجام می‌پذیرد. گلوتامات در داخل ماتریکس سلول‌های کبدی و توسط آنزیم گلوتامات دهیدروژناز تغییرات بیشتری روی آن انجام شود (شکل a ۳-۳).

در شرایط طبیعی، کلیه‌ها مقدار کمی گلوتامین از خون دریافت می‌کنند ولی در شرایط اسیدوز متابولیکی کاتابولیسم گلوتامین در کلیه‌ها افزایش پیدا می‌کند. در این شرایط یون‌های آمونیم (NH_4^+) حاصل از فعالیت گلوتامیناز و گلوتامات دهیدروژناز در کلیه‌ها برای رفتن به کبد و تبدیل به اوره در خون رها نشده و در عوض مستقیماً وارد ترکیب ادرار می‌شوند. در کلیه‌ها با اسیدهای حاصل از متابولیسم ترکیب شده و با تشکیل نمک، دفع آن‌ها را تسهیل می‌نمایند. دکربوکسیلاسیون α - کتوگلوتارات در چرخه کربس (TCA cycle) بی‌کربنات و دی اکسید کربن ایجاد می‌نماید. بدین ترتیب در متابولیسم گلوتامین، این مولکول در جهت خنثی‌سازی اسیدوز به کار گرفته می‌شود.

۳-۵ اثرات سمی آمونیاک

اساس مولکولی سمیت آمونیاک به‌طور دقیق شناخته نشده است ولی ازآنجایی‌که مراحل نهایی مسمومیت با آمونیاک در انسان همراه با حمله کوما (Comatose) و اثرات بر روی بافت مغز می‌باشد، ازاین‌رو تحقیقات بر روی سمیت آمونیاک بر روی بافت مغز متمرکز شده است. دو مکانیسم مهمی که در مورد اثرات سمی آمونیاک در مغز عنوان می‌شود به ترتیب عبارتند از:



شکل ۸-۳ : چرخه گلوکز- آلانین: آلانین به‌عنوان یک حامل آمونیاک و اسکلت کربنی پیروات از عضله به کبد عمل می‌نماید. آمونیاک به صورت اوره دفع شده و پیروات در فرایند گلوکونئوژنز تولید گلوکز نموده و گلوکز مجدداً به عضله باز می‌گردد.

۱. افزایش NH_4^+ در واکنش گلوتامات دهیدروژناز (شکل ۷-۳) باعث می‌شود که بر طبق اصل لوشاتلیه واکنش دوطرفه‌ای که توسط این آنزیم صورت می‌گیرد به سمت تشکیل گلوتامات شیفت نماید. در این حالت کاهش α – کتوگلوتارات که ترکیب حد واسط سیکل کربس (Citric acid cycle) می‌باشد سبب کاهش یا تخلیه مغز از ATP می‌گردد. به‌طورکلی مقدار سمی NH_4^+ ممکن است با تولید ATP در مغز که برای ادامه فعالیت این عضو مهم لازم است تداخل نماید.

۲. تخلیه اسید گلوتامیک در واکنش گلوتامین سنتتاز ممکن است اثرات دیگری بر روی مغز داشته باشد؛ زیرا اسید گلوتامیک و مشتق آن گاما- آمینوبوتیریک اسید (GABA) از مهم‌ترین نوروترانسمیترهای مغزی می‌باشند؛ بنابراین حساسیت مغز به آمونیاک می‌تواند بازتابی از تخلیه نوروترانسمیترها به همراه تغییرات حاصله در متابولیسم ATP سلولی باشد.

در عضله اسکلتی، آمونیاک تولید شده به شکل آلانین به کبد منتقل می‌شود. یکی از اسیدهای آمینه بسیار مهم که همانند گلوتامین نقش انتقال‌دهنده گروه آمینی به‌صورت غیر سمی را دارد آلانین می‌باشد که از طریق سیکل گلوکز – آلانین (Glucose- alanine cycle) ایجاد می‌گردد (شکل ۸-۳).

در عضله و برخی از بافت‌های غیرکبدی که اسیدهای آمینه برای تأمین انرژی تجزیه می‌شوند، گروه‌های آمینی طی فرآیند ترانس آمیناسیون به‌صورت گلوتامات جمع‌آوری می‌شوند. گلوتامات تولید شده جهت انتقال به کبد می‌تواند به گلوتامین تبدیل شود. یا اینکه گروه α – آمینی خود را به پیروات که محصول فرایند گلیکولیز در عضله می‌باشد، انتقال دهد. این واکنش توسط آلانین – آمینوترانسفراز کاتالیز می‌شود. آلانین حاصل از طریق گردش خون به کبد منتقل و وارد چرخه گلوکز- آلانین می‌شود. همان‌طور که در شکل ۸-۳ مشاهده می‌گردد سیکل گلوکز- آلانین نقش تنظیم قند خون در بین وعده‌های غذایی را به عهده دارد.

۱-۵-۳ سیکل اوره و دفع ترکیبات زائد نیتروژن دار

گروه آمینی در کبد پستانداران درصورتی‌که صرف سنتز سایر اسیدهای آمینه (اسیدهای آمینه غیرضروری (Nonessential)، نوکلئوتیدها و یا آمین‌های بیولوژیک نشود و بیش‌ازحد نیاز باشد به اوره تبدیل می‌شود که از طریق کلیه‌ها و از راه ادرار دفع می‌گردد. می‌توان گفت که در سیستم حیاتی پستانداران، اثرات سمی آمونیاک در کبد با سنتز اوره از بین می‌رود. بیشتر موجودات آبزی، نظیر ماهی‌های استخوانی، نیتروژن آمینی را به شکل آمونیاک دفع کرده و بنابراین حیوانات آمونوتلیک (Ammonotelic animals) نامیده می‌شوند.

در مورد ماهی‌ها، دفع آمونیاک از آبشش‌هایشان به سهولت انجام می‌گیرد چون آمونیاک به‌راحتی در آب حل شده و با مقدار زیاد آب رقیق شده و دفع می‌گردد ولی در مورد انسان و سایر حیوانات خاکزی دفع به‌صورت NH_4^+ مشکل‌ساز است چون همراه با دفع بدین‌صورت سایر یون‌ها مانند کلر Cl^- و فسفات PO_4^{2-} نیز بایستی دفع شوند. همچنین باز جذب آمونیاک از سیستم توبول‌های کلیوی نیز اتفاق می‌افتد که باعث

تجمع و افزایش آمونیاک در مغز و اثرات سمی (Toxic) آمونیاک در مغز می‌شود که قبلاً راجع به آن صحبت شد؛ بنابراین در انسان و سایر جانداران با مصرف انرژی یون آمونیوم (NH_4^+) به فرم اوره درمی‌آید که برای این کار به مقدار قابل‌ملاحظه‌ای ATP نیاز می‌باشد. در موجودات اورئوتلیک، آمونیاک تجمع یافته در میتوکندری سلول‌های کبدی، طی چرخه اوره به اوره تبدیل می‌شود که این مسیر در سال ۱۹۳۲ توسط هانس کربس (شخصی که بعداً چرخه اسیدسیتریک را کشف نمود) کشف گردید. تولید اوره منحصراً در کبد به انجام رسیده و این سرنوشت بیشتر آمونیاکی است که به این محل می‌رسد. بعد از تولید اوره به داخل گردش خون ترشح‌شده و نهایتاً از طریق ادرار دفع می‌گردد. در پرندگان وزن مسئله مهمی است. دفع اوره در این موجودات مستلزم دفع قابل‌توجهی آب از بدن می‌باشد؛ بنابراین در پرندگان فرم دفعی به شکل اسیداوریک (Uric acid) می‌باشد که جسمی سفید و کریستالی می‌باشد؛ و به‌صورت نیمه جامد دفع می‌شود که حاوی مقدار خیلی کمی آب است.

۲-۵-۳ اوره، طی پنج مرحله آنزیمی از آمونیاک تولید می‌گردد.

سیکل اوره درون ماتریکس میتوکندری کبد شروع می‌شود ولی سه مرحله آنزیمی آن در سیتوزول انجام می شود. همان‌گونه که در شکل ۹-۳ می‌بینید، سیکل اوره باعث دفع دو ماده زائد CO_2 و NH_4^+ از بدن می‌شود. همچنین سیکل اوره در تنظیم pH خون دخالت دارد. ساختمان اوره به‌صورت می‌باشد.

$$NH_2\text{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}\text{-}NH_2$$

در ساختمان اوره یکی از NH_2 ها از اسیدآمینه آسپارتات و CO از CO_2 گرفته شده و NH_2 دیگر از یون آمونیوم گرفته شده است.

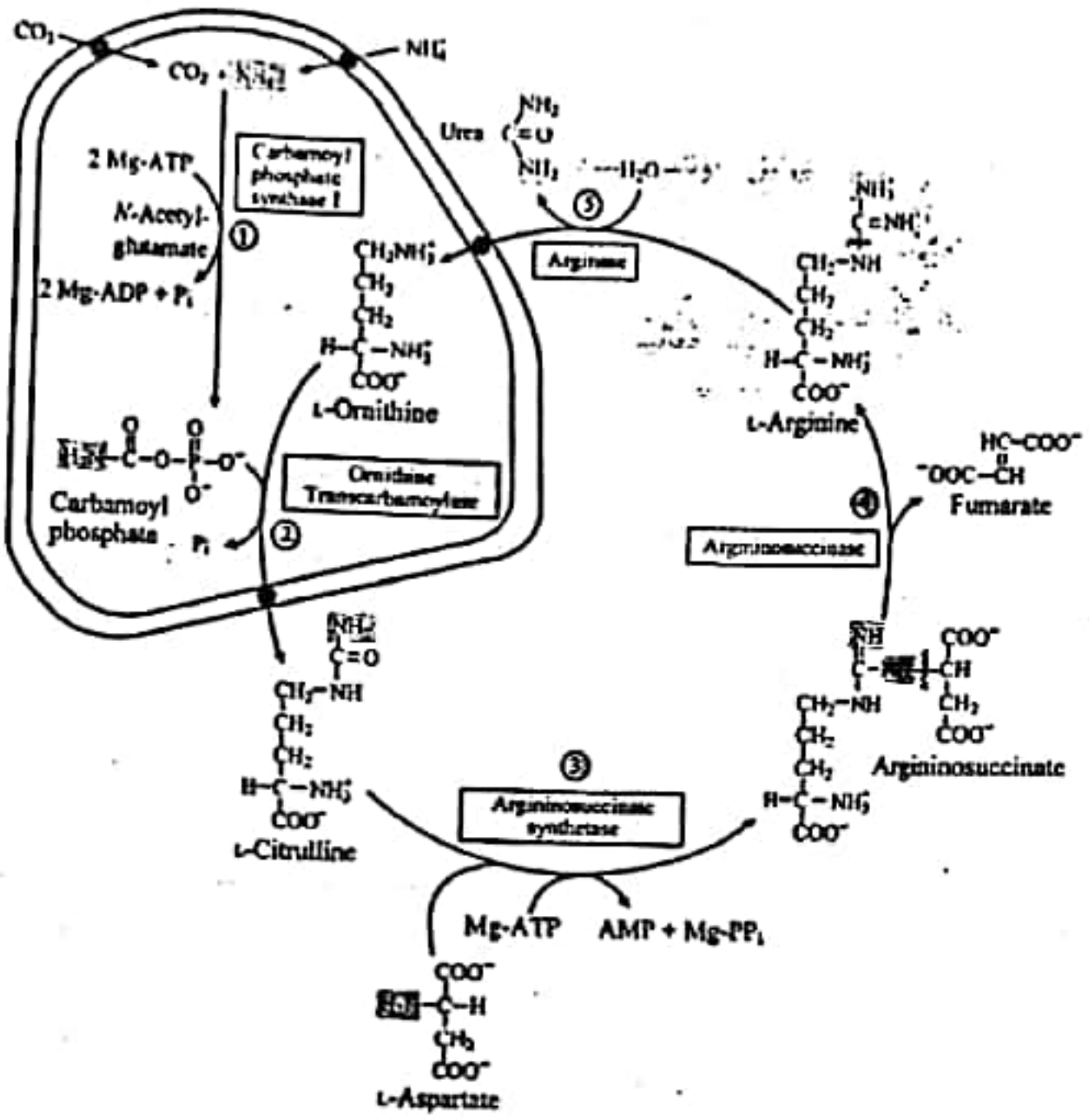
NH_4^+ تولیدی در میتوکندری سلول‌های کبدی با CO_2 (به شکل HCO_3^-) حاصل از تنفس میتوکندریایی ترکیب و در داخل ماتریکس میتوکندری تولید کاربامیل فسفات (carbamoyl phosphate) را می‌نماید. این واکنش وابسته به ATP توسط آنزیم میتوکندریایی کاربامیل فسفات سنتتاز I (Carbamoyl phosphate synthetase I) کاتالیز می‌گردد. شکل سیتوزولی این آنزیم یعنی کاربامیل فسفات سنتتاز II در سنتز بازهای پیریمیدینی شرکت دارد. کاربامیل فسفات به‌عنوان دهنده گروه کاربامیل فسفات فعال وارد چرخه اوره می‌شود. این چرخه شامل پنج واکنش آنزیمی است (شکل ۹-۳).

دومین گروه آمین از طریق واکنش اسید آسپارتیک وارد چرخه می‌شود. این اسیدآمینه در میتوکندری سلول‌های کبدی طی واکنش ترانس آمیناسیون از اگزالواستات تولید، سپس به سیتوزول منتقل شده و در آنجا و در واکنش‌های چرخه اوره، دومین گروه آمین را تأمین می‌کند. آنزیم سوم Argininosuccinic acid synthetase می‌باشد که توسط آن سیترولین و آسپارتات از طریق گروه آمینی آسپارتات به یکدیگر وصل می‌شوند. این واکنش به ATP نیاز دارد.

۱. $CO_2 + NH_4 \xrightarrow[Mg\text{-}ATP]{\text{کاربامیل سنتتاز I}}$ کاربامیل فسفات

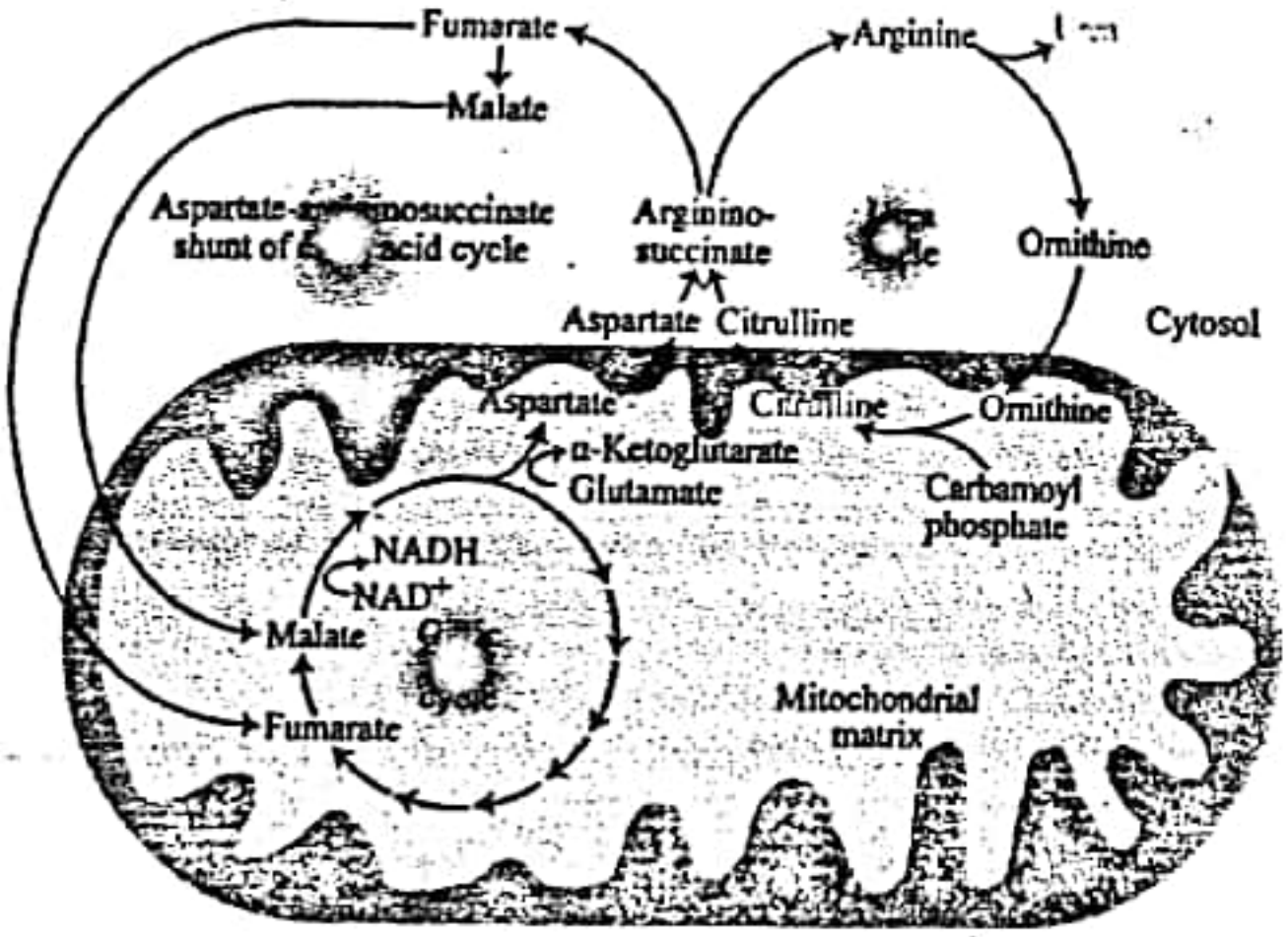
2. کاربامیل فسفات + اورنیتین $\xrightarrow{\text{اورنیتین ترانس کاربامیلاز}}$ سیترولین

3. سیترولین + آسپارتات $\xrightarrow[Mg\text{-}ATP]{\text{آرژینوسوکسینیک اسید سنتتاز}}$ آرژینوسوکسینات



شکل ۹-۳ : تولید اوره توسط چرخه اوره

در مرحله چهارم آنزیم Argininosuccinase بر روی Argininosuccinate عمل کرده و فومارات (fumarate) را جدا می‌نماید که می‌تواند تولید اگزالواستات (oxaloacetate) و سپس آسپارتات (Aspartate) نماید (شکل ۱۰-۳).



شکل ۱۰-۳: ارتباط موجود بین چرخه اوره و چرخه اسیدسیتریک

در نهایت در مرحله پنجم آنزیم Arginase موجب شکستن هیدرولیتیکی گروه گوانیدینو در آرژنین را کاتالیز کرده و اوره تولید می‌کند. تنظیم آلوستریک- حداقل یک آنزیم کلیدی، واکنش‌ها را در چرخه اوره تنظیم می‌نماید. اولین آنزیم این مسیر یعنی کربامیل فسفات سنتتاز I، توسط N- استیل گلوتامات فعال می‌گردد.

از جمله ویژگی‌های تشکیل اوره عبارتند از:

- سیترولین و اورنیتین که هر دو ساختمان L- آلفا آمینواسید دارند در ساختمان پروتئین‌ها شرکت نمی‌کنند.
- واکنش‌های چرخه اوره از لحاظ انرژی و ساختار مولکولی به دو بخش تقسیم می‌شوند.

الف) واکنش‌های انرژی‌خواه که در هر مرحله نسبت به مرحله قبل مولکول درشت‌تری حاصل می‌شود. این بخش با تولید آرژینینوسوکسینات پایان می‌یابد.

ب) واکنش‌های تجزیه که در هر مرحله سوبسترا به دو مولکول کوچک‌تر تبدیل می‌گردد و سرانجام منجر به تولید اوره و اورنیتین می‌گردد.

- مراحل آنزیمی ۱ و ۳ در سیکل اوره هر کدام معادل دو پیوند فسفات‌دار انرژی مصرف می‌کنند پس با هر دور سیکل اوره بدن معادل ۴ پیوند فسفات‌دار پرانرژی، انرژی مصرف می‌نماید.

۳-۶ ارتباط چرخه‌های اسیدسیتریک و اوره

به دلیل اینکه فومارات تولیدی در واکنش آنزیم argininosuccinase، یک ترکیب واسطه در چرخه اسیدسیتریک نیز می‌باشد، اساساً این دوچرخه در فرآیندی که دوچرخه کربس (Krebs bicycle) نامیده می‌شود با یکدیگر مرتبط هستند (شکل ۱۰-۳). ارتباط بین این مسیرها سبب کاهش قیمت انرژتیک سنتز اوره می‌گردد. سنتز یک مولکول اوره نیاز به چهار گروه پیوند پرانرژی فسفات‌دار دارد. چرخه اوره از طریق آسپارتات منجر به تبدیل اگزالواستات به فومارات شده و تولید مجدد اگزالواستات همراه با تولید NADH در واکنش مالات دهیدروژناز می‌شود. هر مولکول NADH در طی تنفس میتوکندریایی تولید ۲/۵ مولکول ATP می‌نماید و بدین ترتیب به میزان زیادی مصرف کلی انرژتیک سنتز اوره را کاهش می‌دهد.

نقص‌های ژنتیکی چرخه اوره می‌تواند زندگی را به مخاطره اندازد افراد مبتلابه نقص‌های ژنتیکی در هر کدام از آنزیم‌های شرکت‌کننده در تولید اوره نمی‌توانند غذاهای غنی از پروتئین را تحمل نمایند. اسیدهای آمینه‌ای که بیش از میزان موردنیاز روزانه برای سنتز پروتئین خورده می‌شوند در کبد دی‌آمینه شده و تولید آمونیاکی می‌کنند که نمی‌تواند به اوره تبدیل شود لذا در گردش خون منتقل می‌گردد و همان‌طور که اشاره شد آمونیاک فوق‌العاده سمی است. انسان نمی‌تواند با رژیم غذایی فاقد پروتئین زنده بماند. انسان قادر به سنتز نیمی از ۲۰ اسیدآمینه استاندارد نبوده و لازم است این اسیدهای آمینه ضروری

جدول ۱-۳: اسیدهای آمینه ضروری و غیرضروری در انسان و موش آلبینو Albino

Nonessential	*Conditionally essential**	*Essential*
Alanine	Arginine	Histidine
Asparagine	Cysteine	Isoleucine
Aspartate	Glutamine	Leucine
Glutamate	Glycine	Lysine
Serine	Proline	Methionine
	Tyrosine	Phenylalanine
		Threonine
		Tryptophan
		Valine

*Required to some degree in young, growing animals, and/or sometimes during illness.

(جدول ۱-۳) توسط مواد غذایی تأمین گردند.

درمان مبتلایان نقص چرخه اوره

درمان‌های متعددی برای مبتلایان به نقص در چرخه اوره انجام می‌گیرد. تجویز اسیدهای آروماتیک بنزوات و فنیل استات در رژیم غذایی می‌تواند به کاهش مقادیر آمونیاک خون کمک نماید. سایر درمان‌ها برای یک کمبود آنزیمی خاص، اختصاصی‌ترمی‌باشند. کمبود N – استیل گلوتامات سنتتاز همراه با عدم وجود فعال‌کننده طبیعی کربامیل فسفات سنتتاز I خواهد بود. این حالت را می‌توان با تجویز کربامیل گلوتامات درمان نمود. این ترکیب مشابه N – استیل گلوتامات بوده و در فعال‌سازی کربامیل فسفات سنتتاز I مؤثر است. افزودن آرژنین به رژیم غذایی در درمان کمبودهای اورنیتین ترانس کربامیلاز، آرژنینوسوکسینات سنتتاز و آرژنینوسوکسینات لیاز، مفید می باشد. بسیاری از این درمان‌ها بایستی همراه با اضافه کردن اسیدهای آمینه ضروری باشد. به جز اینکه اگر کمبود Arginase باشد که بسیار نادر است بایستی سوبسترای آنزیم یعنی آرژنین از رژیم غذایی حذف گردد.

بیماری‌های افزایش اوره خون

مقادیر بسیار بالای اوره پلاسما که با نارسایی کلیوی همراه می‌شود به اورمیا (Uremia) یا سندرم اورمیک (uremic syndrome) موسوم است. چنانچه اورمیا با دیالیز نمودن خون درمان نشود می‌تواند کشنده باشد. اورمیا برحسب علت به سه دسته اصلی کلیوی و پیش کلیوی و پس کلیوی طبقه‌بندی می‌شود:

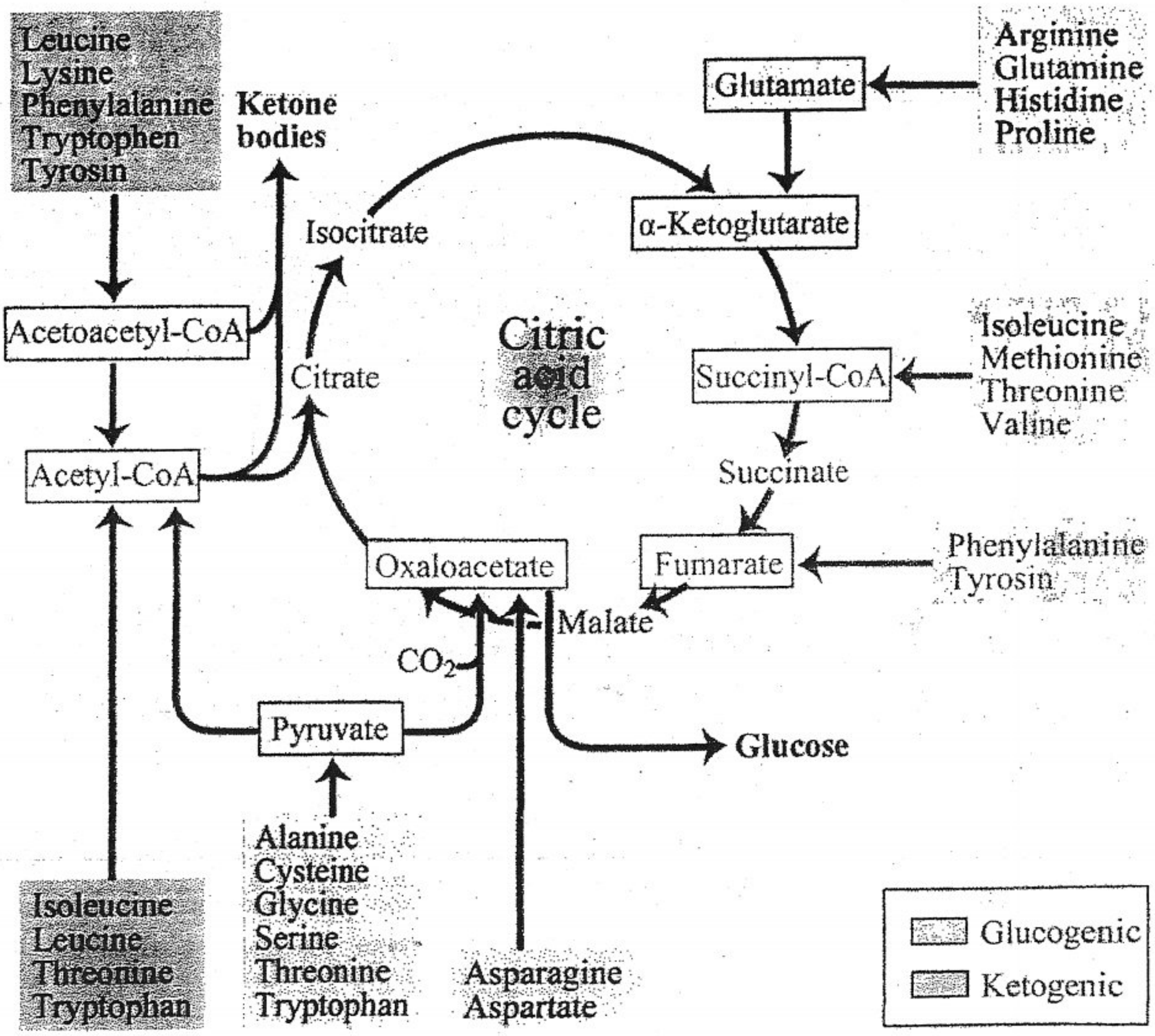
الف) پیش کلیوی (Prerenal): علت اصلی اورمیای پیش کلیوی کاهش جریان خون کلیوی است. با کاهش جریان خون کلیوی و انتقال کمتر اوره به کلیه، اوره کمتری فیلتر می‌شود. از مهم‌ترین عوامل این نوع اورمیا می‌توان به نارسایی و احتقان قلب، شوک، خونریزی، دهید راسیون و هر عاملی که منجر به کاهش قابل‌توجه حجم خون شود، اشاره کرد. همچنین یک رژیم غذایی غنی از پروتئین یا افزایش کاتابولیسم پروتئین‌های بدن در شرایط استرس، تب، جراحی، درمان با کورتیکواستروئیدها و خونریزی دستگاه گوارش ممکن است میزان اوره خون را افزایش دهند.

ب) کلیوی (Renal): در این نوع اورمیا، با کاهش فعالیت کلیه‌ها و به دنبال آن با کاهش دفع اوره، غلظت اوره پلاسمایی افزایش می‌یابد. از شایع‌ترین علل اورمیای کلیوی می‌توان به نارسایی کلیوی مزمن و حاد، نفریت‌های گلومرولی، نکروزتوبولی و سایر بیماری‌های کلیوی اشاره کرد.

ج) پس کلیوی (Postrenal): که در آن مسیر دفع ادرار مسدود می‌شود. انسداد مجاری ادراری ممکن است به علت تشکیل سنگ‌های دستگاه ادراری، تومورهای مثانه و پروستات یا عفونت شدید آن‌ها باشد.

۳-۷ مسیرهای تجزیه اسیدهای آمینه

مسیرهای کاتابولیسم اسیدهای آمینه، درمجموع به‌طور طبیعی تنها ٪۱۰ تا ٪۱۵ انرژی را در بدن انسان تأمین می‌کند و به‌اندازه گلیکولیز و اکسیداسیون اسیدهای چرب فعال نیستند. مسیرهای کاتابولیکی اسیدهای آمینه بیست‌گانه تنها به پنج محصول منتهی می‌شوند که هر پنج محصول نیز از ترکیبات واسطهٔ چرخه کربس هستند (شکل ۱۱-۳). سپس اسکلت‌های کربنی ممکن است در گلوکونئوژنز و یا کتوژنز شرکت کرده و یا به‌صورت کامل و طی فرآیند اکسیداسیون به CO_2، H_2O و ATP تبدیل شوند. تمامی یا قسمتی از اسکلت کربنی ده اسیدآمینه نهایتاً به استیل کوآ تجزیه می‌شوند. پنج اسیدآمینه به α – کتو گلوتارات، چهار اسیدآمینه به سوکسنیل کوآ، دو اسیدآمینه به فومارات و دو اسیدآمینه به اگزالواستات تبدیل می‌شوند. تعدادی از اسیدهای آمینه بیش از یکبار نمایش داده شده‌اند چون سنتز آن‌ها در بدن مهره‌داران از راه‌های مختلف می‌باشد.



شکل ۱۱-۳: خلاصه‌ای از نقاط ورودی اسیدهای آمینه به داخل چرخه اسیدسیتریک و اسیدهای آمینه گلوکوژنیک و کتوژنیک – چهار مورد از اسیدهای آمینه هم گلوکوژنیک و هم کتوژنیک می‌باشند که شامل فنیل آلانین، تریپتوفان- تیروزین و ایزولوسین می‌باشند. تنها دو اسیدآمینه لوسین و لیزین منحصراً کتوژنیک می‌باشند.

۱-۷-۳ اسیدهای آمینه گلوکوژنیک و کتوژنیک

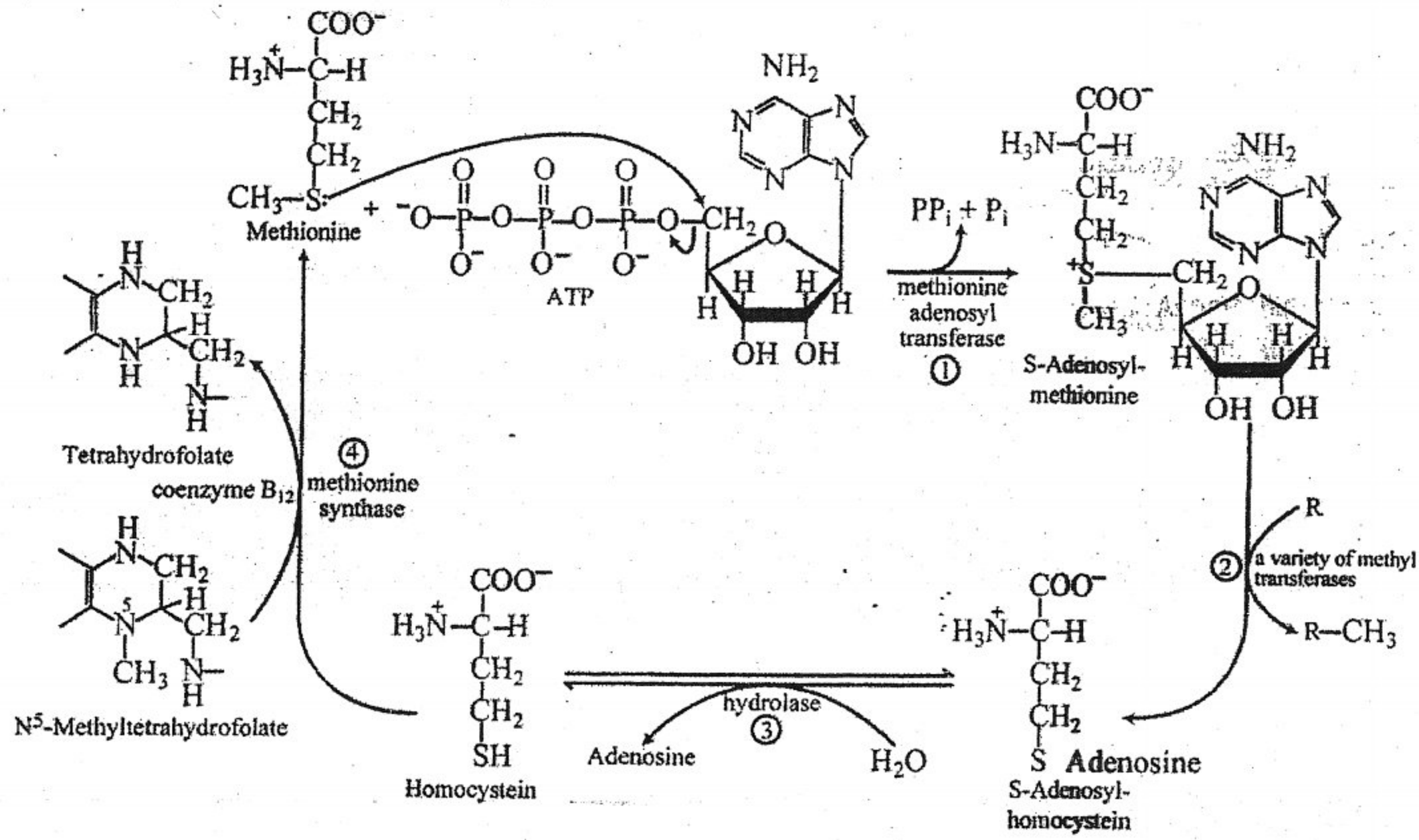
اسیدهای آمینه‌ای که محصول نهایی کاتابولیسم آن‌ها به استواستیل کوآ و یا استیل کوآ ختم شوند، می‌توانند در کبد به اجسام کتونی تبدیل شوند. لذا آن‌ها را اسیدهای آمینه کتوژنیک می‌نامند. این اسیدهای آمینه شامل: تریپتوفان، فنیل آلانین، تیروزین، ایزولوسین، لوسین و لیزین هستند. توانایی این اسیدهای آمینه برای تولید اجسام کتونی در گرسنگی‌های طولانی و بیماری‌های خاص نظیر دیابت شیرین برجسته‌تر می‌شود، به‌طوری‌که در این شرایط مقدار زیادی اجسام کتونی از اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه کتوژنیک تولید می‌شوند (شکل ۱۱-۳).

بعلاوه اسیدهای آمینه‌ای که محصول نهایی کاتابولیسم آن‌ها به پیروات، آلفا-کتوگلوتارات، سوکسنیل کوآ، فومارات و یا اگزالواستات ختم می‌شوند، می‌توانند به گلوکز و یا گلیکوژن تبدیل شوند که به آن‌ها اسیدهای آمینه گلوکوژنیک یا گلیکوژنیک می‌گویند. البته مرز مشخصی بین اسیدهای آمینه کتوژنیک و گلوکوژنیک وجود ندارد، زیرا برخی از اسیدهای آمینه نظیر تریپتوفان، فنیل آلانین، تیروزین و ایزولوسین هم کتوژنیک و هم گلوکوژنیک هستند. لوسین و لیزین تنها اسیدهای آمینه‌ای هستند که فقط کتوژنیک می‌باشند. این اسیدهای آمینه به‌وفور در پروتئین‌ها یافت می‌شوند.

تجزیه اسیدآمینه لوسین سهم قابل‌توجهی در ایجاد کتوزیس دوران گرسنگی دارد.

بسیاری از کوفاکتورهای آنزیمی نقش‌های مهمی را در کاتابولیسم اسیدهای آمینه دارند.

تتراهیدروفولات (Tetrahydrofolate, H_4 folate) کوفاکتوری است که در باکتری سنتز می‌گردد. فرم اکسیده آن یعنی فولات ویتامینی است که در پستانداران در طی دو مرحله توسط آنزیم diydrofolate reductase به فرم احیا شده تتراهیدرو فولات H_4 folate تبدیل می‌گردد. تتراهیدروفولات به‌عنوان منبع اصلی دهنده واحدهای یک کربنه در انواع مختلفی از واکنش‌های متابولیکی شرکت می‌نمایند. گروه یک کربنه انتقالی، در هر کدام از سه حالت اکسیداسیون فولات، به ازت شماره ۵ و یا ۱۰ و یا هر دو متصل می‌گردد. هرچند که تتراهیدروفولات می‌تواند یک گروه متیل را بر روی ازت ۵ خود حمل نماید، این پتانسیل انتقال گروه متیل برای اکثر واکنش‌های بیوسنتتیک کافی نمی‌باشد. S - آدنوزیل متیونین (S-Adenosylmethionine, adoMet) کوفاکتور مناسب برای انتقالات بیولوژیکی گروه متیل می‌باشد. این کوفاکتور از ATP و متیونین در حضور متیونین آدنوزیل ترانسفراز سنتز می‌گردد (شکل ۱۲-۳ مرحله ۱) طی این واکنش سه فسفات پرانرژی آزاد می‌شود یا به‌عبارت‌دیگر سه پیوند شامل ۲ پیوند پرانرژی می‌شکنند. انتقال گروه متیل از S- آدنوزیل متیونین به یک گیرنده، همراه با تولید S - آدنوزیل هموسیستئین می‌باشد (شکل ۱۲-۳ مرحله ۲) که به هموسیستئین و متیونین تجزیه می‌گردد (شکل ۱۲-۳ مرحله ۳). در مرحله ۴ با انتقال یک گروه متیل به هموسیستئین در واکنش با حضور متیونین سنتتاز، متیونین مجدداً تولید می‌گردد و برای تکمیل یک چرخه متیل فعال شده، متیونین مجدداً به S - آدنوزیل متیونین تبدیل می‌شود.

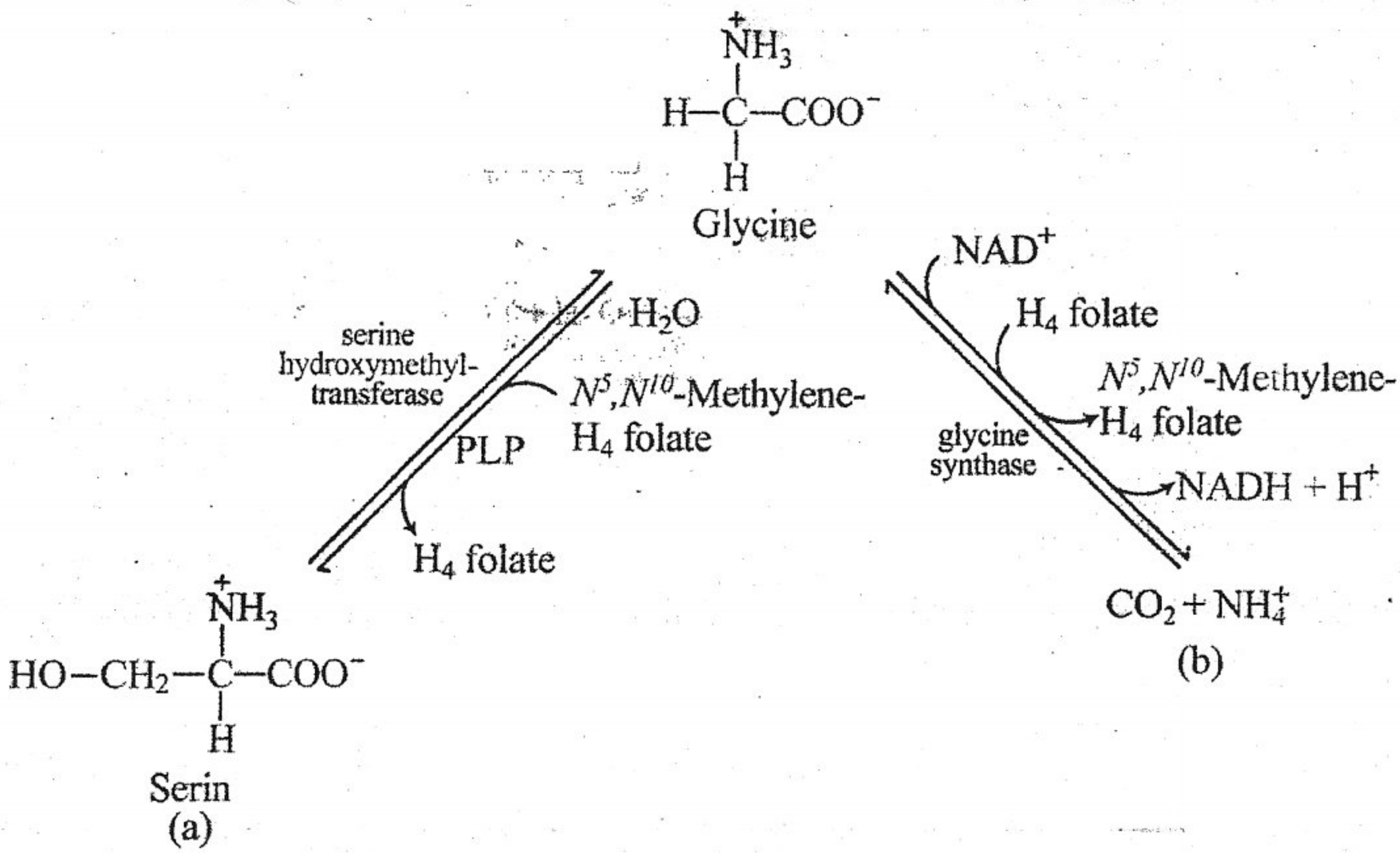


شکل ۱۲-۳: سنتز متیونین و S- آدنوزیل متیونین در یک چرخه متیل فعال شده (توضیح کامل در متن داده شده است).

۲-۷-۳ دو مسیر متابولیکی گلیسین

همان‌طور که در شکل ۱۳-۳ مشاهده می‌شود، برای متابولیسم گلیسین دو مسیر وجود دارد. در مسیر اصلی و در باکتری (شکل a ۱۳-۳) گلیسین با افزوده شدن یک گروه هیدروکسی متیل (CH_2-OH) توسط آنزیم سرین – هیدروکسی متیل ترانسفراز (Serinehydroxymethyl–transferase) به سرین تبدیل می‌گردد. این آنزیم نیاز به کوفاکتور پیریدوکسال فسفات PLP و همچنین متیلن تتراهیدروفولات (N^5, N^{10} – Methylene H_4 folate) دارد.

در مسیر دوم که در حیوانات غالب است، گلیسین متحمل تجزیه اکسیداتیو به NH_4^+ و CO_2 و یک گروه متیلن ($-CH_2-$) می‌گردد (شکل b ۱۳-۳). این واکنش که به‌راحتی قابل‌برگشت است توسط گلیسین سنتتاز کاتالیز شده و نیاز به تتراهیدروفولات به‌عنوان گیرنده گروه متیلن دارد. در این مسیر تجزیه اکسیداتیو دو کربن گلیسین وارد سیکل TCA نمی‌گردد. یک کربن به‌صورت CO_2 از دست می‌رود و کربن دیگر به‌صورت گروه متیلن در N^5, N^{10} متیلن تتراهیدروفولات درمی‌آید که خود یک گروه دهنده متیل در واکنش‌های بیوسنتز می‌باشد.



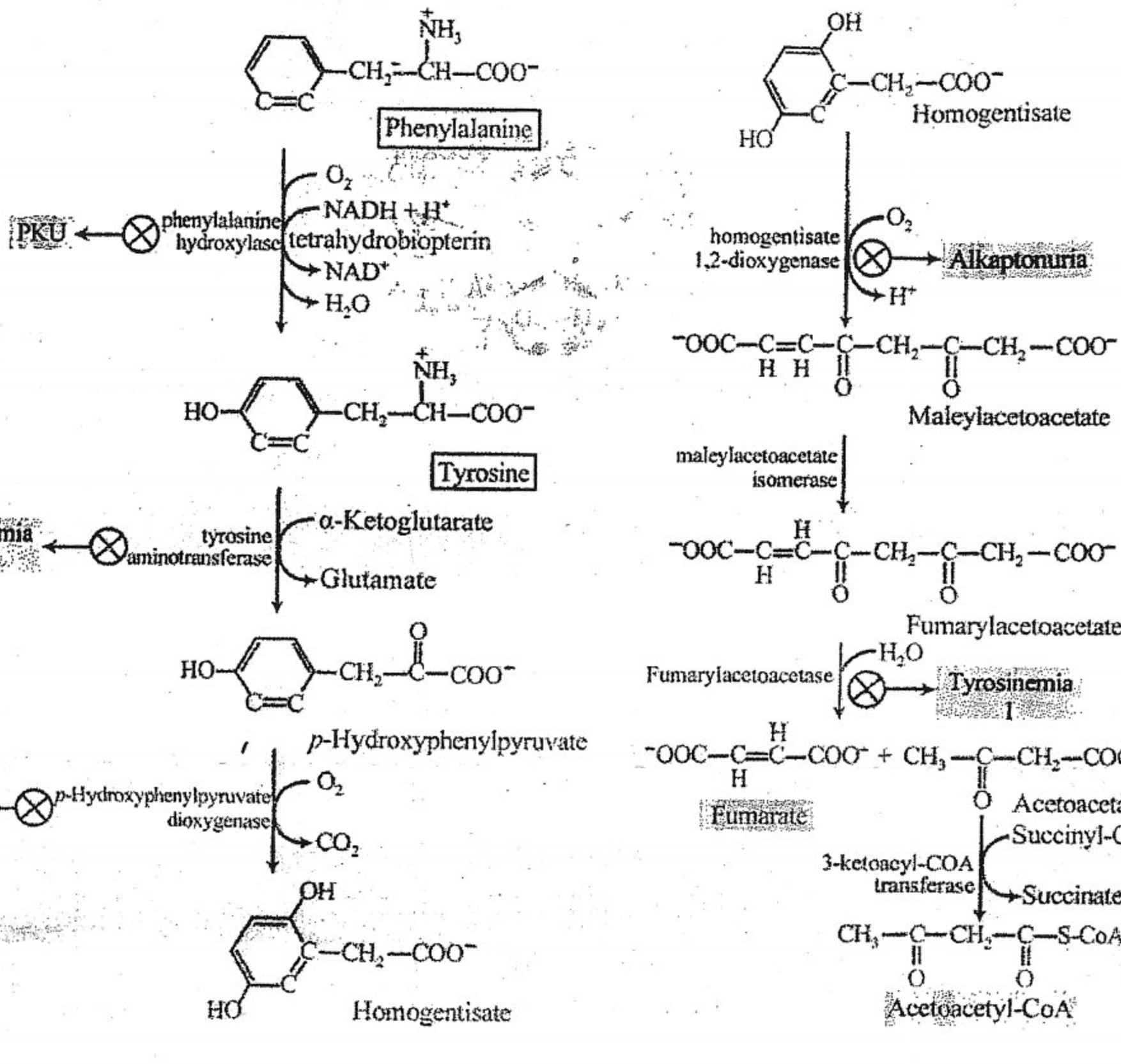
شکل ۱۳-۳. دو سرنوشت متابولیکی گلیسین. (a) تبدیل به سرین. (b) تجزیه به دو ماده دفعی CO_2 و NH_4^+. تتراهیدروفولات (TH_4) واحدهای یک کربنه را در هر دو این واکنش‌ها حمل می‌نماید.

۳-۷-۳ کاتابولیسم اسیدهای آمینه آروماتیک

تجزیه اسیدآمینه تریپتوفان پیچیده‌ترین مسیر کاتابولیسم اسیدهای آمینه در بافت حیوانی است. لذا راجع به مراحل کاتابولیسم آن در این قسمت توضیحی داده نمی‌شود.

۴-۷-۳ تجزیه فنیل آلانین

تجزیه فنیل آلانین به دلیل اینکه نقص‌های وراثتی در آنزیم‌های این مسیر منجر به بیماری‌های وراثتی در انسان می‌شود، حائز اهمیت است. فنیل آلانین و محصول اکسیداسیون آن یعنی تیروزین که هر دو ۹ کربنه بوده، به دو قطعه ۴ کربنه شکسته می‌شوند که هر دو وارد چرخه کربس می‌شوند. یک قطعه به استواستیل کوآ و قطعه دیگر به‌صورت فومارات بازیافت می‌شود. کربن باقیمانده نیز به شکل CO_2 خارج می‌شود (شکل ۱۴-۳).



شکل ۱۴-۳: مسیرهای کاتابولیکی فنیل آلانین و تیروزین – در انسان، این اسیدهای آمینه به‌طور طبیعی به استر استیل کوآ و فومارات تبدیل می‌گردند. نقص‌های ژنتیکی بسیاری از این آنزیم‌ها، منجر به بیماری ارثی در انسان می‌گردند (هاشور زده‌شده).

۳-۷-۵ واکنش‌های تیروزین

تیروزین طی واکنش آنزیم فنیل آلانین هیدروکسیلاز از فنیل آلانین حاصل می‌شود (شکل ۱۴-۳)؛ بنابراین باوجودی که فنیل آلانین یک اسیدآمینه ضروری است به شرطی که رژیم غذایی حاوی مقادیر کافی از فنیل آلانین باشد. تیروزین جزء اسیدهای آمینه ضروری نمی‌باشد. با توجه به برگشت‌ناپذیر بودن واکنش فوق‌الذکر، تیروزین نمی‌تواند جایگزین فنیل آلانین گردد.

اسیدآمینه تیروزین پیش ساز سنتز کاته کولامین‌های(Catecholamine) دوپامین، نوراپی‌نفرین و اپی‌نفرین و رنگ‌دانه پوست و مو یعنی ملانین و هورمون‌های تیروئیدی می‌باشد. اولین واکنش در مسیر سنتز ملانین از تیروزین توسط تیروزیناز کاتالیز می‌شود. محصول این واکنش دوپا (Dopa) یا دی هیدروکسی فنیل آلانین می‌باشد. این آنزیم از لحاظ عملکرد مشابه آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز در مسیر سنتز کاته کولامین‌ها است ولی از لحاظ نوع کوآنزیم مورداستفاده متفاوت است. آنزیم تیروز یناز وابسته به یون مس (Cu^{2+}) و آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز وابسته به تتراهیدروبیوپترن (Tetrahydrobiopterin) می‌باشد.

۳-۷-۶ آلبینیسم (Albinism) یا زالی

این نقص متابولیکی به دلیل فقدان آنزیم تیروزیناز در مسیر سنتز رنگ‌دانه ملانین از تیروزین به وجود می‌آید که بیماری آلبینیسم را به وجود می‌آورد. ازهر صد هزار نفر تولد ۳ نفر با این نقص وجود دارند. در این افراد موها سفید و رنگ پوست کاملاً صورتی است.

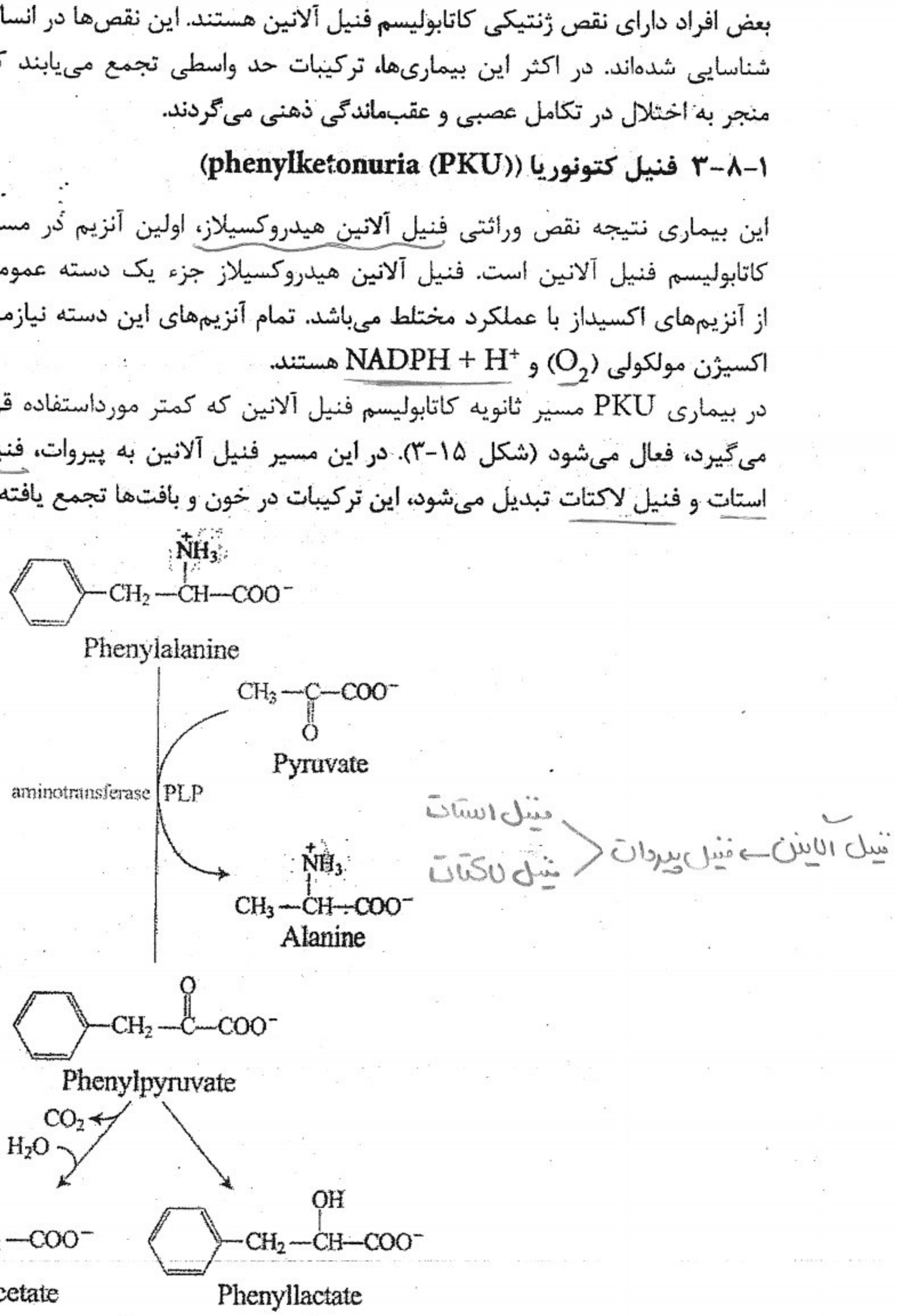
۳-۸ اختلالات وراثتی در کاتابولیسم فنیل آلانین

بعض افراد دارای نقص ژنتیکی کاتابولیسم فنیل آلانین هستند. این نقص‌ها در انسان شناسایی شده‌اند. در اکثر این بیماری‌ها، ترکیبات حد واسطی تجمع می‌یابند که منجر به اختلال در تکامل عصبی و عقب‌ماندگی ذهنی می‌گردند.

۳-۸-۱ فنیل کتونوریا (phenylketonuria (PKU))

این بیماری نتیجه نقص وراثتی فنیل آلانین هیدروکسیلاز، اولین آنزیم در مسیر کاتابولیسم فنیل آلانین است. فنیل آلانین هیدروکسیلاز جزء یک دسته عمومی از آنزیم‌های اکسیداز با عملکرد مختلط می‌باشد. تمام آنزیم‌های این دسته نیازمند اکسیژن مولکولی (O_2) و $NADPH + H^+$ هستند.

در بیماری PKU مسیر ثانویه کاتابولیسم فنیل آلانین که کمتر مورداستفاده قرار می‌گیرد، فعال می‌شود (شکل ۱۵-۳). در این مسیر فنیل آلانین به پیروات، فنیل استات و فنیل لاکتات تبدیل می‌شود، این ترکیبات در خون و بافت‌ها تجمع یافته و

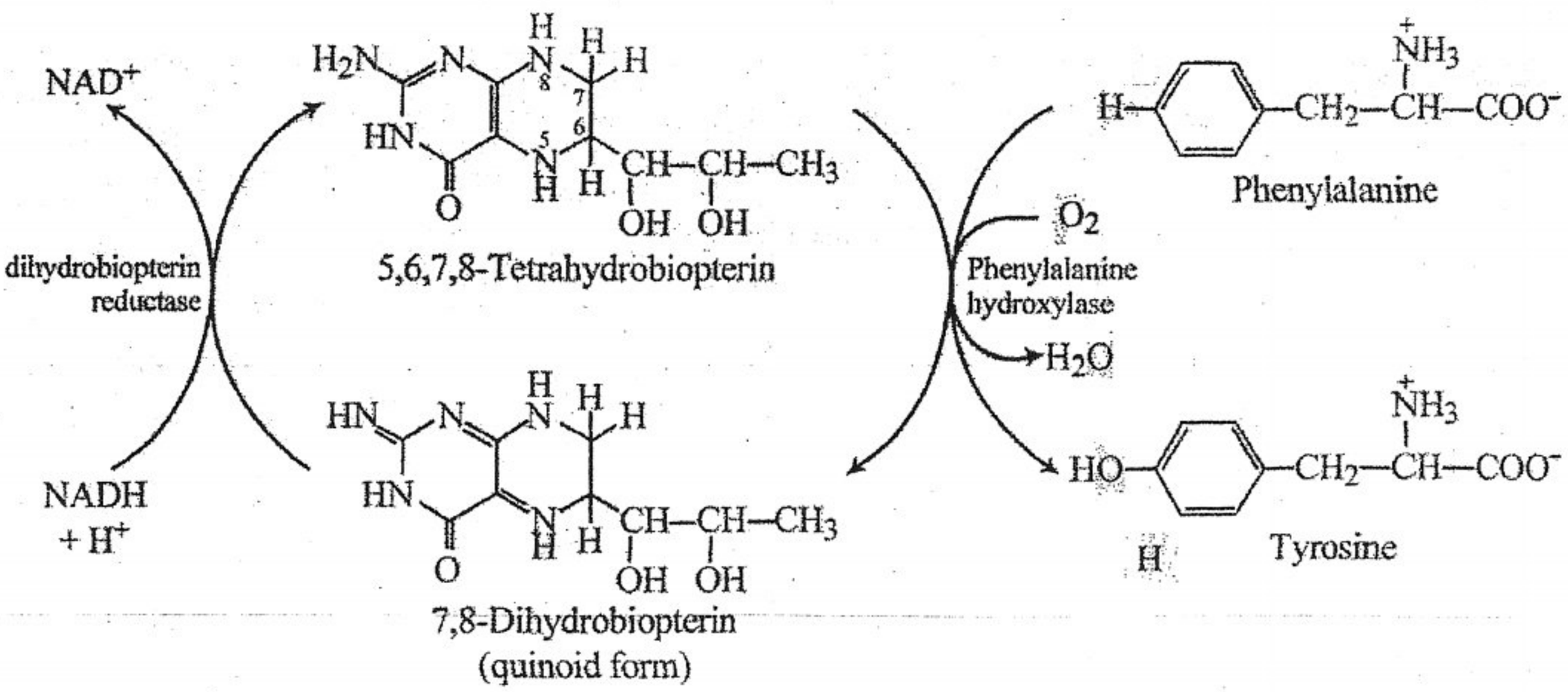


شکل ۱۵-۳: مسیرهای مختلف کاتابولیسم فنیل آلانین در فنیل کتونوری – فنیل آلانین در خون افزایش یافته و سپس در ادرار تجمع می‌یابد. فنیل استات و فنیل لاکتات نیز در ادرار یافت می‌شود.

از طریق ادرار دفع می‌شوند. وجود این ترکیبات در ادرار به آن بوی موش را می‌دهند. تجمع آلانین و متابولیت‌های آن در بافت مغز، رشد طبیعی مغز را مختل کرده و موجب عقب‌ماندگی ذهنی شدید از دوران کودکی می‌گردد.

اگر بیماری در اوایل دوران نوزادی تشخیص داده شود، می‌توان با کنترل رژیم غذایی تا حدود زیادی از عقب‌ماندگی ذهنی پیشگیری کرد. رژیم غذایی این بیماران باید به‌اندازه‌ای فنیل آلانین و تیروزین داشته باشد که فقط نیازهای سنتز پروتئین‌ها را تأمین نماید. به‌عنوان‌مثال پروتئین‌های طبیعی نظیر کازئین شیر بعد از هیدرولیز باید بخش اعظم فنیل آلانین آن خارج شود تا غذای مناسبی برای این بیماران باشد. این محرومیت غذایی حداقل تا پایان دوران کودکی باید حفظ شود. معمولاً از هر ۱۰۰۰۰ نوزادی که متولد می‌شود یکی از آن‌ها PKU دارد. تست‌های ساده‌ای در نوزادان در غالب غربالگری انجام می‌گیرد تا احتمال نقص این آنزیم هر چه زودتر تشخیص داده شود.

PKU همچنین ممکن است با نقص یا کمبود آنزیمی که تولید مجدد تتراهیدروبیوپترین را کاتالیز می‌کند، همراه باشد (شکل ۱۶-۳). درمان این مورد پیچیده‌تر از محدود کردن دریافت فنیل آلانین و تیروزین است. به دلیل اینکه تتراهیدروبیوپترین برای سنتز L – دوپا و ۵ هیدروکسی تریپتوفان که به ترتیب پیش ساز نوروترانسمیترهای اپی‌نفرین و سروتونین هستند، ضروری می‌باشد، بنابراین در این نوع PKU، افزودن تتراهیدرو بیوپترین به‌تنهایی به رژیم غذایی روزانه مؤثر نخواهد بود؛ زیرا این ترکیب ناپایدار بوده و نمی‌تواند از سد خونی مغز (Blood brain barrier) عبور نماید. به همین دلیل بایستی پیش ساز نوروترانسمیترهای اپی‌نفرین و سروتونین نیز به این بیماران تجویز شود.



شکل ۱۶-۳: نقش تترا هیدرو بیوپترین در واکنشی که توسط فنیل آلانین هیدروکسیلاز انجام می‌شود.

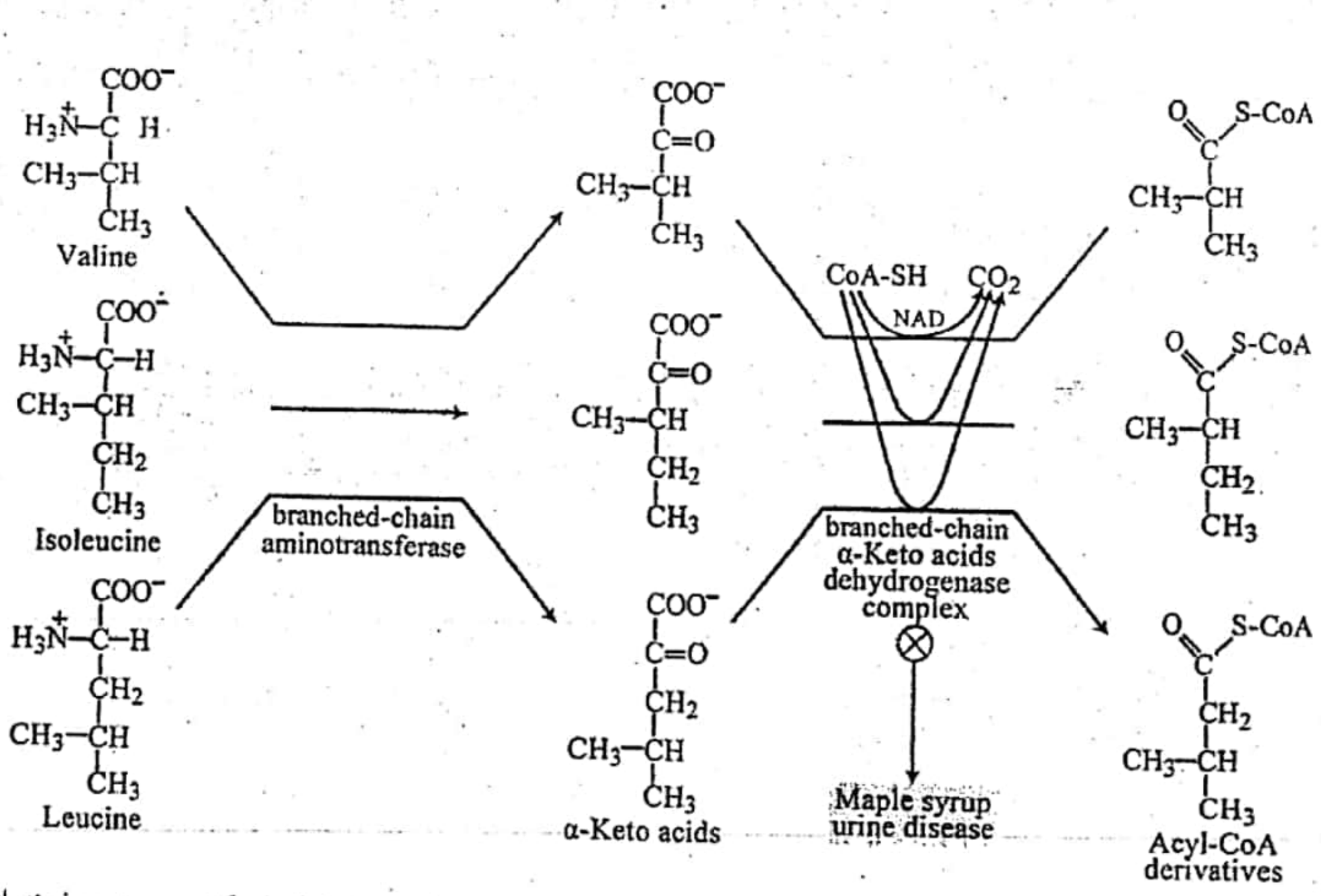
۲-۸-۳ آلکاپتونوریا(Alkaptonuria)

چهارمین آنزیم در راه متابولیکی فنیل الانین هموژانتیزات ۱ و ۲ دی اکسیژناز (Homogentisate dioxygenase) است (شکل ۱۵-۳).

افراد دارای این نقص نمی‌توانند هموژنتیزات (Homogenisate) را بشکنند لذا این ترکیب در خون و سپس از طریق فیلتراسیون کلیه‌ها در ادرار تجمع پیدا می‌کند. بارزترین نشانه بالینی این بیماری تیره شدن رنگ ادرار ۲۴ ساعته در معرض نور و هوا است در ادرار ۲۴ ساعته اوره به آمونیاک تبدیل می‌شود و هموژنتیزات در این pH قلیایی و در اثر نور اکسیژن هوا اکسیده شده و به ترکیبی سیاه‌رنگ تبدیل می‌گردد. در گذشته بر اساس عقاید خرافی افرادی که این مریضی را داشتند و دچار ادرار سیاه‌رنگ بودند را دارای طالع و فال بد می‌دانستند.

۹-۳ کاتابولیسم اسیدهای آمینه شاخه‌دار (Branched-chain amino acids)

اگرچه کاتابولیسم اکثر اسیدهای آمینه در کبد انجام می‌گیرد ولی اسیدهای آمینه شاخه‌دار لوسین، والین و ایزولوسین به‌عنوان یک منبع انرژی عمدتاً در عضله، بافت چربی، کلیه‌ها و مغز نیز تجزیه می‌شوند. این بافت‌های خارج کبدی حاوی ترانس آمینازهای خاصی هستند که در بافت کبد وجود ندارد. این آنزیم‌ها روی اسیدهای آمینه شاخه‌دار اثر کرده و آلفا کتواسید مربوطه را تولید می‌کنند



شکل ۱۷-۳: مسیرهای کاتابولیک سه اسیدآمینه شاخه‌دار، والین، ایزولوسین و لوسین. این مسیرها که در بافت‌های غیر کبدی صورت می‌پذیرند، از نظر دو آنزیم ابتدایی وجه اشتراک دارند. (توضیحات در متن آورده شده است).

(شکل ۱۷-۳). سپس کمپلکس آنزیمی دهیدروژناز اختصاصی آلفاکتواسیدهای شاخه‌دار (branched chain α-keto acid dehydrogenase complex) را با واکنش‌های دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو گروه کربوکسیل را به‌صورت CO_2 جدا نموده و مشتق استیل کوآ اسیدآمینه مربوطه حاصل می‌شود.

۱-۹-۳ بیماری ادرار شربت افرا (MSUD = Maple syrup urine disease)

بیماری ادرار شربت افرا یک نقص وراثتی نسبتاً نادر است که در آن میزان اسیدهای آمینه شاخه‌دار و آلفا کتواسیدهای آن‌ها در خون و ادرار افزایش می‌یابد. علت این اختلال فقدان کمپلکس آنزیمی دهیدروژناز اختصاصی آلفا- کتواسیدهای شاخه‌دار است. نام بیماری به‌واسطه بوی خاصی است که از ادرار افراد مبتلا استشمام می‌شود. درمان این بیماری مستلزم کنترل شدید رژیم غذایی با محدود کردن دریافت اسیدهای آمینه شاخه‌دار می‌باشد. در صورت درمان نشدن بیمار، بیماری به رشد غیرطبیعی مغز، عقب‌ماندگی ذهنی و مرگ زودرس منتهی می‌شود.

۱۰-۳ بیوسنتز اسیدهای آمینه

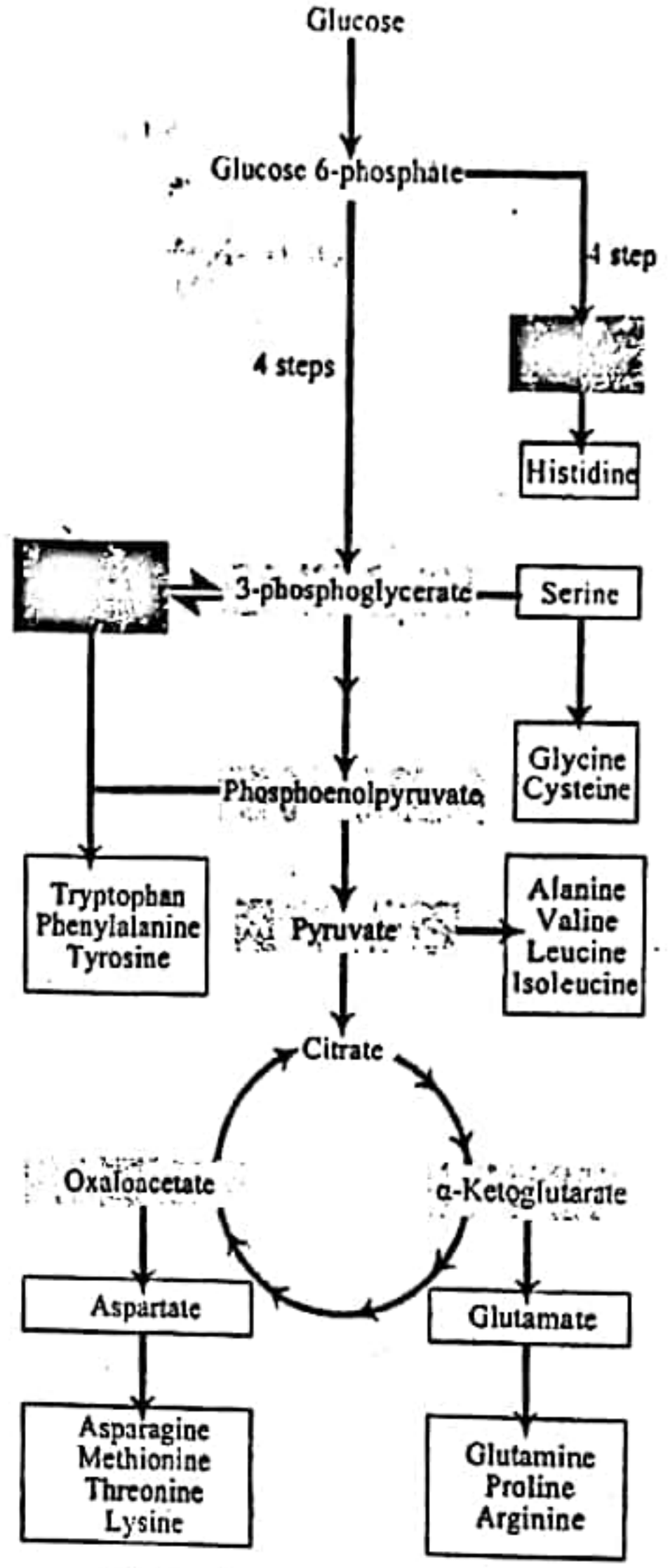
سنتز اکثر اسیدهای آمینه در بدن از ترکیبات حد واسط مسیرهای متابولیکی گلیکولیز بی‌هوازی، چرخه کربس و پنتوز فسفات صورت می‌گیرد (شکل ۱۸-۳). مسیر سنتز برخی از اسیدهای آمینه ساده است ولی برخی نظیر اسیدهای آمینه آروماتیک مسیر سنتز پیچیده‌ای دارند. موجودات زنده از نظر توانایی سنتز اسیدهای آمینه بیست‌گانه تا حدود زیادی متفاوت هستند. درحالی‌که اکثر باکتری‌ها و گیاهان توانایی سنتز هر بیست اسیدآمینه را دارند ولی پستانداران فقط توانایی سنتز اسیدهای آمینه‌ای را دارند که دارای مسیر سنتز ساده‌ای باشند. این اسیدهای آمینه را غیرضروری (Nonessential) و بقیه را که بدن توانایی سنتز آن‌ها را ندارد و حتماً بایستی از منبع غذایی (Diet) تأمین شود را ضروری (Essential) می‌نامند.

۱-۱۰-۳ گلوتامین سنتتاز یک نقطه تنظیمی اولیه در متابولیسم نیتروژن می‌باشد.

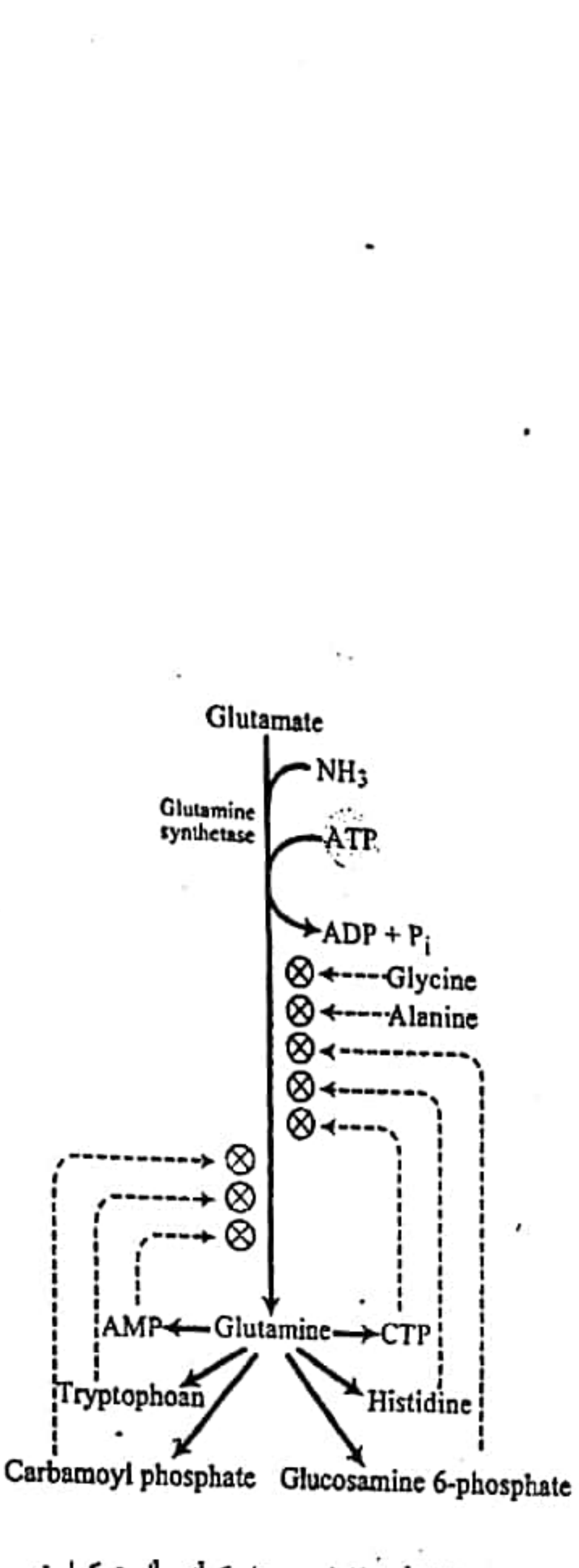
آنزیم گلوتامین سنتتاز را که در شکل ۱۹-۳ مشاهده می‌نمایید یک آنزیم آلوستریک است. به دلیل نقش متابولیکی مهم آن به‌عنوان نقطه ورودی نیتروژن احیاء شده فعالیت آن در تمام موجودات تحت تنظیم می‌باشد. به‌جز آلانین و گلیسین حداقل شش محصول نهایی متابولیسم گلوتامین، مهارکننده‌های آلوستریک این آنزیم می‌باشند. هر مهارکننده تنها منجر به مهار نسبی آنزیم می‌گردد و تأثیر هر هشت مهارکننده سبب مهار کامل آنزیم می‌گردد.

۲-۱۰-۳ بیوسنتز سیستئین از هموسیستئین و سرین

گیاهان و باکتری‌ها سولفور احیاء شده موردنیاز برای سنتز سیستئین و متیونین را از سولفات‌های محیطی دریافت می‌نمایند. در پستانداران، سیستئین از دو اسیدآمینه ساخته

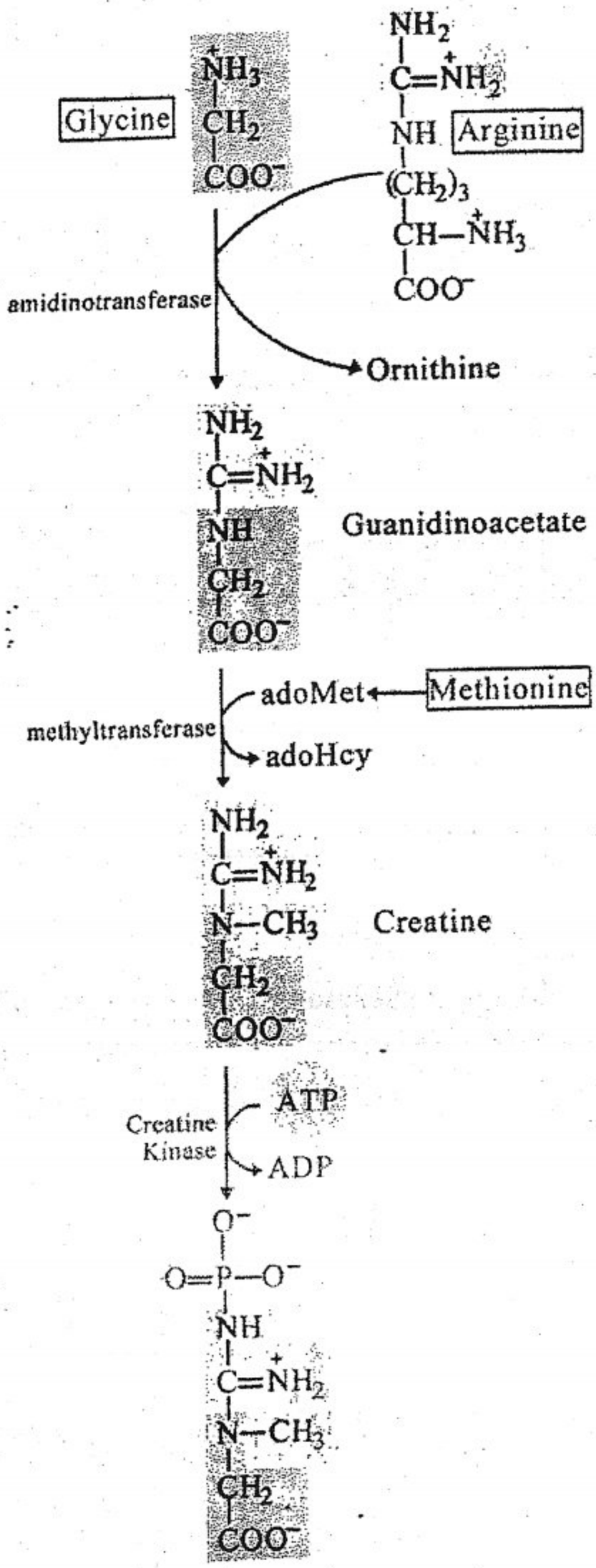


شکل ۱۸-۳: مرور کلی بر بیوسنتز اسیدهای آمینه

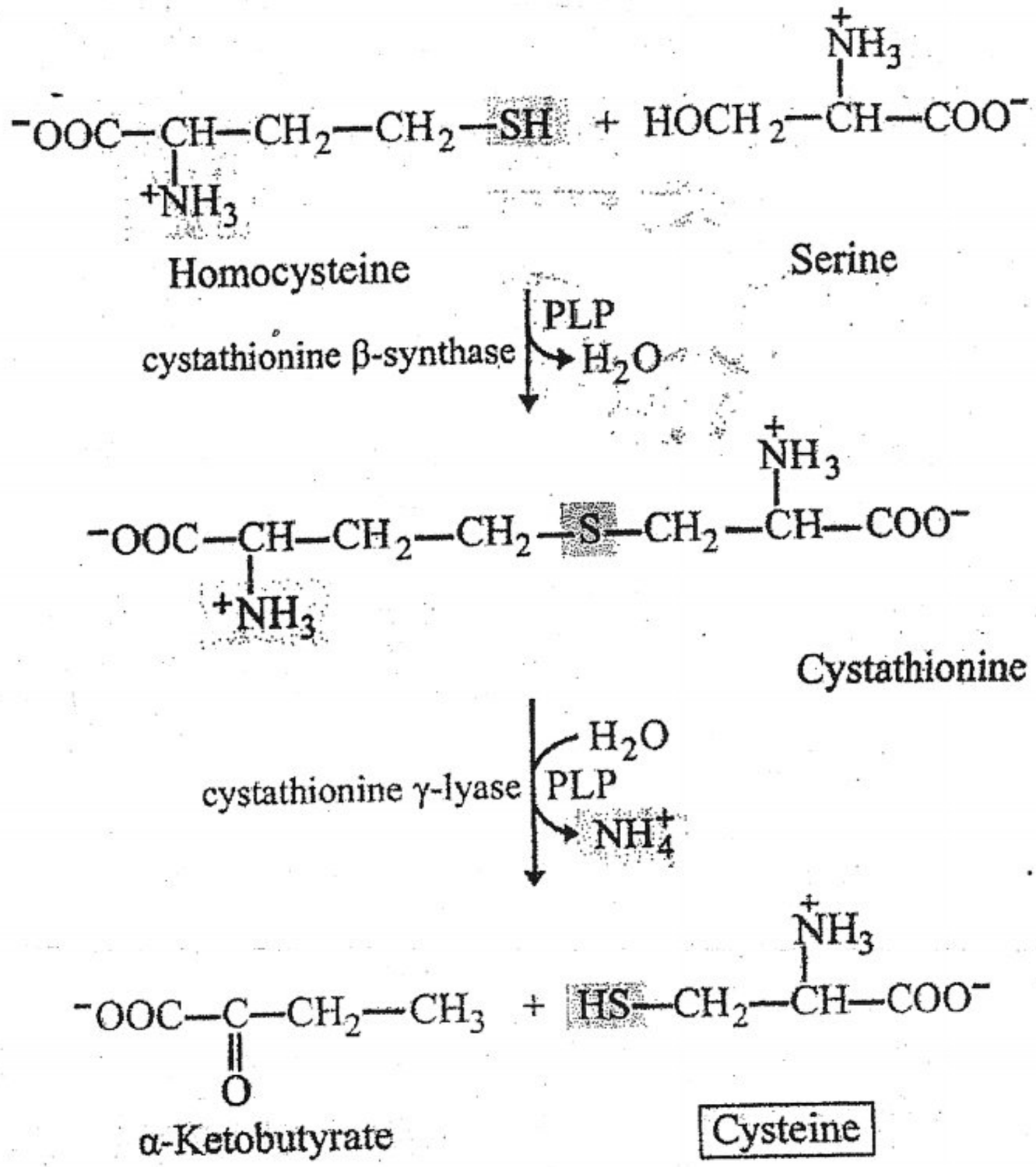


شکل شماره ۱۹-۳: آنزیم گلوتامین سنتتاز یک آنزیم آلوستریک است

می‌شود: متیونین اتم سولفور را تهیه کرده و سرین اسکلت کربنی را تأمین می‌نماید (شکل ۲۰-۳). متیونین ابتدا به S- آدنوزیل هموسیستئین تبدیل شده (شکل ۱۲-۳) که با دادن گروه متیل خود به هر گیرنده‌ای به S- آدنوزیل متیونین تبدیل می‌گردد. این محصول دمتیله به هموسیستئین آزاد هیدرولیز شده که در حضور سیستاتیونین β - سنتاز (cystathionine β-synthase) با سرین ترکیب و تولید سیستاتیونین



شکل ۲۱-۳: بیوسنتز کراتین و فسفوکراتین - کراتین از سه اسیدآمینه گلیسین، آرژنین و متیونین سنتز می‌گردد.

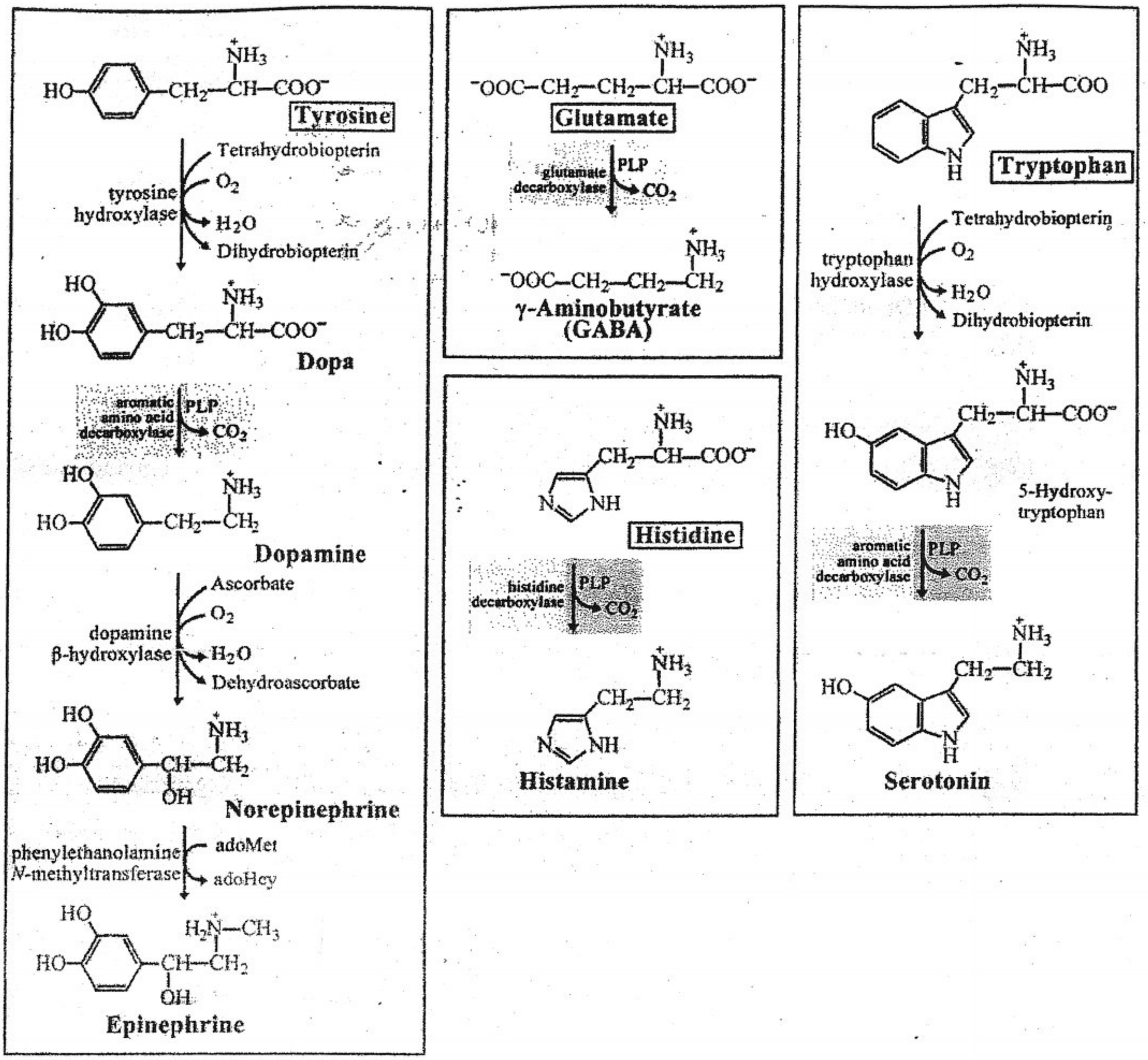


شکل شماره ۲۰: بیوسنتز سیستئین از هموسیستئین و سرین در پستانداران. (توضیح کامل در متن داده شده است).

می‌کند. درنهایت، سیستاتیونین γ - لیاز (cystathionine γ-lyase) برداشت آمونیاک و تجزیه سیستاتیونین به سیستئین آزاد را کاتالیز می‌کند.

۱۱-۳ اسیدهای آمینه برای بیوسنتز کراتین و گلوتاتیون لازم هستند.

کراتین فسفات مولکولی پرانرژی، مشتق از کراتین، به‌ویژه در عضله اسکلتی و قلب می‌باشد. با انتقال فسفات از ATP بر روی کراتین و توسط آنزیم کراتین کیناز (Creatine kinase, CK) کبدی، کراتین فسفات حاصل می‌گردد. کراتین از سه اسیدآمینه گلیسین و آرژنین همراه با متیونین به شکل S- آدنوزیل متیونین سنتز می‌گردد (شکل ۲۱-۳). هم کراتین و هم فسفوکراتین در کبد و به صورت غیر آنزیمی به ترکیب حلقوی کراتینین که محصولی دفعی است و از طریق ادرار دفع می‌شود تبدیل می‌گردند. مقدار دفع کراتینین در ادرار ۲۴ ساعته در یک فرد در روزهای مختلف مقدار ثابتی بوده و به توده عضلانی بستگی دارد. مقادیر ناچیزی از کراتین نیز به‌طور طبیعی در ادرار دفع می‌گردد. با توجه به اینکه به‌طور طبیعی مقدار کراتینین فیلتر شده در لوله‌های ادراری باز جذب نمی‌شود، با سنجش آن در ادرار میزان فیلتراسیون گلومرول‌ها (GFR) را می‌سنجند.



شکل ۲۳-۳: بیوسنتز بعضی از آمین‌های بیولوژیک (نوروترانسمیترها). مرحله کلیدی در تمامی موارد یکسان می‌باشد. دکربوکسیلاسیون وابسته به PLP (هاشور زده‌شده).

کلید	
سؤال ۱	الف
سؤال ۲	ج
سؤال ۳	الف
سؤال ۴	ب
سؤال ۵	ب
سؤال ۶	ب

۳-۱۳ سؤالات چهارگزینه‌ای متابولیسم اسیدهای آمینه

۱. کدام‌یک از آنزیم‌های زیر فعال‌سازی فرم پیش آنزیم‌های(zymogen) پانکراس را در رودهٔ کوچک آغاز می‌کند؟

الف- تریپسین ب- کیموتریپسین

ج- الاستاز د- کربوکسی پپتیداز A

۲. بیماری ادرار شربت افرا (MSUD) نتیجهٔ اختلال وراثتی کاتابولیسم کدام دسته از اسیدهای آمینه زیر می‌باشد؟

الف – آروماتیک ب- غیرضروری

ج- شاخه‌دار د- الکلی

۳. کدام‌یک از نروترانسمیترهای زیر یک کاته کولامین است؟

الف – دوپامین ب- گاما- آمینوبوتیریک اسید (GABA)

ج- سروتونین د – هیستامین

۴. کدام‌یک از اختلالات زیر ناشی از کمبود آنزیم تیروزیناز می‌باشد؟

الف - هموسیستئین یوریا ب- آلبینیسم

ج – آلکاپتونوریا د – یرقان

۵. در داخل بدن با انتقال عامل آمین به ..... تولید آسپارتات می‌شود.

الف- پیروات ب- اگزالواستات

ج- فومارات د- α- کتوگلوتارات

۶. کدام اسیدآمینه‌ها در انتقال یون آمونیوم از بافت‌ها به کبد نقش دارند؟

الف- گلوتامات، گلوتامین ب- آلانین، گلوتامین

ج- آسپارتات، گلوتامات د – آسپارتات، آلانین

۴

فصل چهارم:

متابولیسم هیم و رنگ‌دانه‌های صفراوی

دکتر مژگان راستی

هدف کلی:

یادگیری ساختمان پرفیرین و هیم (Heme)، واکنش‌ها آنزیم‌های مسیرهای بیوسنتز هیم و بیماری‌های مربوطه

اهداف اختصاصی

از دانشجو انتظار می‌رود در پایان دوره بتواند:

- به اهمیت متابولیسم بیلی‌روبین و اهداف آموزشی در این مبحث آشنا شود.
- ساختمان پرفیرین و Heme و انواع آن را بشناسد.
- واکنش‌ها و آنزیم‌های کلیدی مسیرهای بیوسنتز انواع پرفیرین‌ها و Heme را بداند.
- اساس بیوشیمیایی و عوارض بیماری‌های پرفیری‌ها (Porphyrias) را بداند.
- انواع پرفیرهای ناشی از کمبودهای آنزیمی را شناخته و نحوه درمان آن‌ها را بداند.
- مسیر کاتابولیسم Heme و تولید بیلی‌روبین را بداند.
- جذب بیلی‌روبین توسط کبد، انواع بیلی‌روبین مستقیم و غیرمستقیم را توضیح دهد.
- روش اندازه‌گیری انواع بیلی‌روبین و اهمیت آن‌ها در تشخیص بالینی انواع بیماری‌های یرقان (Jaundice) را بداند.
- بیماری‌های مربوط به تجمع بیلی‌روبین کانژوگه و علت آن را بیان کند.
- بیماری‌های مربوط به تجمع بیلی‌روبین غیر کانژوگه و علت آن را بیان کند.

۴-۱ مقدمه:

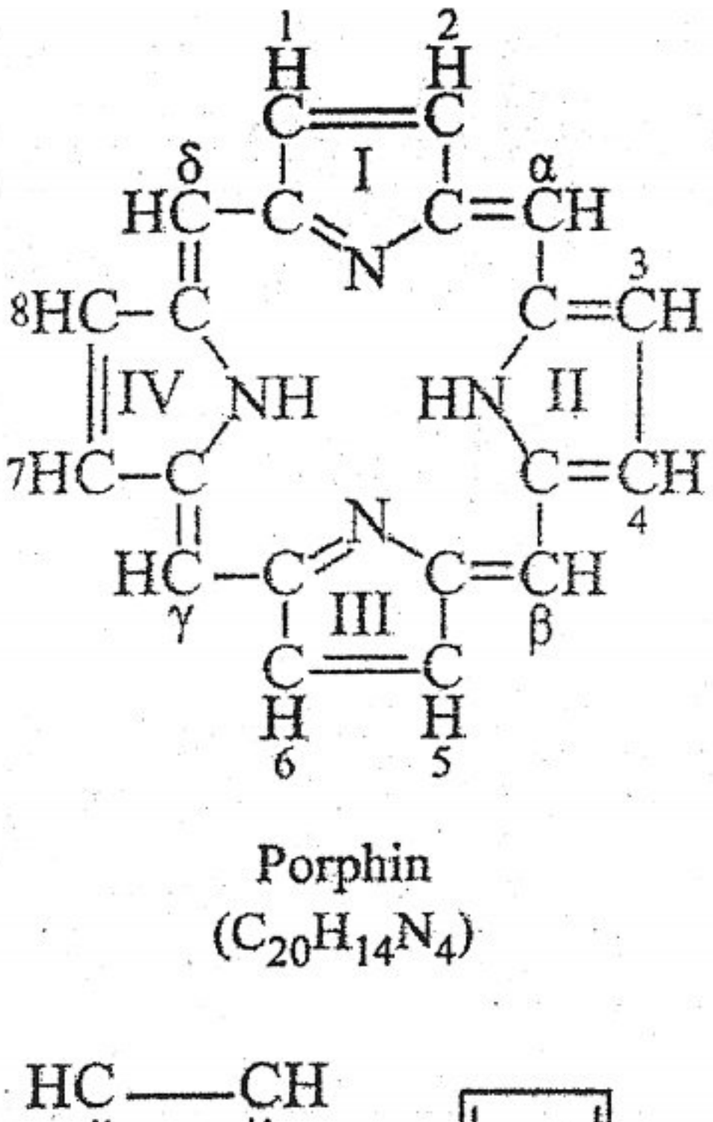
بیوشیمی پرفیرین‌ها و رنگ‌دانه‌های صفراوی به هم مرتبط می‌باشند زیرا هیم از پرفیرین‌ها و آهن ساخته می‌شود و محصولات تخریب هیم شامل رنگ‌دانه‌های صفراوی و آهن می‌باشد.

۴-۱-۱ اهمیت بالینی

آشنایی با بیوشیمی پرفیرین‌ها و هیم برای شناخت اعمال متنوع زیستی آن‌ها نظیر انتقال اکسیژن، انتقال الکترون، متابولیسم داروها و غیره در بدن ضروری است. پرفیری‌ها گروهی از بیماری‌هایی هستند که به دلیل نقص در آنزیم‌های مسیر بیوسنتز هیم ایجاد می‌گردد. این بیماری‌ها چندان شایع نیستند، ولی لازم است پزشکان در مورد آن‌ها اطلاعات کافی داشته باشند زیرا متخصصان پوست، کبد و روانشناس با این بیماران روبرو خواهند شد. عوارض بالینی این بیماری به‌صورت حساسیت‌های پوستی، دردهای شدید شکمی و ناراحتی‌های روانی بروز می‌نماید که می‌تواند با بیماری‌های دیگر اشتباه گرفته شود. از تجزیه هیم رنگ‌دانه صفراوی به ★ نام بیلی‌روبین تولید می‌شود. یرقان حالت بالینی شایع‌تری است که به علت افزایش بیلی‌روبین پلاسما ایجاد می‌گردد. این افزایش به دلیل تولید بیش‌ازحد بیلی‌روبین در بیماری‌های کم‌خونی هیمولیتیک و یا نارسایی در دفع آن در بیماری‌های سرطان پانکراس و هپاتیت ویروسی می‌باشد.

۴-۲ ساختمان متالوپرفیرین‌ها

پرفیرین‌ها ترکیبات حلقوی هستند که با اتصال چهار حلقه پیرول از طریق پل‌های متنیلی (=CH-) ایجاد می‌شوند (شکل ۱-۴). در ساختمان آن‌ها پیوندهای دوگانه به‌صورت یک‌درمیان (سیستم کانژوگه) وجود دارند که عامل ایجاد رنگ در پرفیرین‌ها می‌باشد. یکی از مشخصات پرفیرین‌ها تشکیل کمپلکس با یون‌های فلزی از طریق اتصال به نیتروژن‌های حلقه پیرول می‌باشد. بعضی پرفیرین‌ها دارای آهن، نظیر هیم در هموگلوبین و یا منیزیم در کلروفیل گیاهان می‌باشند. در طبیعت متالوپرفیرین‌ها با پروتئین‌های مختلف متصل می‌شوند و بسیاری از فعالیت‌های بیولوژیکی را انجام می‌دهند.



شکل ۱-۴: مولکول پرفیرین که با اتصال چهار حلقه پیرول (IV,III,II,I) از طریق پیوندهای دوگانه به‌صورت یک‌درمیان تشکیل یافته‌اند.

هموپروتئین‌ها شامل هموگلوبین‌ها می‌باشند که در آن‌ها هیم به پروتئین گلوبین متصل شده و در انتقال اکسیژن در خون نقش دارند. میوگلوبین ها، دسته‌ای دیگر از این پروتئین‌ها هستند که در سلول‌های ماهیچه‌ای، ذخیره اکسیژن را به عهده دارند. سیتوکروم‌ها، پروتئین‌هایی هستند که در انتقال الکترون در زنجیره تنفسی نقش دارند مانند سیتوکروم c. کاتالازها، آنزیم‌های حاوی پرفیرین آهن‌دار هستند که در جانوران پراکسید هیدروژن (آب اکسیژنه) را تجزیه می‌کنند. در گیاهان پراکسیدازها این عمل را انجام می‌دهند. تریپتوفان پیرولاز آنزیمی است که اکسیداسیون تریپتوفان

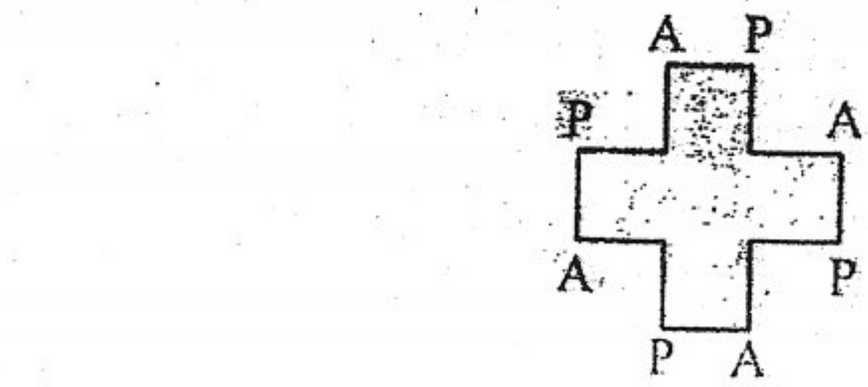
راکاتالیز می‌کند.]

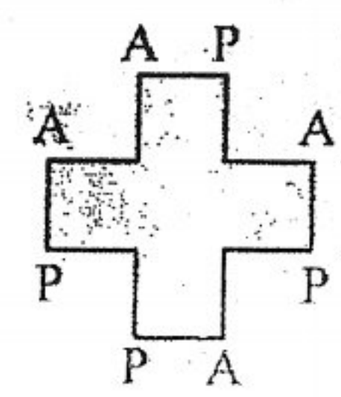
۳-۴ مشخصات پرفیرین‌های طبیعی:

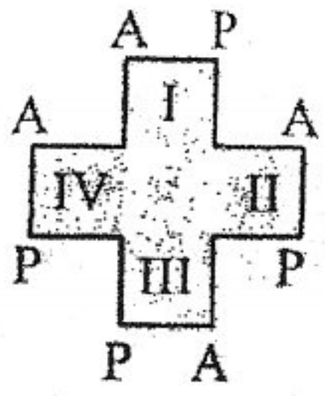
پرفیرین‌های موجود در طبیعت دارای زنجیره‌های جانبی مختلف به‌جای هشت اتم هیدروژن در حلقه پرفیرین می‌باشند (شکل ۱-۴). برای سادگی نمایش پرفیرین ها، فیشر فرمول خلاصه‌ای را ارائه نمود که در آن پل‌های متنیلی حذف گردید و حلقه‌های پیرول به‌صورت مربع با هشت زنجیره جانبی مطابق شکل ۲-۴ نمایش داده شد.

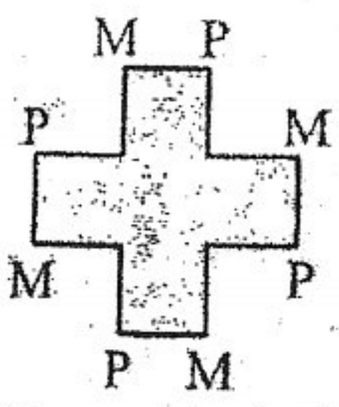
آرایش استخلاف‌های استات A ($-CH_2COOH$) و پروپیونات P ($-CH_2CH_2COOH$) در پرفیرین (شکل ۲-۴) به نام اوروپرفیرین می‌باشد. اگر آرایش زنجیره‌های جانبی به‌صورت قرینه باشد به نام پرفیرین نوع I طبقه‌بندی شود. اگر در مقایسه با پرفیرین I ترتیب زنجیره‌های جانبی در حلقه ۴ معکوس باشد در این صورت پرفیرین نوع III نامیده می‌شود. انواع پرفیرین I و III در طبیعت یافت می‌شوند ولی در بدن انسان فقط نوع III وجود دارد زیرا هیم و پیش ساز آن یعنی پروتوپرفیرین IX (شکل ۲-۴) هر دو پرفیرین‌های نوع III هستند. با وجود استخلاف‌های پروپیونات و استات در حلقه‌های پیرول، نوعی پرفیرین به نام اوروپرفیرین(Uro porphyrin) تشکیل می‌گردد.

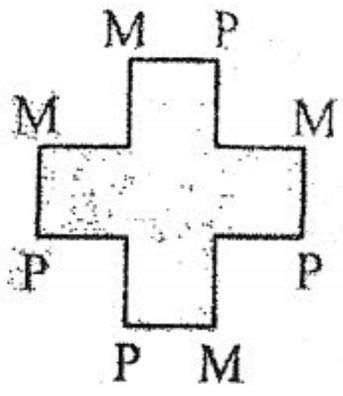
ویژگی‌های سایر انواع پرفیرین‌ها در شکل ۲-۴ نمایش داده شده‌اند.

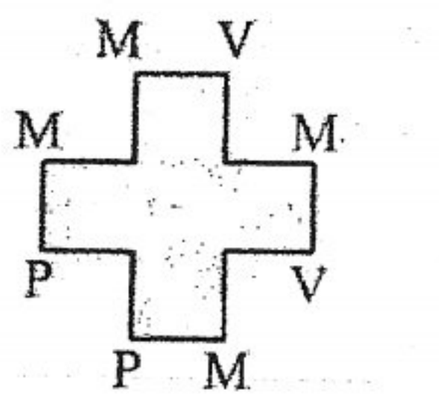


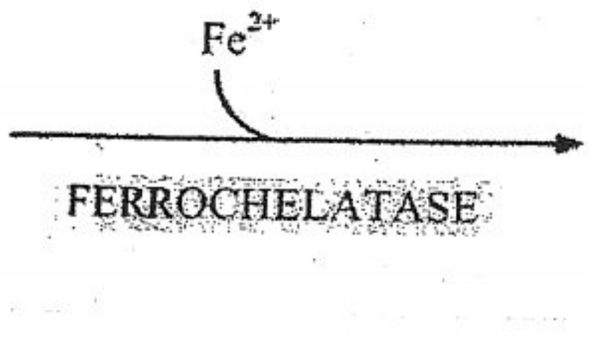












شکل ۲-۴: ساختمان اوروپرفیرین، کوپروپرفیرین و هیم

A (acetate) = $-CH_2COOH$; P (propionate) = $-CH_2CH_2COOH$; M (methyl) = $-CH_3$; V (vinyl) = $-CH = CH_2$

۴-۴ سنتز هیم

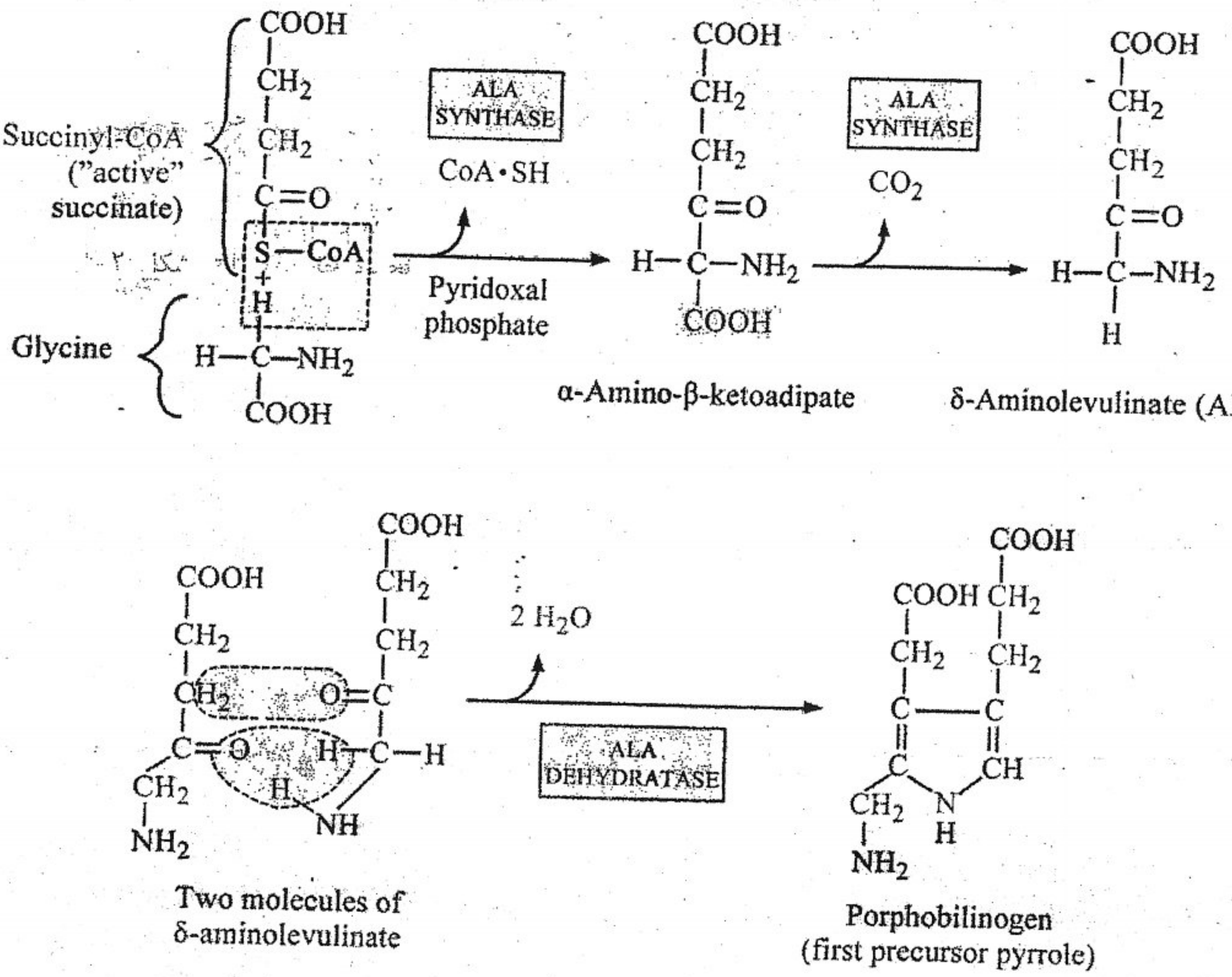
هیم از سوکسینیل کوآ و گلیسین ساخته می‌شود. اولین آنزیم سنتز هیم و سه آنزیم آخر مسیر سنتز هیم در داخل میتوکندری قرار دارند، درحالی‌که سایر آنزیم‌ها از نوع سیتوزلی هستند.

بیوسنتز هیم در اکثر سلول‌های پستانداران به‌غیراز گلبول‌های قرمز که فاقد میتوکندری هستند، انجام می‌گیرد. ۸۵٪ سنتز هیم در سلول‌های پیش ساز اریتروئیدی در مغز استخوان و بقیه عمدتاً در سلول‌های کبدی صورت می‌گیرد. در سلول‌های کبدی هیم برای سنتز سیتوکرم P_{450} مصرف می‌شود. این سیتوکرم در متابولیسم داروها، سموم و بسیاری مواد شیمیایی در کبد نقش مهمی دارد.

سنتز هیم در مغز استخوان در سلول‌های پیش ساز اریتروئیدی متناسب سنتز گلوبین تنظیم می‌شود یعنی به ازای هر مول پروتئین گلوبین که سنتز می‌شود یک مول هیم نیز سنتز می‌گردد. درحالی‌که میزان سنتز هیم در سلول‌های کبدی بستگی به ذخیره هیم داخل این سلول‌ها دارد. برای سنتز هیم دو ماده شامل سوکسینیل – کوآ که از چرخه کربس در میتوکندری به وجود می‌آید و اسیدآمینه گلیسین لازم هستند[پیریدوکسال فسفات (شکل فعال ویتامین B6) نیز برای فعال‌سازی گلیسین در این واکنش ضروری می‌باشد] محصول واکنش ترکیب سوکسینیل کوآ و گلیسین، درنهایت به دلتا (δ–) آمینو لوولینات (ALA) تبدیل می‌شود (شکل ۳-۴). این واکنش به‌وسیله ALA سنتاز (ALAS) کاتالیزمی شود. ALA سنتاز به دو شکل کبدی ($ALAS_1$) و اریتروئیدی ($ALAS_2$) وجود دارد. آنزیم $ALAS_1$ در سلول‌های کبدی یک آنزیم محدودکننده سرعت در بیوسنتز پرفیرین‌ها می‌باشد. در سلول‌های کبدی مقدار سنتز این آنزیم به‌وسیله مقدار هیم موجود در سلول‌های کبدی تنظیم می‌شود. هیم به‌عنوان یک تنظیم‌کننده منفی سنتز ALA سنتاز می‌باشد (شکل ۵-۴)[هیم در هسته سلول‌ها به یک مولکول آپورپرسور (Aporepressor) (بخش پروتئینی مولکول سرکوبگر) متصل شده و باعث فعال شدن مولکول سرکوبگر می‌گردد که این مولکول سرکوبگر با اتصال به ناحیه پروموتر ژن آنزیم ALA سنتاز از سنتز mRNA این ژن جلوگیری می‌کند؛ بنابراین سرعت سنتز $ALAS_1$ در غیاب هیم افزایش یافته و در حضور آن کاهش می‌یابد][بسیاری از زنوبیوتیک‌ها که شامل ترکیبات غیرطبیعی برای بدن انسان هستند (داروها، مواد شیمیایی سرطان‌زا، سموم، حشره‌کش‌ها) می‌توانند منجر به افزایش قابل‌توجه $ALAS_1$ در انسان شوند]

زنوبیوتیک‌ها در کبد به‌وسیله هیموپروتئین موسوم به سیتوکرم P_{450} متابولیزه می‌گردند. در حین متابولیسم این ترکیبات، هیم جهت سنتز سیتوکرم P_{450} مصرف می‌شود که باعث کاهش غلظت هیم داخل سلولی می‌گردد. درنتیجه اثر مهاری هیم بر $ALAS_1$ برداشته شده و سرعت سنتز هیم جهت رفع نیاز سلول‌ها افزایش می‌یابد. این امر از طریق افزایش سنتز آنزیم $ALAS_1$ در سلول‌های کبدی انجام می‌گیرد.

مقدار گلوکز داخل سلولی می‌تواند از القاء این آنزیم جلوگیری کند. همچنین استروئیدها و تجویز هماتین قادر به جلوگیری از اثر داروها بر القاء سنتز آنزیم ALA سنتاز است. برعکس داروهای مشتق از باربیتورات‌ها باعث القاء سنتز این آنزیم و افزایش تولید ترکیبات حد واسط هیم می‌گردند؛ بنابراین با تجویز داروهایی مانند



شکل ۳-۴: بیوسنتز پورفوبیلینوژن. آنزیم ALA سنتاز در میتوکندری و ALA دهیدراتاز در سیتوپلاسم است.

باربیتورات‌ها به بیماران مبتلا به پورفیری کبدی که دارای نقص در یکی از آنزیم‌های مسیر سنتز هیم هستند پرفیرین خاصی زیاد شده و باعث ایجاد حملات پروفیری در این افراد می‌گردد. عوارض بالینی به‌صورت عوارض روانی و دردهای شدید شکمی بروز می‌نماید.

تنظیم بیان $ALAS_2$ اریتروئیدی متفاوت از تنظیم بیان $ALAS_1$ در کبد است. برای مثال $ALAS_2$ تحت اثر داروهای مؤثر بر $ALAS_1$ القاء نمی‌شود.

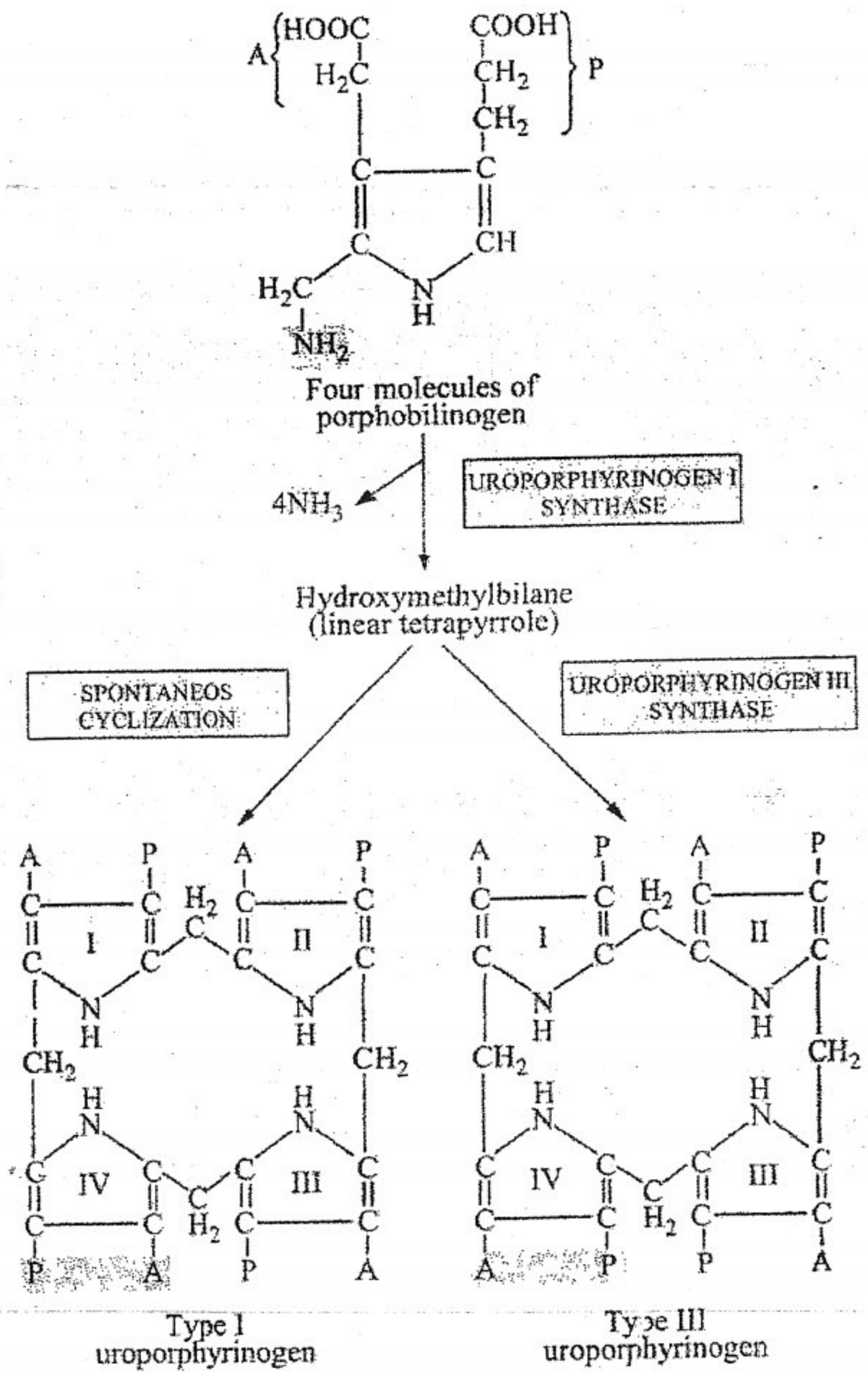
سنتز ALA در داخل میتوکندری صورت می‌گیرد. در سیتوپلاسم دو مولکول ALA در حضور آنزیم ALA دهیدراتاز به هم متصل شده و تولید دو مولکول آب و یک مولکول پرفوبیلینوژن (PBG) می‌کنند (شکل ۳-۴). آنزیم ALA دهیدراتاز یک آنزیم حاوی روی (Zn) است و در مسمومیت با سرب فعالیت آن منع می‌گردد.

در اثر اتصال چهار مولکول (PBG) یک تتراپیرول خطی به نام هیدروکسی متیل بیلان (HMB) درست می‌شود (شکل ۴-۴). این واکنش به‌وسیله یک آنزیم به نام‌های اوروپرفیرینوژن I سنتاز یا PBG دآمیناز یا HMB سنتازکاتالیز می‌گردد. HMB می‌تواند به‌طور خود به‌خود حلقوی شود و تولید اوروپرفیرینوژن I

(شکل ۴-۴) نماید که قابل‌استفاده به‌وسیله سایر آنزیم‌های این مسیر نمی‌باشد؛ اما این توسط سیستم آنزیمی دیگر به نام اوروپرفیرینوژن III سنتاز به فرم ایزومر III یعنی اوروپرفیرینوژن II تبدیل می‌گردد.

پرفیرینوژن‌ها پیش سازهای پرفیرین‌ها هستند و به‌طور طبیعی در مسیر بیوسنتز پروتوپرفیرین و هیم تولید می‌شوند. این ترکیبات دارای پل‌های متیلنی (-CH_2-) به‌جای پل‌های متنیلی (=CH-) هستند و ایجاد پیوندهای دوگانه به‌صورت یک‌درمیان (سیستم کونژوگه) نمی‌کنند. ازاین‌رو این ترکیبات بی‌رنگ هستند. پرفیرینوژن‌ها در مقایسه با پرفیرین‌ها دارای شش اتم هیدروژن اضافی هستند و به فرم احیا وجود دارند. هرچند پرفیرینوژن‌ها به‌سادگی به پرفیرین‌های رنگی مربوطه اکسید می‌شوند، این اکسیداسیون توسط نور و همچنین پرفیرین‌های تولیدی نیز تسریع می‌گردد.

اوروپرفیرینوژن III به‌وسیله آنزیم اوروپرفیرینوژن دکربوکسیلاز به کوپروپرفیرینوژن



شکل ۴-۴: تبدیل پرفوبیلینوژن به اوروپرفیرینوژن به‌وسیله آنزیم اوروپرفیرینوژن I سنتاز یا PBG دآمیناز یا HMB سنتاز.

III تبدیل می‌گردد. در این واکنش تمامی گروه‌های استات (A) به گروه‌های متیل (M) دکربوکسیله می‌شود. کوپروپرفیرینوژن III وارد میتوکندری می‌شود و به‌وسیله آنزیم کوپروپرفیرینوژن اکسیداز دو زنجیره جانبی پروپیونیک (P) به گروه وینیل ($-CH=CH_2$) V دکربوکسیله و اکسیده می‌گردد. محصول این واکنش پروتوپرفیرینوژن III می‌باشد. پروتوپرفیرینوژن به‌وسیله آنزیم دیگر میتوکندریایی، به نام پروتوپرفیرینوژن اکسیداز به پروتوپرفیرین III تبدیل می‌شود. در این واکنش پل‌های متیلنی به پل‌های متنیلی اکسید می‌گردند (شکل ۵-۴).

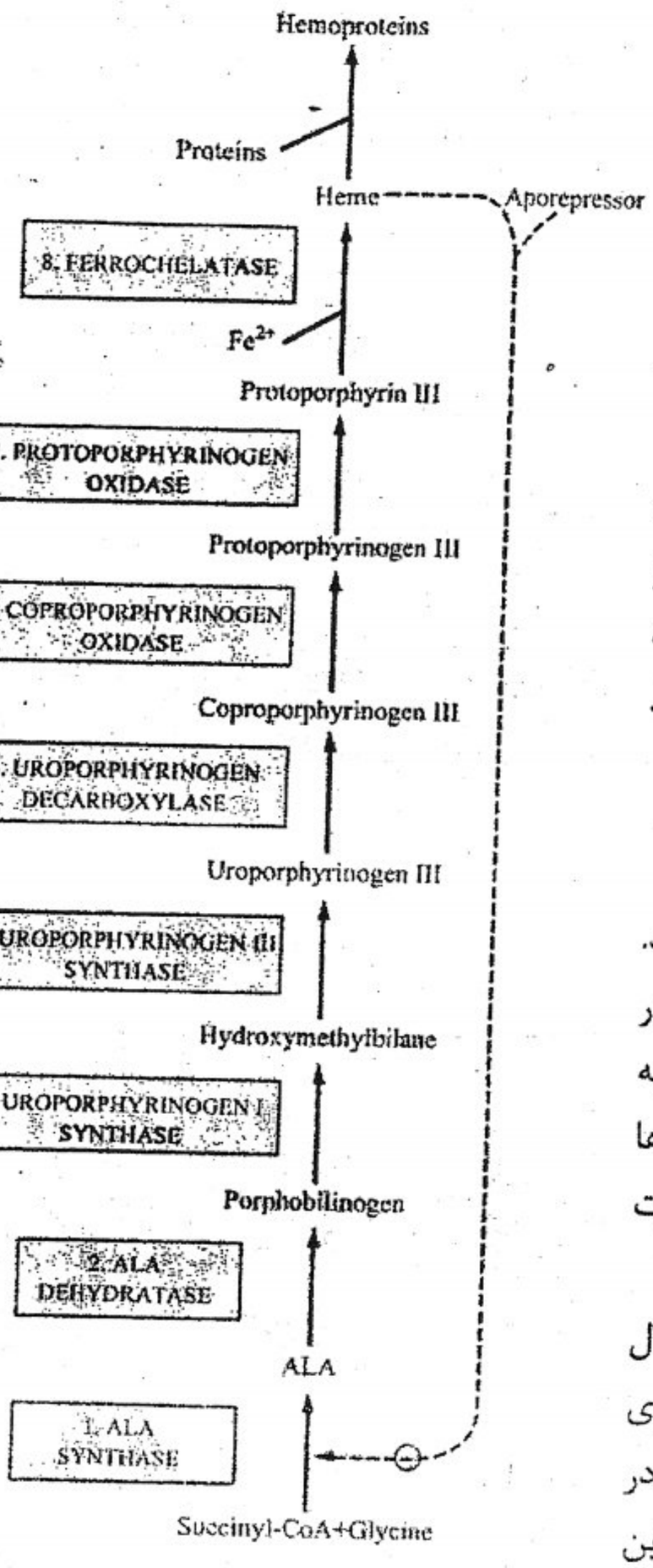
آخرین مرحله سنتز هیم شامل جای گزینی آهن فرو Fe^{2+} در داخل پروتوپرفیرین III می‌باشد. این واکنش توسط آنزیم میتوکندریایی دیگری به نام فروشلاتاز (Ferrochelatase) و یا هیم سنتاز (Heme Synthase) کاتالیز می‌گردد (شکل ۲-۴). این آنزیم حاوی روی (Zn) است و در مسمومیت با سرب منع می‌گردد. پروتوپرفیرین III و هیم، پرفیرین‌های طبیعی در بدن انسان هستند.

۱-۴-۴ پرفیرین‌ها ترکیبات رنگی و دارای خاصیت فلورسانس هستند.

پرفیرینوژن‌های مختلف بی‌رنگ هستند، درحالی‌که تمامی پرفیرین‌ها رنگی هستند. پرفیرین‌ها و مشتقات آن‌ها طیف نور مرئی و ماوراءبنفش را جذب می‌کنند. به‌طور مثال درصورتی‌که پرفیرین‌ها در اسیدکلریک ۵٪ حل شوند در طول موج نزدیک به ۴۰۰ nm دارای طیف جذبی هستند. این یکی از ویژگی‌های مشخص تمام پرفیرین‌ها بدون توجه به نوع زنجیره جانبی آن‌ها می‌باشد. این طیف به نام کاشف آن باند سورت (Soret band) گفته می‌شود.

تابش نور ماوراءبنفش به محلول‌های پرفیرینی موجود در اسید معدنی قوی یا حلال آلی باعث نشر نور فلورسانس قرمز قوی می‌گردد. از این مشخصه برای جستجوی مقادیر کم پرفیرین‌های آزاد استفاده می‌شود. وضعیت کونژوگه پیوندهای دوگانه در پرفیرین‌ها مسئول جذب نور و تابش فلورسانس می‌باشد که پرفیرینوژن‌ها فاقد این خاصیت هستند.

روش اسپکتروفتومتری برای تشخیص پرفیرین‌ها و پیش سازهای آن‌ها بکار می‌رود. در بیماری پرفیری که مقدار پرفیرین‌ها مانند کوپروپرفیرین و اوروپرفیرین افزایش می‌یابد، ابتدا این ترکیبات به‌وسیله حلال مناسب از نمونه‌های ادرار یا مدفوع جدا شده و به روش اسپکتروفتومتری مقدار آن‌ها اندازه‌گیری می‌گردد. سایر پیش سازهای پرفیرین‌ها مانند ALA و PBG نیز با آزمون‌های رنگ سنجی در ادرار قابل‌اندازه‌گیری هستند.



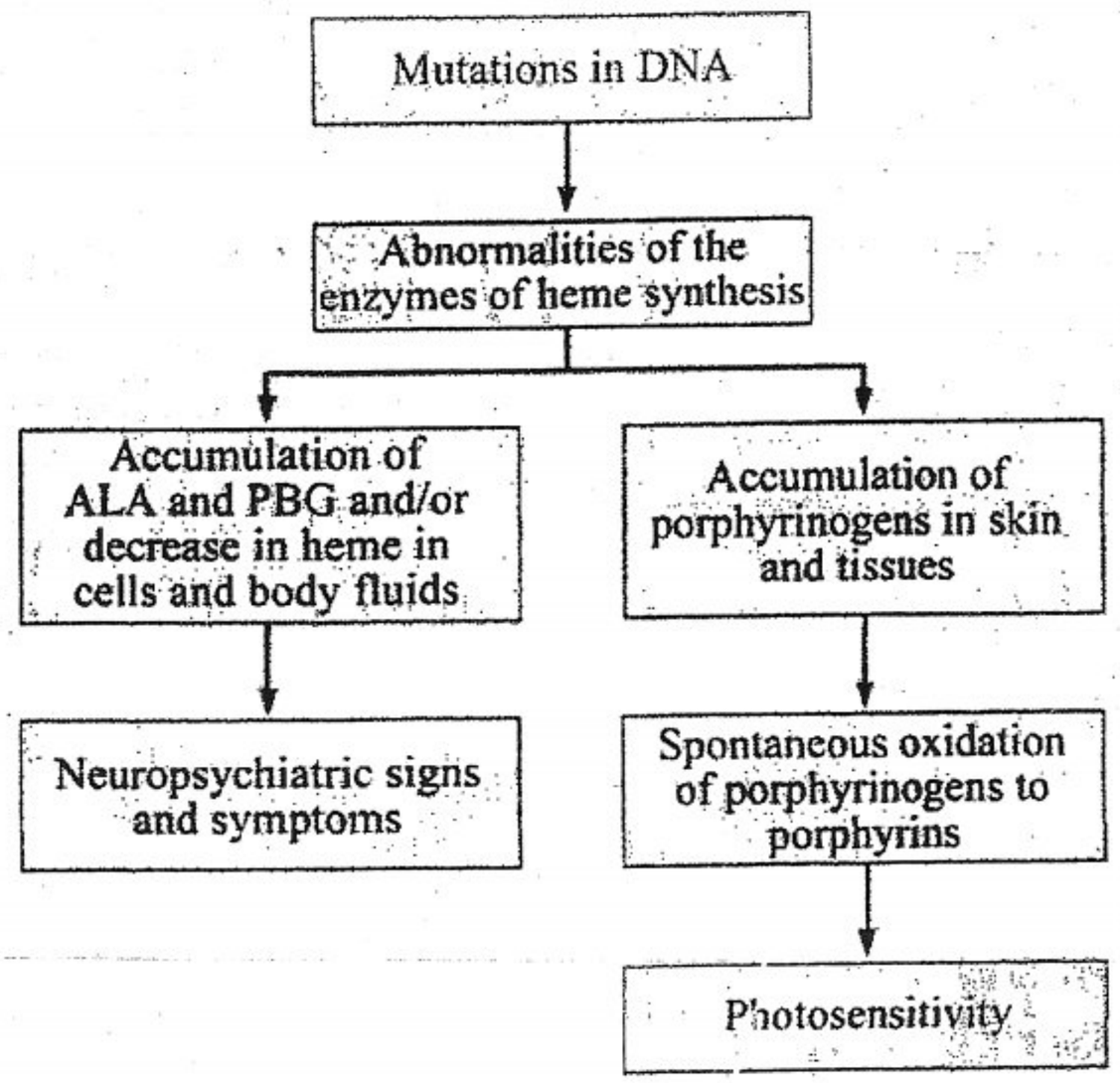
شکل ۵-۴: ترکیبات واسط، آنزیم‌ها و تنظیم سنتز هیم.

۵-۴ ناهنجاری‌های ژنتیکی متابولیسم هیم (پرفیریا)

پرفیریا دسته‌ای از اختلالات ارثی متابولیسم به علت جهش در ژن‌های آنزیم‌های مسیر بیوسنتز هیم می‌باشند. این ناهنجاری‌ها شایع نیستند ولی توجه به آن‌ها در بعضی شرایط (مثلاً در تشخیص افتراقی درد شکمی و یافته‌های مختلف عصبی – روانی) مهم می‌باشد؛ در غیر این صورت، این بیماران ممکن است تحت

درمان‌های نامناسب قرار گیرند. پرفیریا می‌تواند به‌طور اکتسابی از طریق مسمومیت با فلزات سنگین و سموم مختلف نیز ایجاد گردند. گفته شده که جرج سوم پادشاه انگلستان احتمالاً مبتلا به نوعی پرفیری کبدی بوده است که باعث بستری شدن دوره‌ای او در کاخ می‌شده است. همچنین داستان‌هایی که در مورد خون‌آشام‌ها و آدم‌های گرگ نما درست شده به علت وجود بعضی از قربانیان بیماری پرفیری است که به دلیل حساسیت به نور تمایل به فعالیت شبانه و زشتی ظاهری شدید آن‌ها ناشی از لکه‌های قرمز در اطراف دهان و صورت و یا پر مویی شدید در صورت بوده است. در جدول ۱-۴ علل، روش تشخیص و درمان پرفیریا برای ۶ نوع اصلی پرفیری شرح داده شده است که این بیماری‌ها نتیجه اختلال در فعالیت آنزیم‌های ۳ تا ۸ اشاره شده در شکل ۵-۴ می‌باشند. برای تشخیص قطعی بیماری پرفیری باید فعالیت یک یا چند آنزیم در سلول‌هایی مانند گلبول قرمز اندازه‌گیری گردد. در مورد آنزیم اول فقط موارد نادری از کمبود $ALAS_2$ گزارش شده که تولید کم‌خونی سیدروبلاستیک می‌نماید. کمبود آنزیم۲ نیز بسیار نادر می‌باشد.

به‌طورکلی، پرفیری‌های ذکرشده در جدول ۱-۴ به‌صورت اتوزومال غالب به ارث می‌رسند، تنها استثناء پرفیری اریتروپویتیک مادرزادی است که به طریق اتوزومال مغلوب به ارث می‌رسد. همانند اکثر خطاهای مادرزادی، علائم بالینی و نشانه‌های پرفیرها از کمبود محصولات متابولیکی موجود بعد از محل اختلال فعالیت آنزیمی و یا تجمع متابولیت‌های اولیه قبل از این اختلال منشأ می‌گیرند. بر اساس اینکه اختلال آنزیمی در ابتدای مسیر سنتز هیم و قبل از تشکیل پرفیرینوژن‌ها باشد (آنزیم شماره ۳ و آنزیم ۴)، علائم بالینی شامل تجمع ALA و PBG در بافت‌ها و مایعات بدن (شکل ۶-۴) به همراه دردهای شدید شکمی و عوارض عصبی و روانی خواهد بود.



شکل ۶-۴: علل بیوشیمیایی علائم و نشانه‌های پرفیریا.

Enzyme involved[2]	Type, Class, and MIM Number	Major Signs and Symptoms	Results of Laboratory Tests
1. ALA synthase (erythroid form)	X-linked sideroblastic anemia[3] (erythropoietic) MIM 201300)	Anemia	Red cell counts and hemoglobin decreased
2. ALA dehydratase	ALA dehydratase deficiency (hepatic) (MIM 12570)	Abdominal pain, neuropsychiatric symptoms	Urinary & aminolevulinic acid
3. Uroporphyrinogen I synthase[4]	Acute intermittent porphyria (hepatic) (MIM 176000)	Abdominal pain, neuropsychiatric symptoms	Uriniary porpho-bilinogen positive, uroporphyrin positive
4. Uroporphyrinogen III synthase	Congenital erythropoi-etic (erythropoietic) (MIM 263700)	Photosensitivity	Uroporphyrin posi-tive, porphobilinogen negarive
5. Uroporphyrinogen decarboxylase	Porphyria cutanea tarda (hepatic)(MIM 176100)	Photosensitivity	Uroporphyrin positive, porphobilinogen nega-tive
6. Coproporphyrinogen oxidase	Hereditary coproporphyria (hepatic) (MIM 121300)	Photosensitivity, abdominal pain, neu-ropsychiatric symp-toms	Urinary porphobilinogen positive, urinary uro-porphyrin positive, fecal protoporphyrin positive
7. Protoporphyrinogen oxidase	Variegate porphyria (hepatic) (MIM 176200)	Photosensitivity, ab-dominal pain, neuro-psychiatric symptoms	Urinary porphobilinogen positive, fecal protopor-phyrin positive
8. Ferrochelatase	Protoporphyria (erythropoietic) (MIM 177000)	Photosensitivity	Fecal protoporphyrin positive, red cell proto-porphyrin positive

[1]Only the biochemical findings in the active stages of these diseases are listed. Certain biochemical abnormalities are detectable in the latent stages of some of the above conditions. Conditions 3,5, and 8 are generally the most prevalent porphyrias.
[2]The numbering of the enzymes in this table corresponds to that used in Figure 4-5.
[3]X-linked sideroblastic anemia is not a porphyria but is included here because δ-aminolevulinic acid synthase is involved.
[4]This enzyme is also called porphobilinogen deaminase or hydroxymethylbilane synthase.

جدول ۱-۴: بیماری‌های پرفیریا

علت بیوشیمیایی دردهای شکمی و عوارض روانی می‌تواند اثر سمی ALA بر روی اعصاب شکمی و مرکزی باشد. ALA قادر به ممانعت از فعالیت ATPase در بافت

عصبی است.

از طرف دیگر اگر اختلال آنزیمی در مراحل بعد از تشکیل پرفیرینوژن‌ها در مسیر سنتز هیم باشد (آنزیم‌های شماره ۵ تا ۸)، علائم بالینی علاوه بر دردهای شکمی و عوارض عصبی روانی به همراه حساسیت شدید نوری خواهد بود. علت بیوشیمیایی حساسیت پوستی تجمع پورفیرینوژن‌ها در بافت‌های بدن می‌باشد (شکل ۶-۴). تجمع پرفیرینوژن‌ها در بافت‌های بدن بخصوص در سطح پوست باعث اکسیداسیون خودبه‌خود این ترکیبات به پرفیرین‌های مربوطه می‌گردد. محصولات پرفیرینی از سطح پوست نور جذب می‌نماید. طول موج ۴۰۰ nm نور باعث برانگیخته شدن آن‌ها شده و سپس در واکنش با اکسیژن مولکولی تولید رادیکال‌های اکسیژن می‌کنند. رادیکال‌های اکسیژن باعث تخریب لیزوزوم‌ها و سایر اندامک‌های داخل سلول می‌گردند. لیزوزوم‌های تخریب شده آنزیم‌های هضم‌کننده خود را رها نموده و باعث آسیب‌های پوستی نظیر قرمزی- خارش و جوش می‌گردند.

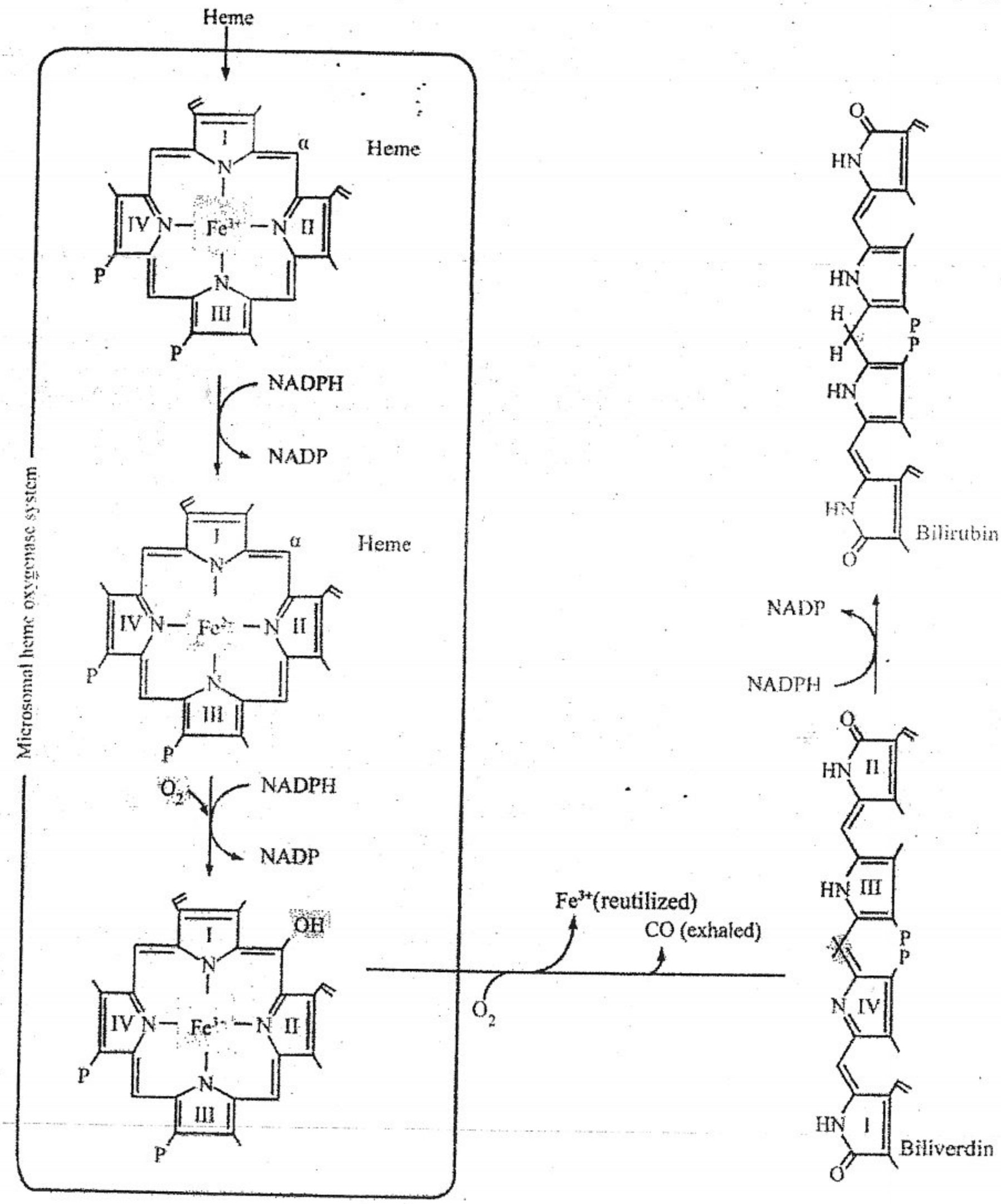
بیماری پرفیری را می توان بر اساس بافت یا سلول‌هایی که بیشتر تحت تأثیر قرارگرفته‌اند طبقه‌بندی نمود. این بافت‌ها عمدتاً شامل مغز استخوان و کبد می‌باشند که مسیر سنتز هیم در این بافت‌ها فعال است؛ بنابراین در این نوع طبقه‌بندی پرفیری‌ها به سه نوع اریتروپویتیک، کبدی و اریتروهپاتیک تقسیم می‌شوند. بر این اساس انواع پرفیری در جدول ۱-۴ نیز طبقه‌بندی شده‌اند. در بیماران مبتلا به پرفیری کبدی چون اختلال آنزیمی در کبد این بیماران وجود دارد. داروهایی نظیر باربیتورات‌ها و گریزئوفولوین باعث القاء آنزیم $ALAS_1$ در مسیر سنتز هیم شده و باعث حملات پرفیری در این بیماران می‌گردد. اکثر این داروها توسط سیتوکرم P_{450} متابولیزه می‌شوند که منجر به مصرف هیم داخل کبدی و القاء آنزیم $ALAS_1$ می‌شود. در این بیماران پیش سازهای هیم قبل از محل اختلال آنزیمی مربوطه به مقدار زیاد افزایش می‌یابد.

تشخیص اختصاصی پرفیری‌ها می‌تواند عمدتاً با توجه به یافته‌های بالینی، سابقه خانوادگی، معاینه فیزیکی و تست‌های آزمایشگاهی مناسب انجام گیرد. در حال حاضر درمان برای این بیماری فقط به‌صورت درمان عوارض ثانویه آن می‌باشد؛ مانند ۱) اجتناب از مصرف داروها و سموم (الکل) القاکننده سیتوکرم P_{450}، ۲) مصرف زیاد غذاهای غنی از کربوهیدرات‌ها، ۳) تجویز هیماتین (یک هیدروکسید هیم)، ۴) اجتناب از نور آفتاب و ۵) تجویز β کاروتن به بیمارانی که دچار حساسیت نوری هستند می‌تواند مفید باشد. به نظر می‌رسد که بتا- کاروتن با کاهش تولید رادیکال‌های آزاد سبب کاهش حساسیت‌های نوری می‌گردد.

۶-۴ کاتابولیسم هیم و تولید بیلی‌روبین

تحت شرایط فیزیولوژیک، در افراد بالغ در هر ساعت ۲×۱۰^۸-۱ گلبول قرمز تخریب می‌شود؛ بنابراین در یک فرد ۷۰ کیلوگرمی در یک روز حدود ۶ گرم هموگلوبین نوسازی می‌شود. وقتی هموگلوبین در داخل بدن تخریب می‌شود قسمت پروتئینی آن (گلوبین) دوباره مصرف شده یا به اسیدهای آمینه تجزیه می‌گردد. آهن نیز

ذخیره می‌گردد. بخش پرفیرینی هیم در سلول‌های رتیکولوآندوتلیال کبد، طحال و مغز استخوان تخریب می‌شود. کاتابولیسم هیم در بخش میکروزمی سلول‌های رتیکوآندوتلیال به‌وسیله یک سیستم آنزیمی به نام هیم اکسیژناز صورت می‌گیرد. در میکروزوم‌ها آهن هیم معمولاً به فریک، اکسید می‌شود و تولید هیمین می‌کند. هیمین مجدداً به هیم احیا می‌شود و سپس به وسیله اکسیژن و NADPH اکسید شده و حلقه پرفیرین به بیلی‌وردین شکسته می‌شود. در این واکنش منواکسید کربن و یون فریک آزاد می‌گردد. در پرندگان و دوزیستان بیلی‌وردین سبزرنگ دفع می‌گردد ولی در پستانداران آنزیم محلول بیلی‌وردین ردوکتاز با احیا بیلی‌وردین، آن را به رنگ‌دانه زرد- بیلی‌روبین تبدیل می‌نماید (شکل ۷-۴).



شکل ۷-۴: سیستم هیم اکسیژناز در میکروزوم‌های سلول کبدی.

به ازای هر یک گرم هموگلوبین ۳۵ میلی‌گرم بیلی‌روبین تولید می‌گردد به‌طوری‌که روزانه در یک فرد بالغ ۲۵۰ تا ۳۵۰ میلی‌گرم بیلی‌روبین تولید می‌شود. بیلی‌روبین از بافت‌های تولیدی به خون ریخته می‌شود در خون توسط آلبومین موجود در پلاسما به کبد منتقل می‌شود. در کبد متابولیسم بیلی‌روبین به سه مرحله تقسیم می‌شود: ۱- برداشت بیلی‌روبین به‌وسیله سلول‌های پارانشیمی کبدی ۲- کونژوگاسیون بیلی‌روبین در شبکه آندوپلاسمی صاف سلول‌های کبدی ۳- ترشح بیلی‌روبین کونژوگه به داخل صفرا.

۱-۶-۴ برداشت بیلی‌روبین توسط کبد

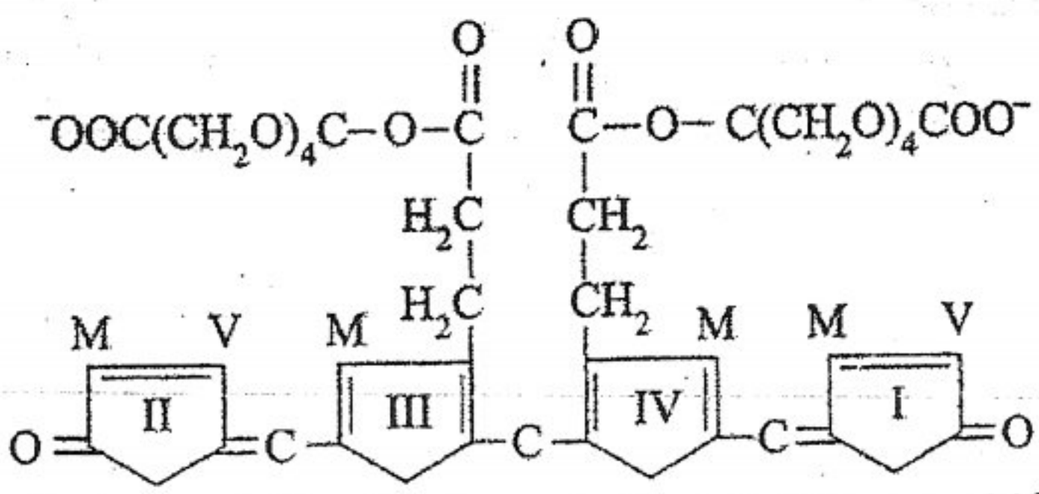
بیلی‌روبین حلالیت ناچیزی در آب و پلاسما دارد ولی در پلاسما به آلبومین متصل می‌گردد. در ۱۰۰ میلی‌لیتر پلاسما حدود ۲۵ میلی‌گرم بیلی‌روبین به‌طور محکم به آلبومین متصل می‌گردد. در مقادیر بالاتر بیلی‌روبین با اتصال سست به آلبومین متصل شده و به‌راحتی جدا شده و به داخل بافت‌های بدن منتشر می‌شود. بعضی از ترکیبات نظیر آنتی‌بیوتیک‌ها و داروهای آنیونی (سالیسیلات‌ها) با بیلی‌روبین جهت اتصال به آلبومین رقابت می‌کنند و جایگزین آن می‌گردند. ازاین‌رو این ترکیبات بخصوص در نوزادان می‌تواند علائم بالینی هیپربیلی‌روبینمی ایجاد نماید.

در کبد بیلی‌روبین از آلبومین جدا شده و از طریق سطح سینوزوئیدی سلول‌های کبدی توسط یک سیستم انتقال تسهیل شده برداشت می‌گردد. این سیستم برداشت دارای ظرفیت بسیار بالایی است، به‌طوری‌که در کم‌خونی‌های خفیف قادر به انتقال بیلی‌روبین به داخل کبد تا ۱۰ برابر مقدار طبیعی آن در پلاسما می‌باشد.

بعد از ورود به داخل سلول کبدی بیلی‌روبین به پروتئین‌های سیتوزولی خاصی اتصال می‌یابد که مانع از برگشت بیلی‌روبین به داخل گردش خون شوند. پروتئین‌های درگیر شامل لیگاندین (گروهی از گلوتاتیون S- ترانسفرازها) و پروتئین Y می‌باشند.

۲-۶-۴ کونژوگه شدن بیلی‌روبین در کبد

در سلول‌های کبدی یک گروه مولکول قطبی به بیلی‌روبین اضافه شده و به فرم محلول در آب تبدیل می‌شود که می‌تواند به داخل صفرا ترشح شود. این فرایند را کونژوگه شدن می‌گویند. در شبکه آندوپلاسمی صاف کونژوگاسیون بیلی‌روبین توسط آنزیم UDP- گلوکورونیل ترانسفراز کاتالیز می‌شود. این آنزیم از UDP- گلوکورونیک اسید به‌عنوان دهنده گلوکورونیل استفاده می‌کند. ابتدا بیلی‌روبین منوگلوکورونید تولید شده و بعد به بیلی‌روبین دی گلوکورونید تبدیل می‌شود (شکل ۸-۴).

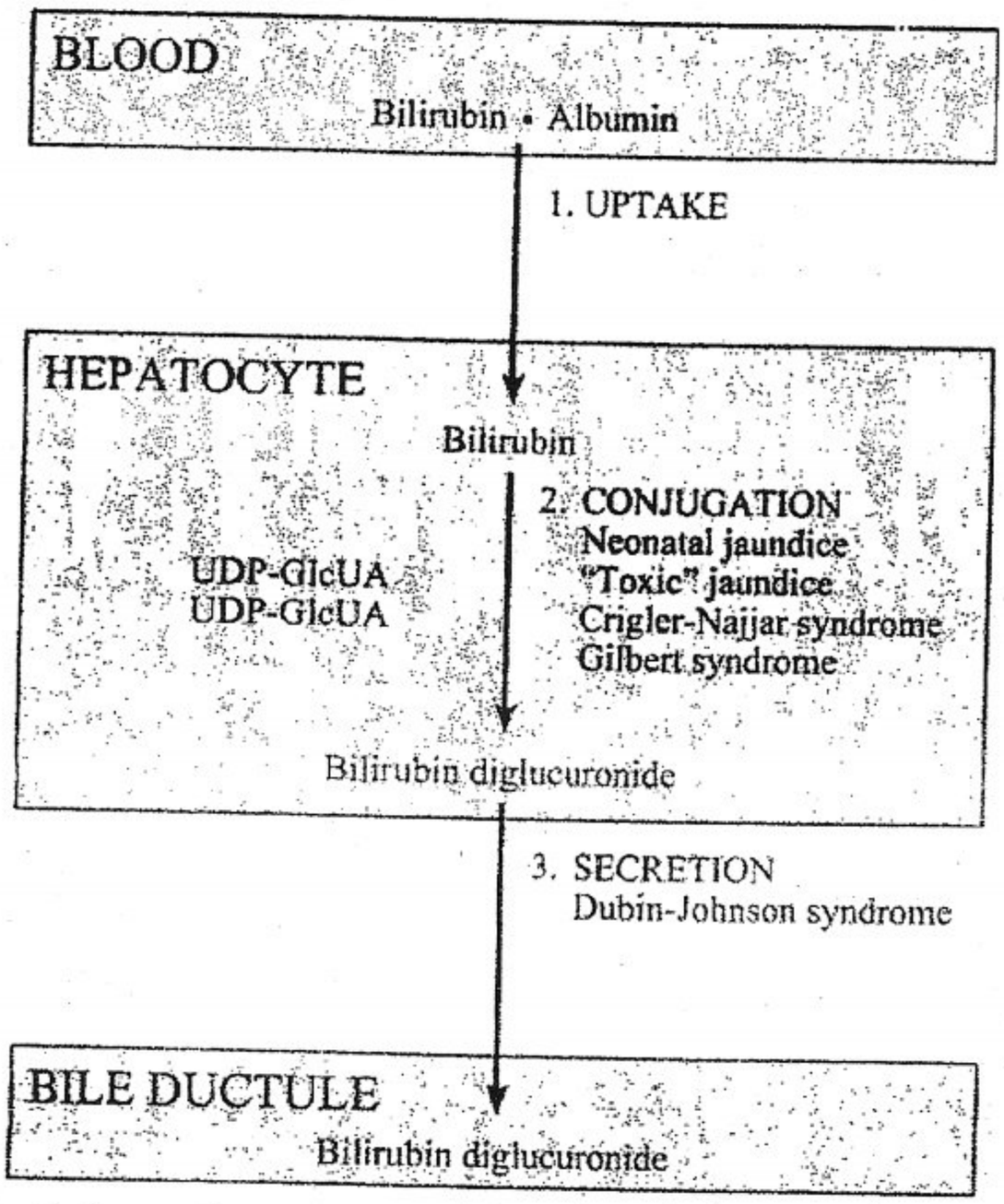


شکل ۸-۴: ساختمان بیلی‌روبین دی گلوکورونید یا کونژوگه (مستقیم). دو مولکول اسید گلو کورونیک از طریق یک اتصال استری به دو گروه اسید پروپیونیک بیلی‌روبین متصل می‌شود.

بیشتر بیلی‌روبین که در صفرای انسان ترشح می‌شود، از نوع بیلی‌روبین دی گلوکورونید است. وقتی در حالت‌های یرقان بیلی‌روبین کونژوگه در پلاسما افزایش می‌یابد عمدتاً از نوع بیلی‌روبین منوگلوکورونید می‌باشد بعضی داروها مانند فنوباربیتال می‌توانند فعالیت آنزیم UDP گلوکورونیل ترانسفراز را افزایش دهند.

۳-۶-۴ ترشح بیلی‌روبین به داخل صفرا

ترشح بیلی‌روبین کونژوگه به داخل صفرا توسط مکانیسم انتقال فعال صورت می‌گیرد که عامل محدودکننده سرعت کل فرایند متابولیسم بیلی‌روبین در کبد می‌باشد. پروتئین منتقل‌کننده بیلی‌روبین به‌وسیله فنوباربیتال نیز القاء می‌گردد. سه فرایند اصلی درگیر در انتقال بیلی‌روبین از گردش خون به صفرا در شکل ۹-۴ خلاصه شده است.



شکل ۹-۴: نمایش سه فرایند اصلی برداشت، کونژوگاسیون و ترشح که در انتقال بیلی‌روبین از گردش خون به صفرا نقش دارد.

۴-۶-۴ احیاء بیلی‌روبین کونژوگه به‌وسیله باکتری‌های روده و تبدیل شدن به اوروبیلینوژن

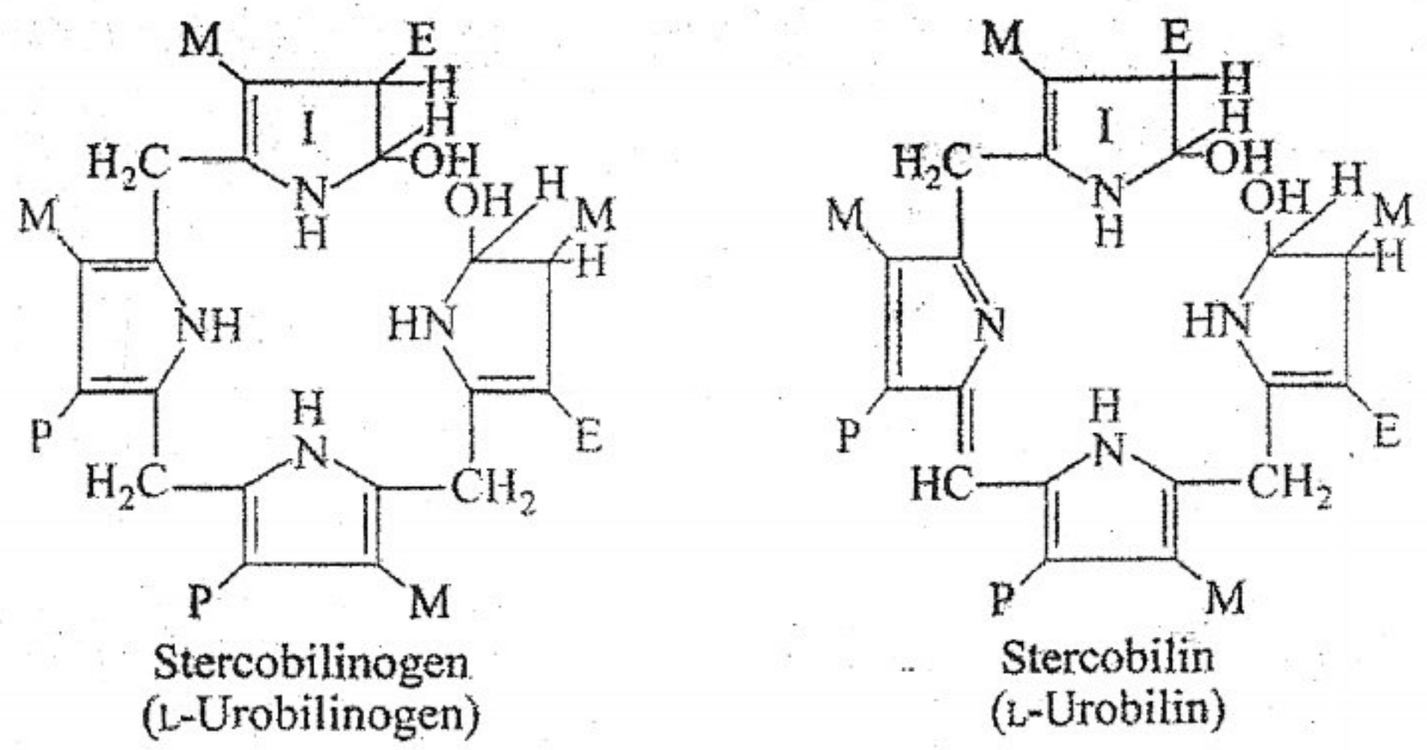
وقتی بیلی‌روبین کونژوگه به انتهای ایلئوم و روده بزرگ برسد، گلوکورونیدها توسط آنزیم‌های باکتری (β- گلوکورونیدازها) برداشت شده و سپس این رنگ‌دانه توسط باکتری‌ها (فلور) روده به ترکیبات بی‌رنگی به نام اوروبیلینوژن تبدیل می‌شود (شکل ۱۰-۴). در انتهای ایلئوم و انتهای روده بزرگ، بخش کوچکی از اوروبیلینوژن‌ها از روده جذب شده و مجدداً توسط کبد برداشت می‌شود. این چرخه به نام چرخه روده‌ای – کبدی اروبیلینوژن می‌باشد. مقدار کمی از اوروبیلینوژن توسط کلیه‌ها

در تشخیص یرقان، اندازه‌گیری بیلی‌روبین سرم دارای ارزش زیادی است. یکی از روش‌های کمی اندازه‌گیری محتوای بیلی‌روبین سرم توسط واندن برگ طراحی شد. در این روش بیلی‌روبین در حضور متانول با یک محلول آبی تولید یک کمپلکس قرمزرنگ می‌کند که توسط روش اسپکتروفتومتری قابل‌اندازه‌گیری است. واندان برگ در اندازه‌گیری بیلی‌روبین در صفرای انسان عمداً متانول را حذف نموده و باکمال تعجب تولید رنگ قرمز (به‌طور مستقیم) صورت گرفت. به همین دلیل این شکل بیلی‌روبین را مستقیم نامیدند که می‌تواند بدون افزودن متانل در واکنش شرکت نماید. بعدازآن مشخص شد که همین واکنش مستقیم در سرم مبتلایان یرقان بر اثر انسداد صفراوی نیز رخ می‌دهد. برای اندازه‌گیری بیلی‌روبین در سرم افراد طبیعی و یا بیلی‌روبین مازاد در سرم مبتلایان به کم‌خونی همولیتیک افزودن متانل لازم بود. با اضافه کردن متانل کل بیلی‌روبین محلول و نامحلول در واکنش شرکت می‌نماید که به نام توتال بیلی‌روبین خوانده می‌شود و به آن شکل از بیلی‌روبین که تنها بعد از افزودن متانل در واکنش شرکت می‌کند غیرمستقیم گفته شد که به این صورت محاسبه می‌گردد:

بیلی‌روبین غیرمستقیم = بیلی‌روبین مستقیم - بیلی‌روبین تام

برداشت شده و به اوروبیلین تبدیل می‌گردد که رنگ زرد ادرار را ایجاد می‌کند.

به‌طور طبیعی، اکثر اوروبیلینوژن‌های بی‌رنگ توسط باکتری‌های فلور مدفوع در کولون به اوروبیلین‌هایی مانند استرو کوبلین (قهوه‌ای‌رنگ) اکسید می‌شوند که رنگ طبیعی مدفوع را ایجاد می‌کند (شکل ۱۰-۴). تیره شدن مدفوع بعد از ماندن در هوا ناشی از اکسیداسیون اوروبیلینوژن‌های باقیمانده به اوروبیلین‌ها می‌باشد.



شکل ۱۰-۴: ساختمان اوروبیلینوژن و اوروبیلین.

۴-۷ هیپر بیلی‌روبینمی و ایجاد یرقان

وقتی مقدار بیلی‌روبین خون از ۱ میلی‌گرم در دسی لیتر تجاوز نماید هیپر بیلی روبینمی به وجود می‌آید. هیپربیلی‌روبینمی به دو دلیل ایجاد می‌گردد. ۱- تولید بیلی‌روبین بیشتر از میزان توانایی کبد برای ترشح آن. ۲- نارسایی کبد آسیب دیده در دفع بیلی‌روبین به مقادیر طبیعی. در تمام این موارد، بیلی‌روبین در خون تجمع یافته و وقتی به غلظت ۲/۵ - ۲ میلی‌گرم در دسی لیتر رسید به داخل بافت‌ها انتشار می‌یابد و ایجاد رنگ زرد می‌گردد که به آن یرقان یا زردی گفته می‌شود. در غیاب آسیب کبدی انسداد مجاری ترشحی کبدی (از طریق مهار ترشح بیلی‌روبین) نیز

باعث هیپربیلی‌روبینمی می‌گردد.
در حال حاضر می‌دانیم که بیلی‌روبین غیرمستقیم همان بیلی‌روبین نامحلول یا غیر کونژوگه است که به‌طور طبیعی از متابولیسم هیم ساخته شده و به کبد منتقل می‌شود. بیلی‌روبین غیر کونژوگه برای تولید کمپلکس رنگی نیاز به متانول دارد. بیلی‌روبین مستقیم همان بیلی‌روبین کونژوگه است که محلول در آب می‌باشد و مستقیماً می‌تواند با محلول آبی تولید رنگ نماید و نیاز به متانول برای ایجاد رنگ ندارد. برحسب نوع بیلی‌روبین موجود در پلاسما، یعنی کونژوگه و غیر کونژوگه هیپربیلی‌روبینمی به دو صورت تقسیم می‌شود. فقط فرم غیر کونژوگه بیلی‌روبین ایجاد رنگ زرد می‌نماید و قادر به عبور از سد خونی – مغزی و ورود به داخل سیستم عصبی مرکزی است که تولید آنسفالوپاتی به نام کرنیکتروس می‌گردد. از طرفی فقط بیلی‌روبین کونژوگه که در آب محلول است، می‌تواند در ادرار ظاهر شود و تولید یرقان رنگی (کلوریک -کلوریا یعنی رنگ‌دانه‌ی بیلی‌روبین در ادرار) می‌نماید در مقابل یرقان بی رنگ (آکلوریک) یعنی عدم وجود بیلی‌روبین در ادرار فقط در هنگام افزایش بیلی‌روبین غیر کونژوگه مشاهده می‌شود.

۱-۷-۴ افزایش مقادیر بیلی‌روبین غیر کونژوگه در چندین بیماری

الف – کم‌خونی‌های همولیتیک
حتی در موارد همولیز شدید در کم‌خونی‌های شدید، بیلی‌روبین غیر کونژوگه فقط کمی افزایش می‌یابد (کمتر از ۴ میلی‌گرم در دسی لیتر). این به علت ظرفیت بالای کبد سالم برای انتقال بیلی‌روبین غیر کونژوگه به کبد به میزان ۱۰ برابر حالت مقدار طبیعی بیلی‌روبین در خون می‌باشد. در این بیماران مقدار اوروبیلی نوژن ادرار و مدفوع افزایش می‌یابد.

ب – یرقان فیزیولوژیک یا نوزادی
این نوع یرقان شایع‌ترین فرم هیپربیلی‌روبینمی غیر کونژوگه می‌باشد. این حالت نتیجه افزایش همولیز در بدو تولد و سیستم کبدی نارس نوزاد برای برداشت، کونژوگاسیون و ترشح بیلی‌روبین می‌باشد. در این سیستم نه‌تنها فعالیت آنزیم UDP گلوکورونیل ترانسفراز به حد طبیعی نرسیده است بلکه سوبسترای آنزیم یعنی UDP – گلوکورونات به‌اندازه کافی ساخته نشده است. درنتیجه بیلی‌روبین غیر کونژوگه در خون نوزاد افزایش می‌یابد و در شرایط بیش از ۲۵-۲۰ میلی‌گرم در دسی لیتر به داخل سد مغزی خونی نوزاد نفوذ می‌نماید و تولید آنسفالوپاتی سمی هیپر بیلی‌روبینمیک یا کرنیکتوروس می‌نماید که می‌تواند در شرایط کنترل نشده باعث عقب‌ماندگی ذهنی نوزاد گردد. درمان از طریق تزریق فنوباربیتال به نوزاد یرقانی برای القاء سیستم متابولیزه بیلی‌روبین می‌تواند صورت گیرد. همچنین مجاورت نوزاد با نور آبی (نور درمانی) سبب تبدیل بیلی‌روبین به ایزومرهای محلول می‌گردد که سبب ترشح مقداری از آن به داخل صفرا شده و از بدن دفع می‌گردد. در این بیماران مقدار اوروبیلی نوژن ادرار و مدفوع ناچیز است.

ج- سندرم کریگلر- نیجر نوع I (یرقان مادرزادی غیر همولیتیک)

این بیماری یک بیماری اتوزومال مغلوب و نادر است که به دلیل جهش‌هایی در ژن آنزیم بیلی‌روبین UDP – گلوکورونیل ترانسفراز که باعث عدم تولید این آنزیم می‌گردد می‌باشد. این بیماری همراه با یرقان مادرزادی شدید و بیلی‌روبین سرمی بیشتر از ۲۰ میلی‌گرم در دسی لیتر می‌باشد. مبتلایان طی ۱۵ ماه اول زندگی خود فوت می‌کنند و تجویز فنوباربیتال برای آن‌ها اثری بر روی تشکیل بیلی‌روبین کونژوگه ندارد.

د- سندرم کریگلر- نیجر نوع II

این یک بیماری ارثی نادر بوده و درنتیجه کمبود آنزیم کبدی UDP – گلوکورنیل ترانسفراز می‌باشد که دومین UDP گلوکورونیل را به بیلی‌روبین منوگلوکورونید متصل می‌نماید. در این بیماران غلظت بیلی‌روبین غیر کونژوگه سرم از ۲۰ میلی‌گرم در دسی لیتر تجاوز نمی‌نماید و می‌توانند به دوزهای بالای فنوباربیتال پاسخ دهند.

ه- سندرم ژیلبرت

این بیماری به دلیل نارسایی کبدی در برداشت بیلی‌روبین و یا کاهش فعالیت آنزیم کبدی UDP – گلوکورنیل ترانسفراز به همراه کم‌خونی‌های همولیتیک بروز می‌نماید.

و- هیپربیلی روبینمی سمی

هیپربیلی‌روبینمی غیرکونژوگه می‌تواند به علت مسمومیت کبدی به‌وسیله کلروفورم، آرسفنامین‌ها، تتراکلرید کربن، استامینوفن، ویروس هپاتیت، سیروز و مسمومیت با قارچ آمانیتا حاصل گردد. این بیماری‌های اکتسابی ناشی از تخریب سلول‌های پارانشیم کبدی و نارسایی سیستم کونژوگه شدن بیلی‌روبین می‌باشد. همان‌طور که در ادامه توضیح داده شده عواملی که باعث انسداد مجرای صفراوی کبدی می‌گردد نیز منجر به افزایش بیلی‌روبین کونژوگه در خون می‌گردد.

۲-۷-۴ افزایش بیلی‌روبین کونژوگه

افزایش بیلی‌روبین کونژوگه در خون باعث انتقال آن به ادرار می‌گردد؛ زیرا این نوع بیلی‌روبین در آب محلول است و از کلیه به داخل ادرار تصفیه می‌شود؛ بنابراین بیماران دارای یرقان رنگی (کلریک) می‌باشند. در ادامه چندین بیماری رایج که منجر به افزایش بیلی‌روبین کونژوگه می‌شود ذکر می‌گردد.

الف- انسداد مجاری صفراوی

هیپر بیلی‌روبینمی کونژوگه به علت انسداد مجاری صفراوی در داخل کبد و خارج کبد رخ می‌دهد. عواملی نظیر سنگ صفرا یا سرطان سر پانکراس باعث انسداد مجاری خارج کبدی شده و عواملی مانند عفونت و تخریب سلول‌های کبدی باعث انسداد مجاری داخل کبدی می‌گردد. درهرحال این نوع یرقان به نام یرقان انسدادی نامیده می‌شود. در این بیماران به دلیل انسداد مجاری صفرا، بیلی‌روبین کونژوگه قادر به دفع نیست. به همین دلیل به داخل سیستم لنفاوی و وریدهای کبدی پس زده می‌شود و به داخل گردش خون و ادرار وارد می‌شود.

ب – سندرم دوبین جانسون
این بیماری اتوزوم مغلوب همراه با هیپربیلی‌روبینمی کونژوگه در دوران کودکی یا در دوران بزرگسالی است. این بیماری به علت نقص در سیستم ترشح بیلی‌روبین کونژوگه به داخل صفرا می‌باشد.

۳-۷-۴ اتصال بیلی‌روبین کونژوگه با پیوند کووالان به آلبومین

در بیماری‌های هیپربیلی‌روبینمی کونژوگه وقتی مقادیر بیلی‌روبین کونژگه در پلاسما مدتی بالا می‌ماند، مقداری از آن می‌تواند به طریق کووالانسی به آلبومین متصل شود و تولید بیلی‌روبین دلتا δ نماید. به دلیل اتصال کووالانسی به آلبومین نیمه‌عمر آن به‌اندازه آلبومین بوده و طولانی تراز شکل معمول آن می‌باشد؛ بنابراین، در فاز بهبودی یرقان انسدادی و بعد از طبیعی شدن بقیه بیلی‌روبین کونژوگه، مقدار بیلی‌روبین دلتا δ بالا باقی می‌ماند. این موضوع نشان می‌دهد که چرا بعضی از بیماران بعد از طبیعی شدن مقدار بیلی‌روبین کونژوگه، همچنان یرقانی باقی می‌مانند.

مقدار بیلی‌روبین و اوروبیلینوژن در خون و ادرار به‌عنوان نشانگرهای بالینی هستند.
نتایج آزمایشگاهی افراد طبیعی، بیماران مبتلابه کم‌خونی همولیتیک، هپاتیت و انسداد صفراوی در جدول ۲-۴ نمایش داده شده است.

جدول ۲-۴ نتایج آزمایشگاهی افراد طبیعی و بیماران مبتلابه انواع یرقان‌ها

Condition	Serum Bilirubin	Urine Urobilinogen	Urine Bilirubin	Fecal Urobilinogen
Normal	Direct: 0.1–0.4 mg/dL Indirect: 0.2–0.7 mg/dL	0–4 mg/24 h	Absent	40–280 mg/24 h
Hemolytic anemia	↑ Indirect	Increased	Absent	Increased
Hepatitis	↑ Direct and indirect	Decreased if micro-obstruction is present	Present if micro-obstruction occurs	Decreased
Obstructive jaundice[1]	↑ Direct	Absent	Present	Trace to absent

[1]The commonest causes of obstructive (posthepatic) jaundice are cancer of the head of the pancreas and a gallstone lodged in the common bile duct. The presence of bilirubin in the urine is sometimes referred to as choluria—therefore, hepatitis and obstruction of the common bile duct cause choluric jaundice, whereas the jaundice of hemolytic anemia is referred to as acholuric. The laboratory results in patients with hepatitis are variable, depending on the extent of damage to parenchymal cells and the extent of micro-obstruction to bile ductules. Serum levels of ALT and AST are usually markedly elevated in hepatitis, whereas serum levels of alkaline phosphatase are elevated in obstructive liver disease.

۸-۴ سوالات نمونه فصل ۴

۱- کدام آنزیم در مسیر سنتز هیم بوسیله سرب منع می گردد؟
الف- ALA سنتاز ب- هیم سنتاز
ج- اوروپورفیرینوژن دکربوکسیلاز د-کوپروپورفیرینوژن اکسیداز

۲- کدام جمله در مورد بیماری پورفیری ها صحیح است؟
الف – کمبـــود آنزیم پروتوپورفیرینوژن اکســـیداز به علت تجمع پورفیرین ها باعث حساسیت نوری می گردد.
ب – کلیه بیماریهای پورفیری به طریق اتوزومال مغلوب به ارث می رسد.
ج - کمبود آنزیم ALA سنتاز باعث درد شکمی می شود.
د – تجویز گلوکز و هماتین باعث بهبود پورفیری های اریتروپویتیک می گردد.

۳- کدام جمله در مورد سنتز هیم صحیح نیست؟
الف – برای فعال سازی گلیسین وجود پیریدوکسال فسفات ضروری است.
ب – اورو پورفیرینوژن در مجاورت نور به کوپروپورفیرین تبدیل می شود.
ج – سنتز آنزیم δ آمینولوولینات سنتتاز یک ($ALAs_1$) در کبد در حضور هیم کاهش می یابد.
د – قسمت عمده سنتز هیم در سلول های پیش ساز اریتروئیدی در مغز استخوان رخ می دهد.

۴- کدامیک از سیستم های آنزیمی زیر کونژوگه شدن بیلی روبین را کاتالیز می کند؟
الف – UDP گلوکز پیروفسفوریلاز ب- هیم اکسیژناز
ج – بیلی روبین اوریدین دی فسفات گلوکورونیل ترانسفراز د – پیرووات دهیدروژناز

۵- تجمع بیلی روبین در کدامیک از بافت های زیر را Kernicterus نامند؟
الف- قلب ب- کبد ج- خون د – مغز

۶- در کدامیک از حالات زیر افزایش بیلی روبین تام عمدتا" بعلت افزایش بیلی روبین مستقیم می باشد؟
الف- یرقان همولیتیک ب- یرقان نوزادی
ج- سندرم کریگلر – نیجر د- یرقان انسدادی

۷- بیلی روبین δ (دلتا) قسمتی از بیلی روبین است که:
الف- غیر کونژوگه است. ب- مونوکونژوگه است.
ج- غیر کونژوگه و متصل به آلبومین د- بیلی روبیـــــن کـــونژوگه کـــه به طریق کووالان به آلبومین متصل است.

پاسخنامه

۱- ب	۵- د
۲- الف	۶- د
۳- ب	۷- د
۴- ج	

۵

فصل پنجم:

متابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

اهداف کلی:

آشنایی با نحوه سنتز و تجزیه نوکلئوتیدهای بازهای آلی پورینی (آدنین و گوانین) و پیریمیدینی (یوراسیل و سیتوزین و تیمین)

اهداف اختصاصی

با مطالعه این فصل دانشجو بایستی مطالب زیر را بیاموزد:

- اسیدهای آمینه و ترکیباتی که هر یک از اتم‌های حلقه‌های بازهای آلی پورین و پیریمیدین از آن مشتق شده‌اند.
- واکنش‌ها و آنزیم‌های سنتز از نو(Denovo) و سنتز بازیافت (Salvage) نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی و نحوه کنترل سنتز آن‌ها
- آنزیم‌ها و واکنش‌های کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی و پیریمیدینی و محصولات به وجود آمده حاصل از تجزیه آن‌ها
- واکنش‌های سنتز دی اکسی ریبونوکلئوتیدها از ریبونوکلئوتیدها
- مکانیسم عمل بعضی از داروهای مورداستفاده در شیمی‌درمانی بیماران سرطانی مانند ۵- فلورو یوراسیل و متوترکسات
- بیماری نقرس و علت رسوب اسیداوریک و نقص‌های ژنتیکی که منجر به بیماری نقرس می‌شوند
- مکانیسم عمل داروی آلوپورینول در مهار بیماری نقرس

۵-۱ مقدمه

پورین و پیریمیدین موجود در غذا مستقیماً وارد ساختار اسیدهای نوکلئیک بافت‌ها نمی‌شوند. اسیدهای نوکلئیک و نوکلئوتیدهای خورده شده در روده به منونوکلئوتید تجزیه شده که ممکن است جذب شده و یا بازهای پورین و پیریمیدین از آنها جدا شوند. بازهای پورینی سپس در روده اکسیده و به اسیداوریک تبدیل و از طریق ادرار دفع می‌شوند. اگرچه پورین و پیریمیدین موجود در غذا در ساختمان اسیدهای نوکلئیک بافتی وارد نمی‌شوند اما ترکیبات پورینی و پیریمیدینی تزریقی می توانند وارد ساختمان اسیدهای نوکلئیک سلولی در بافت‌ها شوند.

۵-۲ سنتز نوکلئوتیدهای پورینی (GMP و AMP):

برای سنتز نوکلئوتیدهای پورینی دو مسیر بیوشیمیایی وجود دارد:

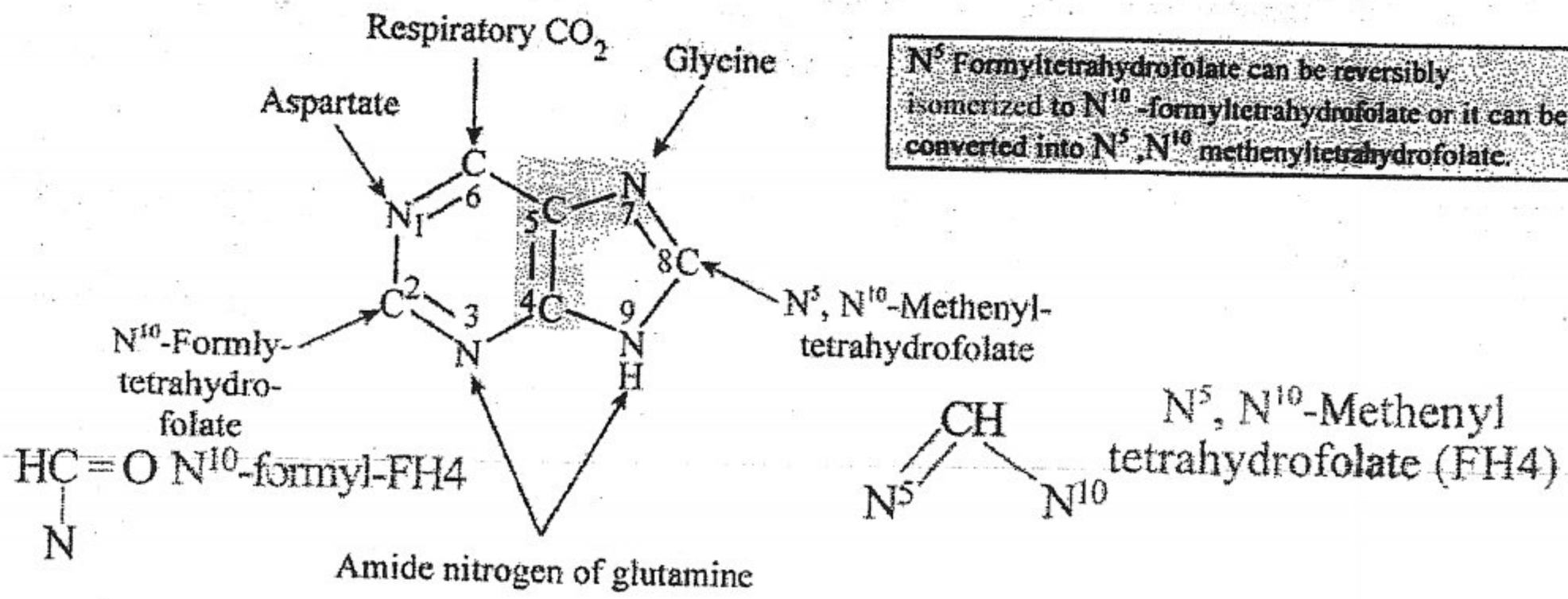
۱. مسیر ازنو (De novo pathway): به مسیر بیوشیمیایی ساخته‌شدن مواد از ترکیبات اولیه دیگر طی واکنش‌های متوالی گفته می‌شود.

۲. مسیر بازیافت (Salvage pathway): اسیدهای نوکلئیک مانند اکثر ترکیبات دیگر در بدن به‌طور دائم پایدار نیستند و مدتی بعد از ساخته‌شدن تجزیه می‌شوند. بازهای آلی حاصل از تجزیه نوکلئوتیدها به‌جای کاتابولیزه شدن و دفع از بدن می‌توانند مجدداً برای ساخته‌شدن نوکلئوتیدها مورداستفاده قرار گیرند.

در اینجا ابتدا مسیر بیوسنتز ازنو De novo نوکلئوتیدهای پورینی و بعد مسیر Salvage شرح داده می‌شوند.

۵-۲-۱ سنتز از نوی نوکلئوتیدهای پورینی

سنتز از نو (De novo) عمدتاً در کبد انجام می‌شود. با استفاده از مواد نشان‌دار که دارای عناصر رادیواکتیو شامل رادیوایزوتوپ‌های C_{14} و N_{15} هستند منشأ هر یک از اتم‌های سازنده حلقه باز آلی پورین (G,A) مشخص شده است. برای این کار سلول‌های در حال رشد و تکثیر را در محیط کشت حاوی اسیدهای آمینه و کوآنزیم‌های نشان‌دار قرار می‌دهند و بعد پورین‌ها را از سلول استخراج می‌کنند و وجود اتم‌های نشان‌دار در ساختمان شیمیایی باز آلی مورد شناسایی قرار می‌گیرد.



شکل ۱-۵: در ساختمان حلقه پورین منشأ هر یک از اتم‌های سازنده نشان داده شده است.

همان‌طور که در شکل ۱-۵ می‌بینید N-1 از اسیدآمینه آسپارتیک اسید و C-2 از N^{10}-formyl tetrahydrofolic acid گرفته می‌شود. مشتقات فولات کوآنزیم آنزیم‌هایی هستند که در واکنش‌های انتقال گروه‌های یک کربنی مانند (CH_3 – میتل) و فرمیل (-CH=O) شرکت می‌کنند. اتم‌های N-3 و N-9 از گروه آمیدی (گروه R) اسیدآمینه گلوتامین گرفته می‌شوند.

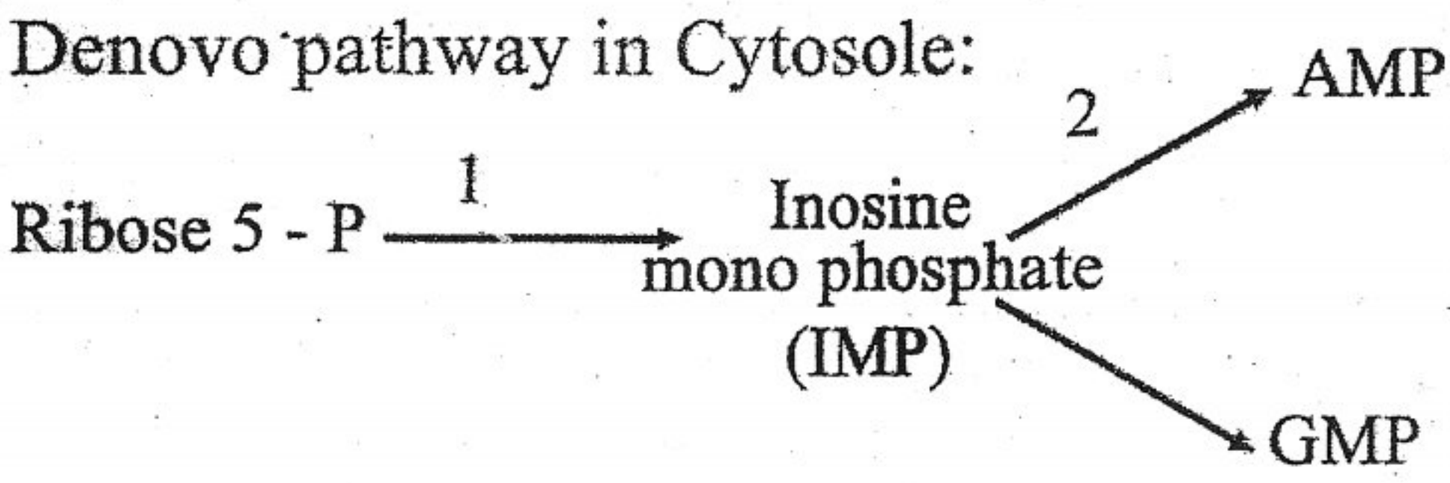
C-8 از N^5, N^{10} – methenyl tetrahydrofolate و C- 6 از دی‌اکسید کربن (CO_2) و C-4 و C-5 و N-7 کلاً از اسیدآمینه گلی سین مشتق می‌شوند. از ترکیبات مختلف فوق به‌تدریج حلقه پورین ساخته می‌شود.

۲-۲-۵ واکنش‌های مسیر De novo را به دو مرحله می‌توان تقسیم‌بندی کرد:

۱. مرحله اول از قند ریبوز – ۵ – فسفات شروع می‌شود و به نوکلئوتید پورینی حد واسط به نام Inosine mono phosphate (IMP) ختم می‌شود (شکل ۲-۵). IMP در ساختمان DNA و RNA به‌طورمعمول وجود ندارد و یک نوکلئوتید حد واسط است که از آن AMP و GMP ساخته می‌شود. به باز آلی موجود در ساختمان IMP هیپوزانتین(Hypoxanthine) و به نوکلئوزید آن اینوزین Inosine گفته می‌شود؛ مانند AMP که نوکلئوتید باز آلی آدنین است و نوکلئوزید آن آدنوزین (Adenosine) نامیده می‌شود.

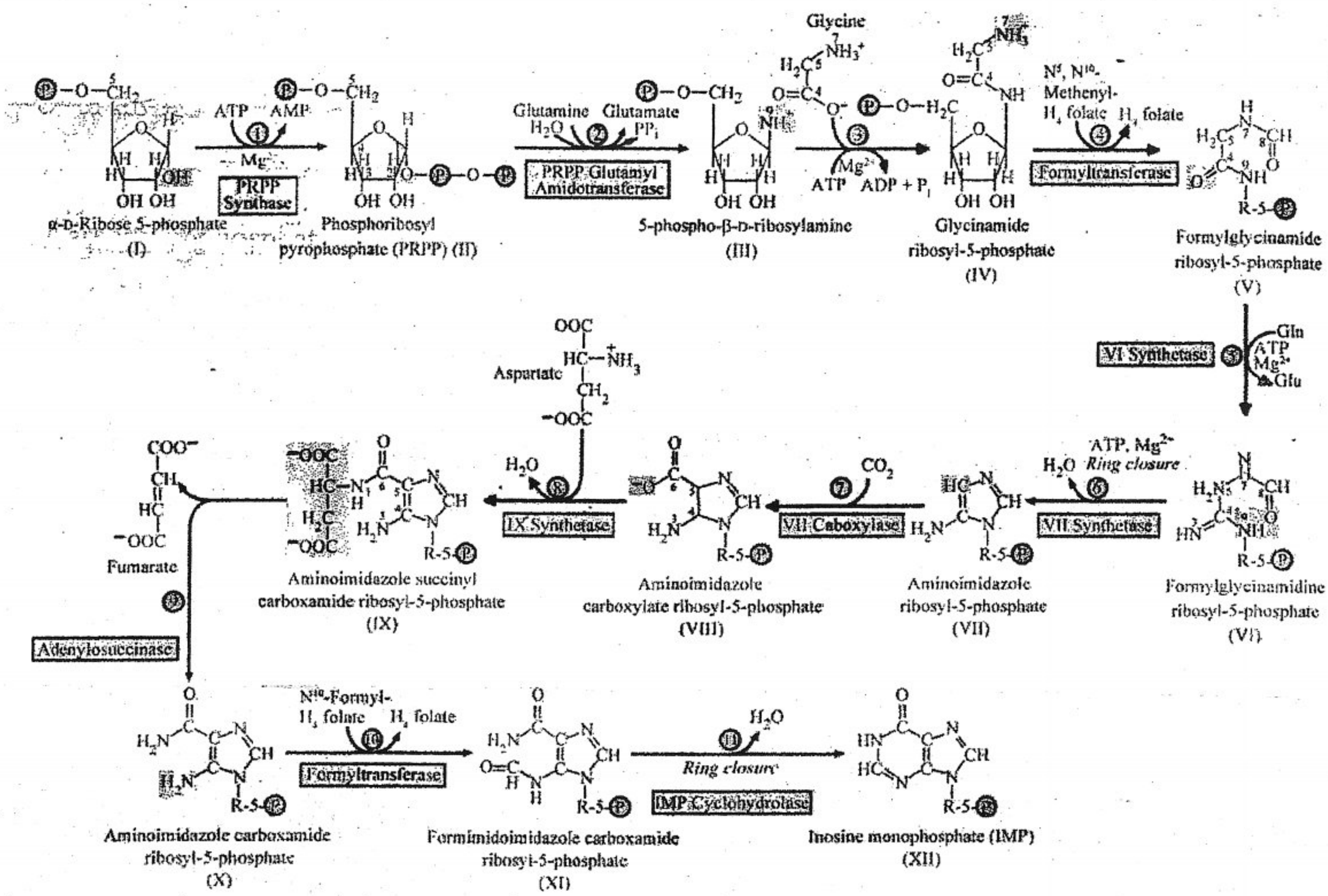
۲. در مرحله دوم واکنش‌ها به دو شاخه تقسیم می‌شود. از یک راه IMP به GMP تبدیل می‌شود و از راه دیگر تبدیل IMP به AMP است. در این مرحله تغییرات روی حلقه باز آلی Hypoxanthine صورت گرفته و درنتیجه نوکلئوتید IMP تبدیل به AMP یا GMP می‌شود.

نکته مهم این است که در سنتز(de novo) نوکلئوتیدهای پورینی حلقه باز آلی پورین روی کربن شماره ۱ قند ریبوز به‌تدریج شکل می‌گیرد و به‌طور مجزا ساخته نمی‌شود



شکل ۲-۵: دو مرحله سنتز ازنو برای ساخته‌شدن نوکلئوتیدهای پورینی

۳-۲-۵ واکنش‌های مرحله اول: همان‌طور که در شکل ۳-۵ نشان داده شده واکنش‌های این مرحله به ترتیب عبارتند از:



شکل ۳-۵: واکنش‌های مرحله اول سنتز نوکلئوتیدهای پورینی برای تشکیل IMP

۱. ابتدا یک گروه پیروفسفات (PPi) از ATP به کربن شماره ۱ قند α-D-ribose-5-phosphate منتقل می‌شود که محصول عمل 5-phosphoribosyl-1-pyrophosphate (PRPP) است و ATP نیز که یک گروه پیرو فسفات ازدست‌داده تبدیل به AMP می‌شود. آنزیمی که این واکنش را کاتالیز می‌کند به آن Ribose-phosphate pyrophosphokinase یا PRPP synthetase گفته می‌شود که یک آنزیم آلواستریک و کنترل‌کننده (Regulatory) است که بعداً در مورد آن بیشتر بحث خواهد شد.

۲. در واکنش بعد یک گروه آمینی NH_2- جایگزین گروه پیرو فسفات روی کرین شماره ۱ قند ریبوز می‌شود. دهنده گروه آمینی اسیدآمینه گلوتامین است. این اسیدآمینه علاوه بر گروه α آمینی در گروه R خود نیز دارای گروه آمیدی حاوی نیتروژن است و این نیتروژن آمیدی جانشین پیروفسفات PPi روی ریبوز می‌شود و گلوتامین خود تبدیل به گلوتامیک اسید می‌شود. همزمان با انجام این واکنش فرم فضایی (Configuration) کربن شماره ۱ قند ریبوز از فرم α به فرم β تبدیل می‌شود به همین دلیل NH_2 روی کربن شماره ۱ در بالای حلقه قند پنج کربنی نشان داده می‌شود. پیروفسفات آزاد شده شکسته و تبدیل به ۲ گروه فسفات می‌شود که انرژی رهاشده موجب غیرقابل‌برگشت شدن واکنش دوم

می‌شود. محصول عمل واکنش دوم 5-phosphoribosyl amine (PRA) می‌باشد و آنزیمی که این واکنش را کاتالیز می‌کند Amidophosphoribosyl transferase نام دارد که یک آنزیم آلوستریک بوده و نقش کنترلی در بیوسنتز پورین‌ها را دارد. توجه کنید که این گروه آمینی اضافه شده به کربن ۱ قند پنج کربنی همان نیتروژن شماره ۹ حلقه پورین را بعداً تشکیل خواهد داد. همان‌طور که می‌دانید بازآلی پورین اتصال آن به قند پنج کربنی از طریق N-9 به C-1′ می‌باشد. بعدازاین واکنش ۹ واکنش دیگر طبق شکل ۳-۵ انجام می‌شود و تمام ترکیباتی که در شکل ۱ نشان داده شد وارد واکنش شده و حلقه پورین را روی کربن شماره ۱ قند پنج کربن به وجود می‌آورند. ابتدا حلقه ایمیدازول (حلقه پنج‌ضلعی) و سپس پیریمیدین (حلقه شش‌ضلعی) شکل می‌گیرد و نوکلئوتید حد واسط Inosine monophosphate (IMP) که اسم دیگر آن Inosinic Acid است به وجود می‌آید. نام بازآلی موجود در ساختمان IMP همان‌طور که قبلاً اشاره شد هیپوزانتین می‌باشد؛ بنابراین در این مسیر IMP اولین نوکلئوتید حد واسط که دارای حلقه کامل پورینی است تشکیل می‌شود.

۴-۲-۵ واکنش‌های مرحله دوم

در مرحله دوم سنتزازنو از نوکلئوتید پورینی حد واسط IMP دو نوکلئوتید استاندارد AMP و GMP طبق واکنش‌های شکل ۴-۵ ساخته می‌شود. برای ساخته‌شدن هر یک از این دو نوکلئوتید از IMP دو واکنش انجام می‌گیرد:

الف- سنتز AMP از IMP:

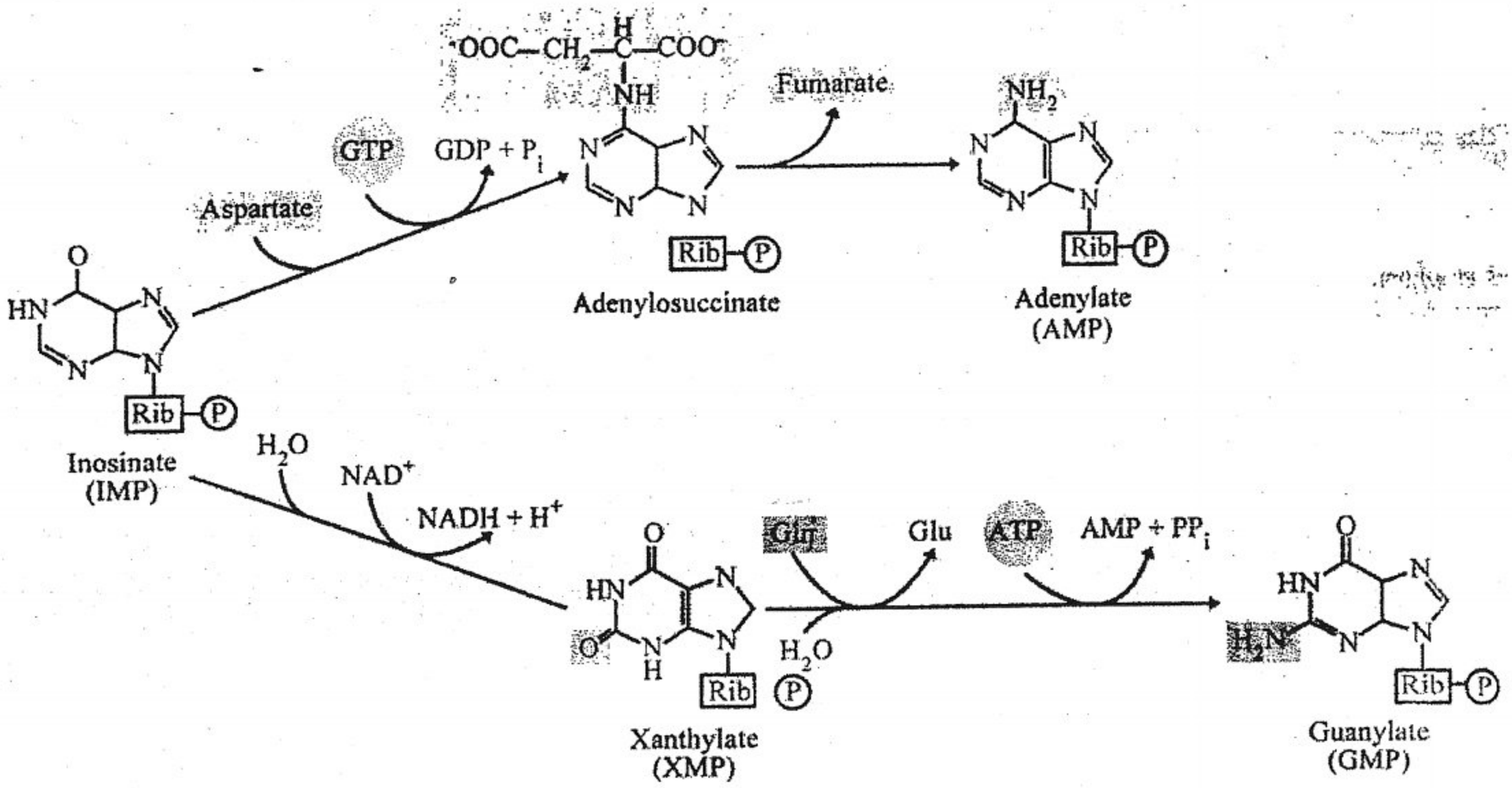
۱. واکنش اول اضافه شدن آسپارتیک اسید روی کربن شماره ۶ حلقه Hypoxanthine به‌جای اتم اکسیژن است. ASP دهنده گروه آمینی برای تشکیل AMP می‌باشد. این واکنش انرژی‌خواه بوده که با هیدرولیز GTP انرژی تأمین می‌شود. آنزیم Adenylosuccinate synthetase این واکنش را کاتالیز می‌کند. این آنزیم نیز یک آنزیم کنترلی در مسیر سنتز AMP می‌باشد.

۲. در واکنش بعد ۴ اتم کربن ASP اضافه شده به IMP در واکنش قبل به‌صورت فوماریک اسید خارج می‌شود. این واکنش توسط آنزیم Adenylosuccinase کاتالیز می‌شود که منجر به تشکیل AMP می‌شود.

ب- سنتز GMP از IMP:

تشکیل GMP از IMP نیز در طی دو واکنش انجام می‌شود.

۱. ابتدا کربن شماره ۲ حلقه هیپوزانتین در IMP توسط آنزیم IMP dehydrogenase اکسیده می‌شود. کوآنزیم این آنزیم NAD



شکل ۴-۵: تبدیل IMP به AMP و GMP

بوده که احیا شده به NADH تبدیل می‌شود. این آنزیم نیز آلوستریک بوده و نقش کنترلی در سنتز GMP به طریق Denovo دارد. درنتیجه اکسیده شده کربن ۲ حلقه، هیپوزانتین به زانتین و نوکلئوتید مربوطه به Xanthosine monophosphate (XMP) تبدیل می‌شود. دقت کنید که نام نوکلئوزید باز آلی زانتین (Xanthosine) زانتوسین می‌باشد.

۲. واکنش بعدی شامل اضافه شدن یک گروه آمینی $-NH_2$- به‌جای اکسیژن روی کربن شماره ۲ حلقه باز آلی می‌باشد(Amination reaction). دهنده گروه آمینی در این واکنش اسیدآمینه گلوتامین بوده که تبدیل به گلوتامیک اسید می‌شود. این واکنش هم انرژی‌خواه می‌باشد که با هیدرولیز ATP انرژی آن تأمین می‌گردد. به آنزیمی که این واکنش را کاتالیز می‌کند XMP-Gln amidotransferase گفته می‌شود.

۵-۲-۵ کنترل سنتز پورین‌ها

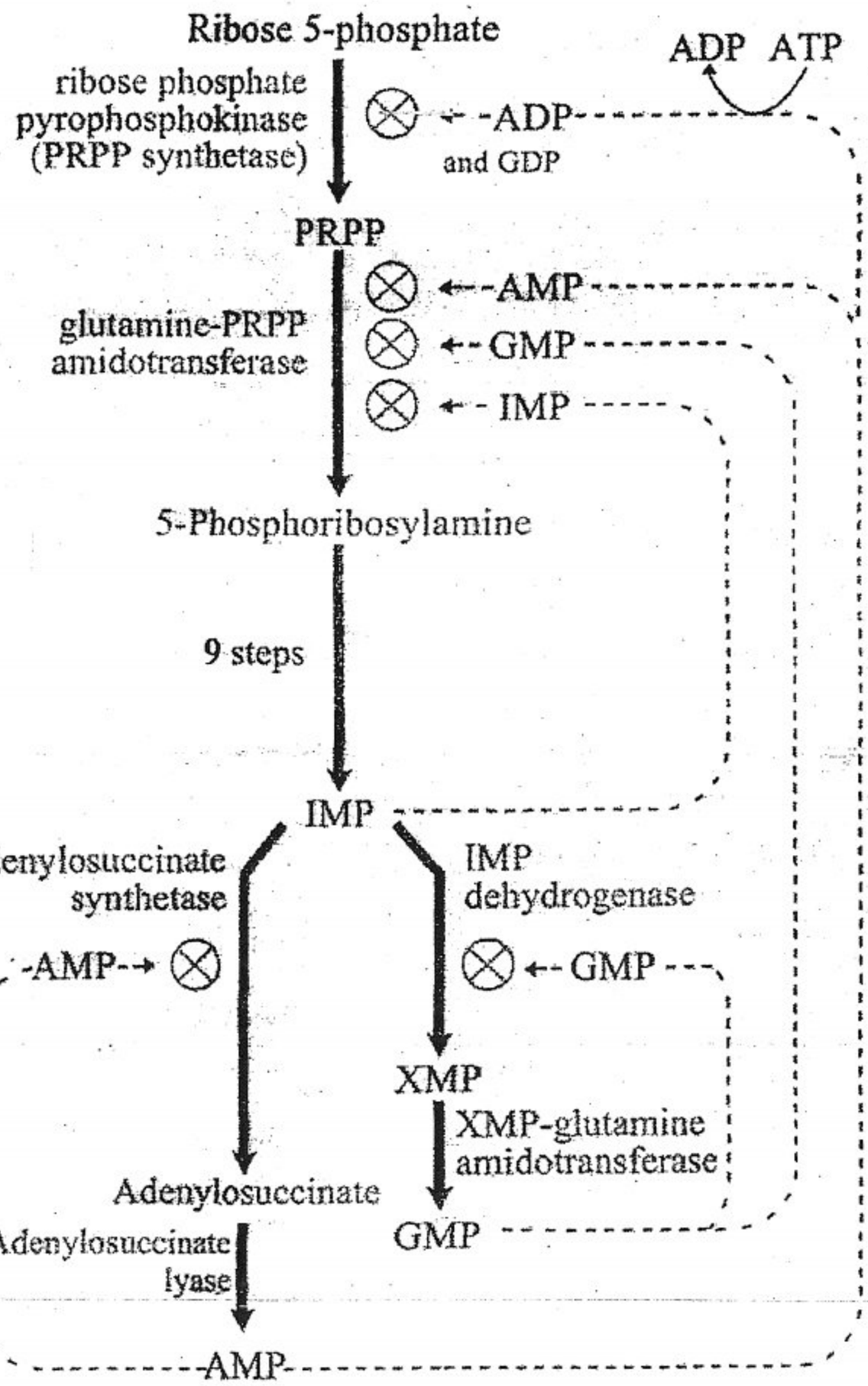
کنترل سنتزازنوی پورین‌ها به ۴ صورت انجام می‌شود (شکل ۵-۵).

آنزیم‌های اول و دوم مرحله اول از سنتز پورین‌ها

(PRPP synthetase و Gln, PRPP-Amidotransferase) آنزیم‌های آلوستریک هستند که توسط IMP, GMP, AMP منع می‌شوند. وقتی‌که غلظت این نوکلئوتیدهای پورینی در سلول افزایش می‌یابد به جایگاه آلواستری این دو آنزیم متصل شده و باعث ممانعت از فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند (فیدبک منفی). آنزیم‌های

اول هر یک از مسیرهای اختصاصی سنتز این نوکلئوتیدهای پورینی نیز آلواستریک و کنترلی می‌باشند. Adenylosuccinate synthetase توسط AMP منع می‌گردد و آنزیم IMP dehydrogenase توسط GMP مهار می‌شود؛ بنابراین وقتی غلظت این محصولات عمل در سلول زیاد می‌شود به آنزیم‌های مربوطه متصل شده و باعث منع فعالیت آن‌ها می‌شوند و درنتیجه سنتز Denovo این نوکلئوتیدها کاهش می‌یابد.

طریق دیگر کنترل سنتز این نوکلئوتیدها نیاز دوطرفه برای سنتز این دو نوع نوکلئوتید پورینی می‌باشد. همان‌طور که در مرحله دوم واکنش‌های سنتز پورین‌ها نشان داده شد GTP به‌عنوان سوبسترا برای سنتز AMP موردنیاز است و ATP سوبسترا برای سنتز GMP می‌باشد؛ بنابراین برای سنتز هر کدام از این نوکلئوتیدهای پورینی نوکلئوتید دیگر باید وجود داشته باشد؛ و به‌این‌ترتیب سنتز AMP و GMP با هم متوازن می‌شود.



شکل ۵-۵: کنترل سنتز نوکلئوتیدهای پورینی

۵-۳ تبدیل نوکلئوزید منوفسفات Nucleoside monophosphate به نوکلئوزید تری فسفات Nucleoside triphosphate

فسفریلاسیون AMP به ADP توسط آنزیم Adenylate Kinase انجام می‌گیرد. ADP به وجود آمده توسط واکنش‌های گلیکولیز یا واکنش‌های Oxidative phosphorylation در میتوکندری به فرم سه فسفاته (ATP) تبدیل می‌شود.

ATP برای تبدیل فرم یک فسفاته به فرم دو فسفاته سایر نوکلئوتیدها نیز توسط آنزیم‌های Nucleoside monophosphokinase مورداستفاده قرار می‌گیرد.

$$NMP + ATP \rightarrow NDP + ADP$$

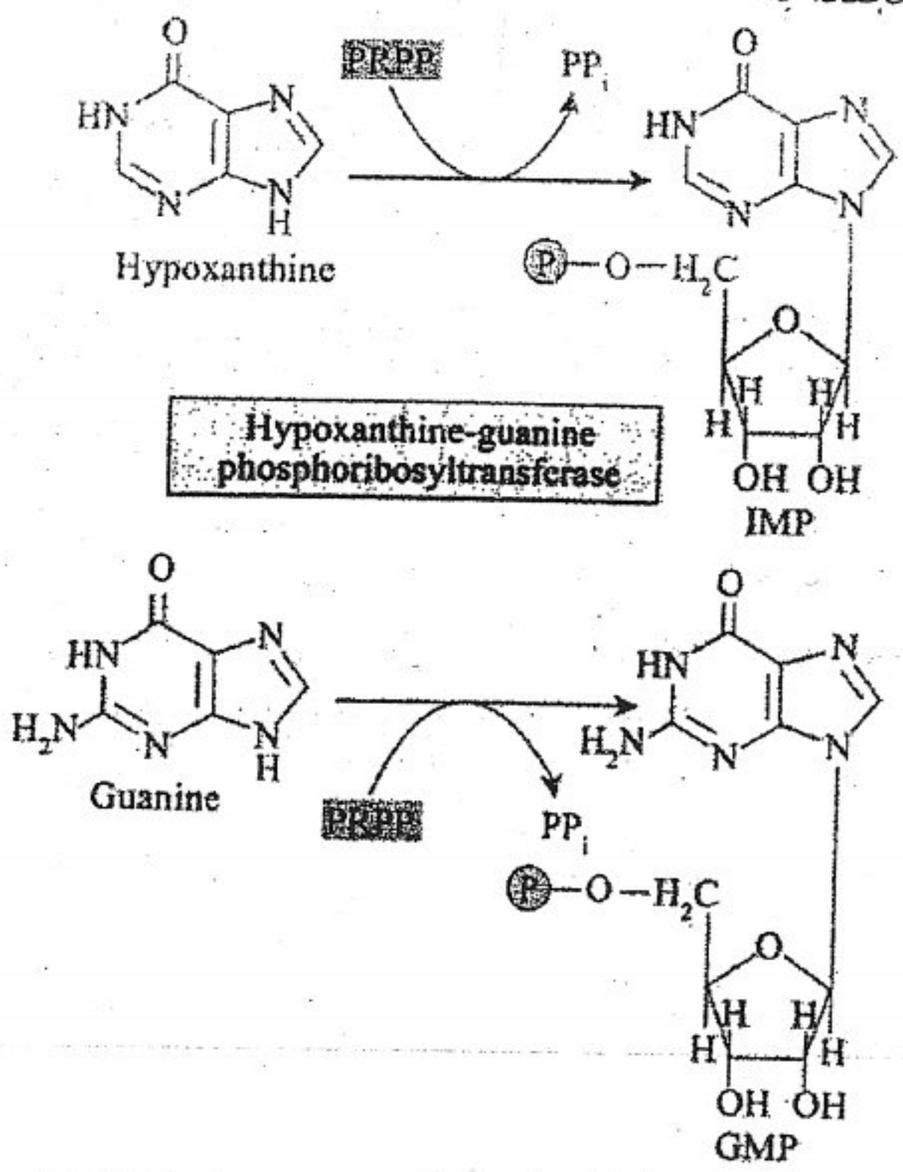
فرم دو فسفاته نوکلئوتیدها نیز با استفاده از ATP طی واکنش زیر

$$NDP + ATP \rightarrow NTP + ADP$$

توسط آنزیم Nucleoside diphosphokinase به فرم سه فسفاته تبدیل می‌شود.

۵-۴ مسیر بازیافت نوکلئوتیدهای پورینی (Salvage purine nucleotides biosynthesis)

کبد محل اصلی برای بیوسنتز نوکلئوتیدهای پورینی به طریق ازنو می‌باشد و بازهای آلی پورینی را برای سنتز بازیافت salvage برای بافت‌هایی که قادر نیستند آن‌ها را به طریق Denovo بسازند فراهم می‌کند. برای مثال سلول‌های مغز و سلول‌های سازنده گلبول‌های قرمز موسوم به اریتروسیت برای سنتز نوکلئوتیدهای پورینی بازهای آلی پورینی را از خارج دریافت می‌نمایند. در کبد نوکلئوتیدهای حاصل از تجزیه اسیدهای نوکلئیک (RNA) شکسته و بازآلی و قند ریبوز-۵- فسفات حاصل توسط جریان خون به بافت‌های خارج کبدی برده می‌شوند و بازهای الی در این بافت‌ها مجدداً به نوکلئوتید (طبق شکل ۷-۵) تبدیل می‌شوند.



شکل ۷-۵: بازیافت بازهای آلی پورینی به فرم نوکلئوتید GMP و IMP

Phosphorylation of AMP and GMP

$$AMP + ATP \xleftrightarrow[\text{Kinase}]{\text{Adenylate}} 2\ ADP \xrightarrow{\text{Substrate level phosphorylation}} ATP$$

$$GMP + ATP \xleftrightarrow[\text{(NMP Kinase)}]{\text{Nucleoside monophosphokinase}} GDP + ADP$$

$$GDP + ATP \xleftrightarrow[\text{(NDP Kinase)}]{\text{Nucleoside diphosphokinase}} GTP + ADP.$$

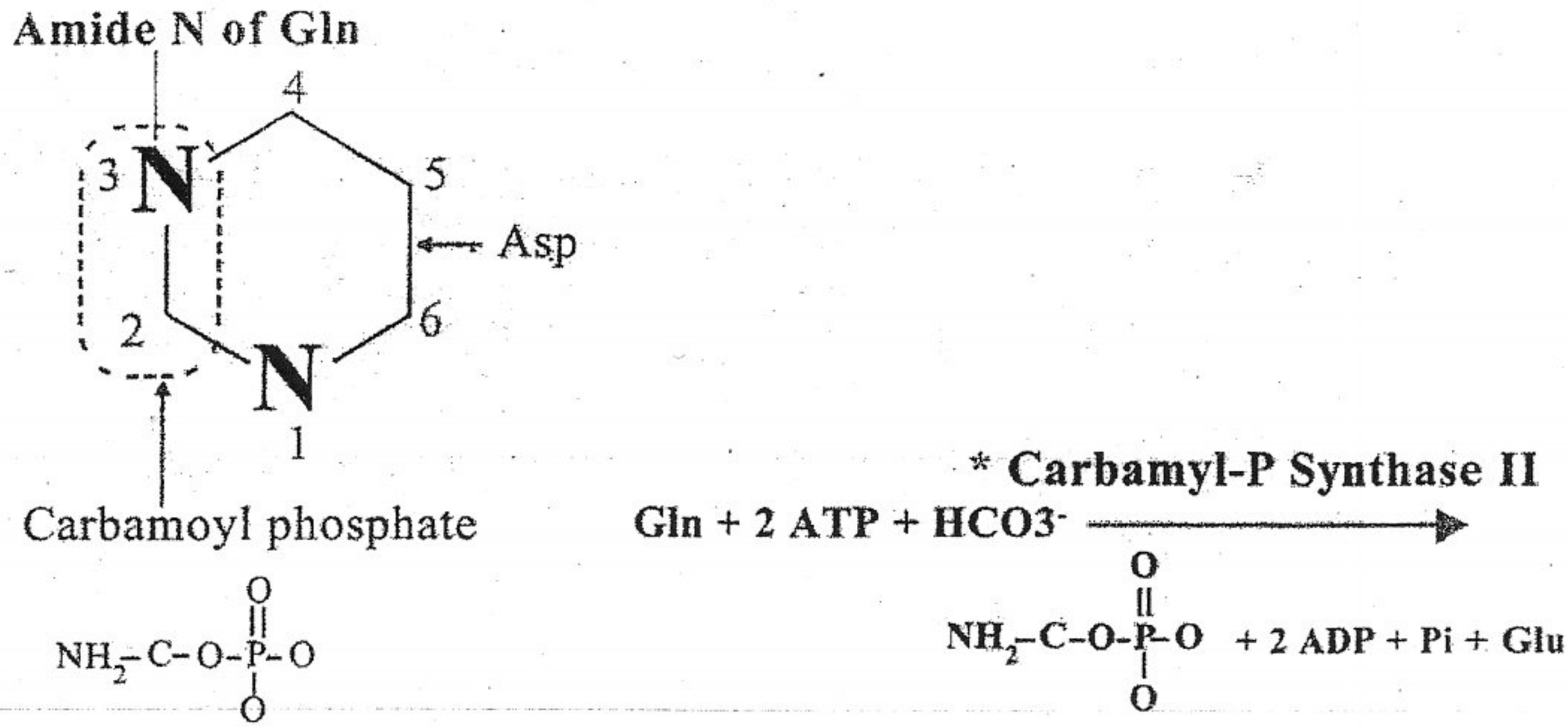
شکل ۶-۵: فسفریلاسیون نوکلئوتیدهای AMP و GMP

۵-۵ سنتز Denovo نوکلئوتیدهای پیریمیدینی

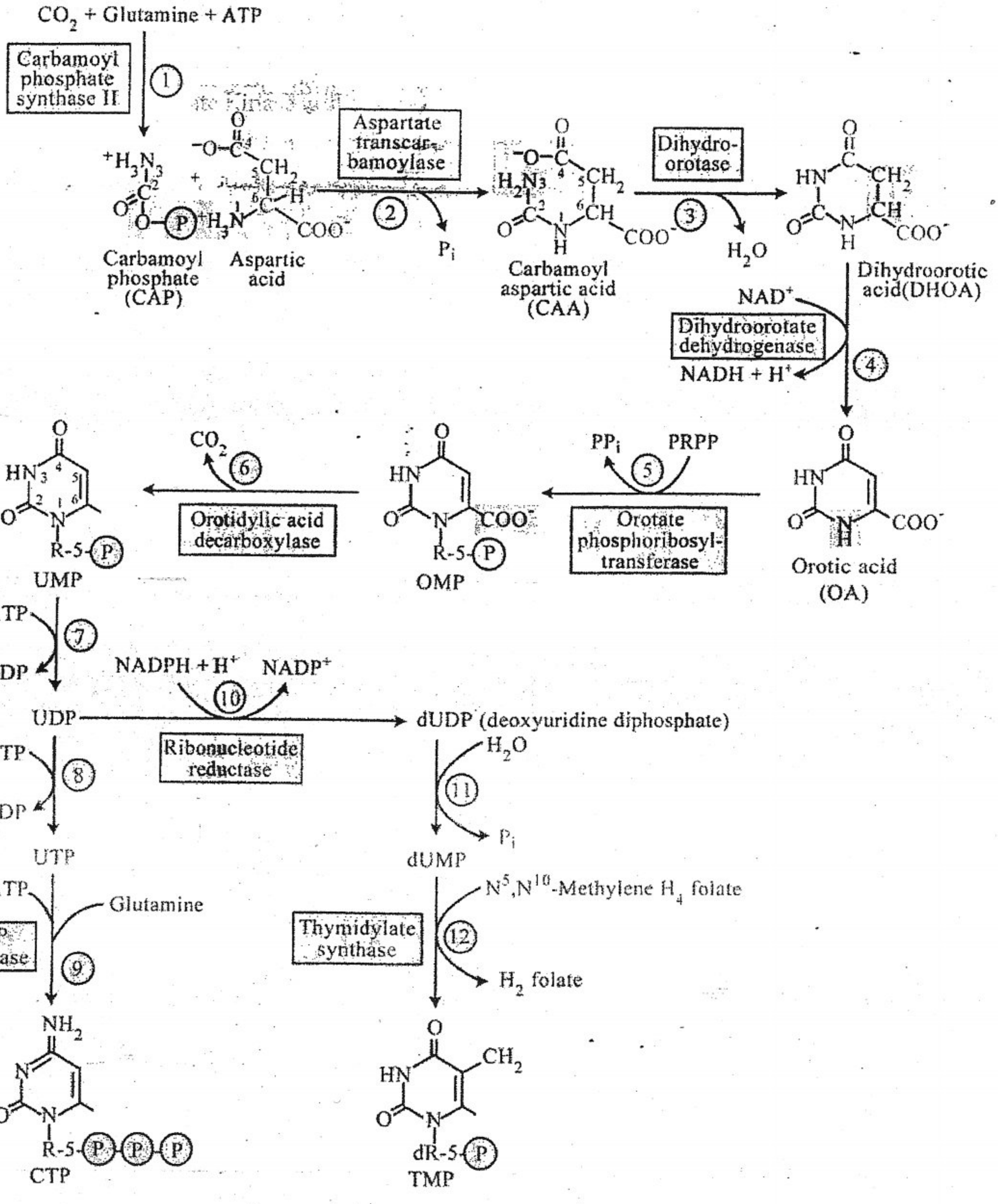
بیوسنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدینی به طریق متفاوتی نسبت به سنتز نوکلئوتیدهای پورینی انجام می‌شود. حلقه شش‌ضلعی باز آلی پیریمیدین ابتدا ساخته می‌شود و سپس به قند ریبوز – ۵- فسفات منتقل می‌شود. با استفاده از عناصر نشان‌دار رادیواکتیو منشأ اتم‌های حلقه پیریمیدین نیز مشخص شده است که از دو ترکیب کاربامیل فسفات (Carbamoyl phosphate) و اسیدآمینه آسپارتیک اسید ASP مشتق می شوند (شکل ۸-۵). کاربامیل فسفات مولکول حد واسط در سیکل اوره نیز می‌باشد ولی در سلول‌های انسان کاربامیل فسفاتی که در سیکل اوره بکار می‌رود در میتوکندری و توسط آنزیم Carbamoyl Phosphate synthase I ساخته می‌شود و آمونیوم NH_4^+ دهنده نیتروژن است. ولی کاربامیل فسفات برای سنتز پیریمیدین‌ها در سیتوزول سلول و توسط Carbamoyl phosphate synthase II ساخته می‌شود. Car-bamoyl phosphate synthase II آنزیم آلواستریک است و در تنظیم بیوسنتز پیریمیدین‌ها نقش کنترلی دارد.

جزئیات واکنش‌های دیگر بیوسنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدینی در شکل ۹-۵ نشان داده شده است.

کار با میل فسفات Carbamoyl phosphate با آسپارتیک اسید واکنش کرده و گروه کار با میل Carbamoyl به نیتروژن Asp منتقل می‌شود و محصول واکنش N-Carbamoyl aspartate است. این واکنش توسط آنزیم Asp transcarbamoylase (ATCase) که یک آنزیم آلوستریک است و تنظیم‌کننده سنتز پیریمیدین‌ها است کاتالیز می‌شود. در مرحله بعدی درنتیجه واکنش OH- گروه کاربوکسیل انتهای مولکول با H گروه آمینی انتهای دیگر مولکول و خارج شدن یک مولکول آب ، مولکول به‌صورت حلقوی درمی‌آید.



شکل ۸-۵: واکنش تشکیل کاربامیل فسفات درشکل سمت راست و منشأ هر یک از اتم‌های سازنده در ساختمان حلقه پیریمیدین شکل سمت چپ نشان داده شده است.



شکل ۹-۵: سنتز نوکلئوتیدهای پیریمیدینی از طریق مسیر از نو

و در مرحله‌ای که Orotic Acid تشکیل می‌شود با واکنش با PRPP به قند Ribose-5-P منتقل می‌شود و اولین نوکلئوتید پیریمیدینی حد واسط به اسم Orotidylic Acid (OMP) تشکیل می‌شود. با دکربوکسیلاسیون OMP اولین نوکلئوتید استاندارد پیریمیدینی UMP به وجود می‌آید.

UMP توسط آنزیم UMP Kinase فسفریله شده و به UDP و این نیز توسط Nucleoside diphosphokinase (NDP kinase) فسفریله شده و به UTP تبدیل می‌شود.

۵-۵-۱ سنتز CTP

CTP درنتیجه اضافه شدن یک گروه آمین به کربن ۴ حلقه یوراسیل در UTP به وجود می‌آید.

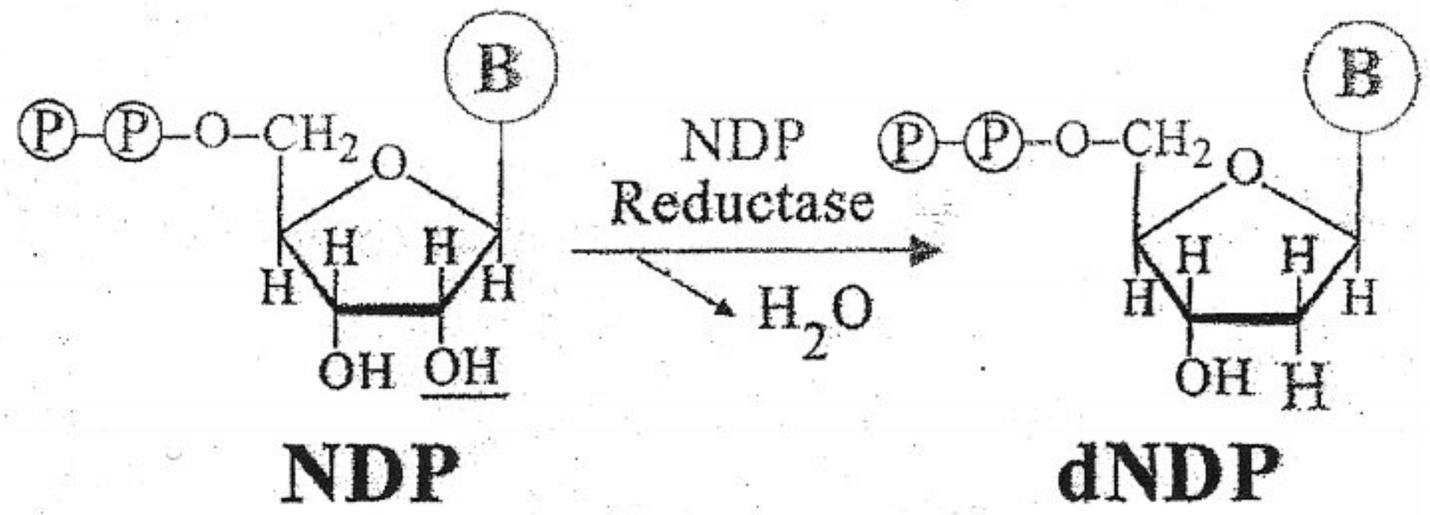
دهنده گروه آمین Gln است که خود تبدیل به Glu می‌شود. این واکنش با مصرف یک مولکول ATP همراه است و توسط آنزیم CTP synthetase کاتالیز می‌شود. (شکل ۹-۵)

۵-۵-۲ تنظیم سنتز پیریمیدین‌ها

کنترل این مسیر بیوشیمیایی نیز به‌صورت فیدبک منفی توسط محصولات عمل این مسیر بیوشیمیایی انجام می‌شود. دو آنزیم آلواستریک در این مسیر نقش کنترل‌کننده دارند. UMP آنزیم کاربامیل فسفات سنتاز (Carbamoyl phosphate synthase II) را کنترل می‌کند و CTP آنزیم آسپارتات ترانس کار با میلاز (Aspartate transcarbamoylase) را منع می‌کند.

۵-۶ بیو سنتز دی اکسی ریبونوکلئوتیدها از ریبونوکلئوتیدها

دی اکسی ریبونوکلئوتیدها که واحدهای سازنده DNA هستند درنتیجه احیا شدن کربن '۲ قند ریبوز توسط آنزیم ردوکتاز از ریبو نوکلئوتیدها ساخته می‌شوند.



برای مثال:

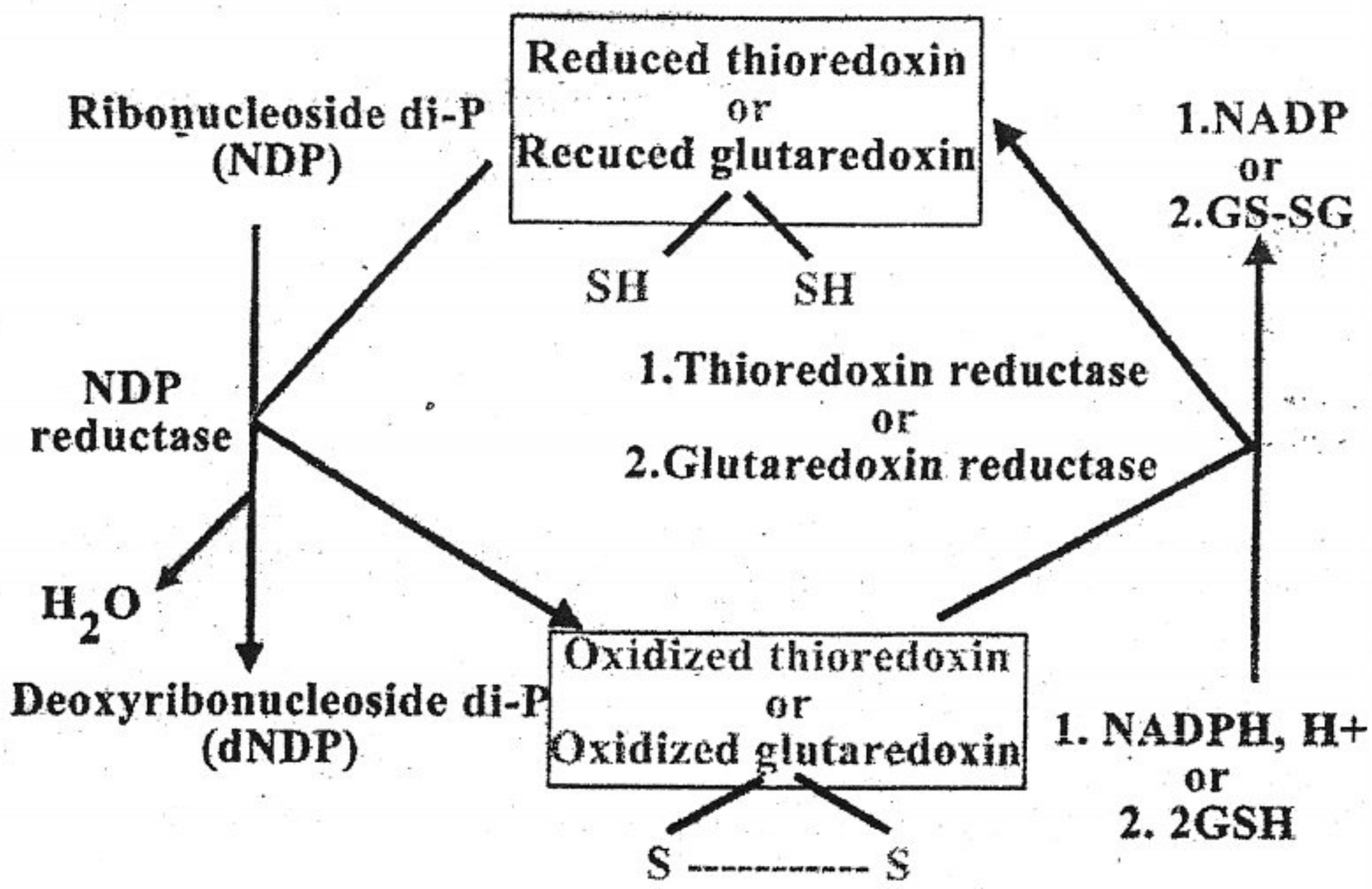
ADP → dADP

GDP → dGDP

CDP → dCDP

واکنش توسط آنزیم‌های

Ribonucleoside diphosphate reductase (NDP Reductase) کاتالیز می‌شود.(شکل ۱۰-۵)



شکل ۱۰-۵: سنتز دی اکسی ریبو نوکلئوتید از ریبونوکلئوتید

آنزیم NDP reductase برای تبدیل ریبو نوکلئوتید به دی اکسی ریبونوکلئوتید نیاز به عامل احیاکننده دارد تا اکسیژن کربن '۲ قند را به صورت H_2O خارج کند. دو نوع پروتئین در سلول عامل احیاکننده را برای این آنزیم فراهم می‌کنند.

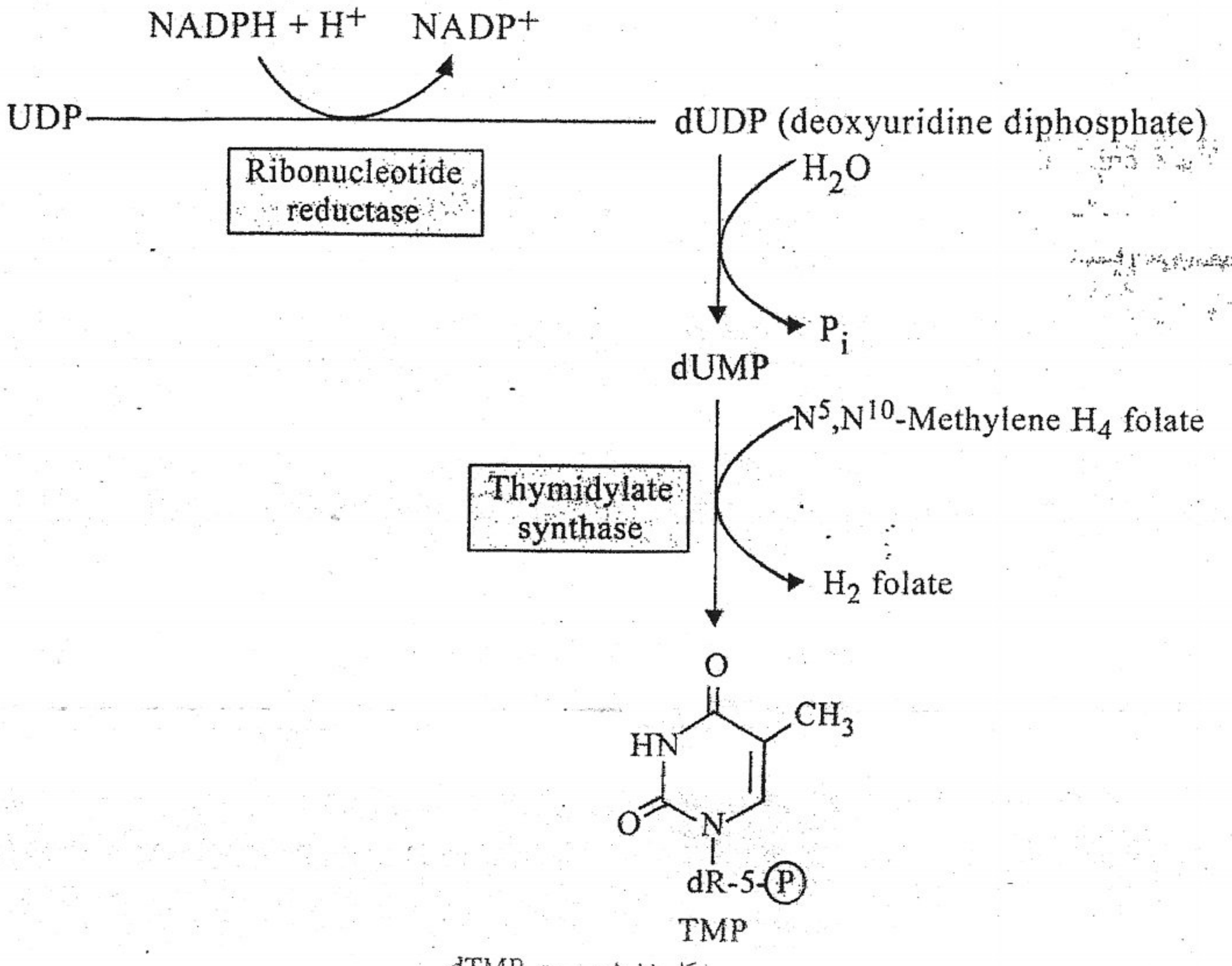
۱. پپتیدی ۱۲ کیلو دالتونی بنام تیورداکسین (Thioredoxin). در ساختمان این پروتئین دو امینو اسید سیستئین در کنار هم وجود دارد که گروه SH- آن‌ها به‌عنوان عامل احیاکننده عمل کرده و درنتیجه اکسیده شدن پیوند دی سولفیدی (S-S) بین آن‌ها ایجاد می‌شود. Thioredoxin اکسیده توسط آنزیم Thioredoxin reductase با استفاده از NADPH مجدداً احیا شده و در واکنش‌های دیگر مورداستفاده قرار می‌گیرند.

۲. آنزیم NDP reductase از پروتئینی دیگر بنام گلوتاردوکسین Glutaredoxin نیز برای احیا کردن قند ریبوز استفاده می‌کند. Glutaredoxin از تری‌پپتید گلوتاتیون (γ-glutamyl-Cysteinyl-Glycine) به‌عنوان عامل احیاکننده استفاده می‌کند. در این واکنش گروه SH- آمینواسید سیستئین دو مولکول گلوتاتیون اکسیده شده و در حالت اکسیده پیوند دی سولفیدی (S-S) بین آن‌ها تشکیل می‌شود. گلوتاتیون اکسید شده نیز بعداً توسط آنزیم Glu-tathione reductase با استفاده از NADPH مجدداً به فرم احیا شده تبدیل می‌شود.

Glutathione reductase

$$\text{Oxidized Glutathione (GS-SG)} + \text{NADPH} + H^+ \rightarrow 2 \text{ Reduced Glutathione (2 GSH)}$$

بیوسنتز dTMP از dUMP با متیلاسیون کربن شماره ۵ حلقه پیریمیدین طبق



شکل ۱۱-۵: بیوسنتز dTMP

واکنش فوق توسط آنزیم thymidylate synthase ساخته می‌شود (شکل ۱۱-۵).

دهنده گروه یک کربنی N^5, N^{10}-methylenetetrahydrofolate است که خود تبدیل به Dihydrofolate می‌شود (شکل ۱۲-۵).

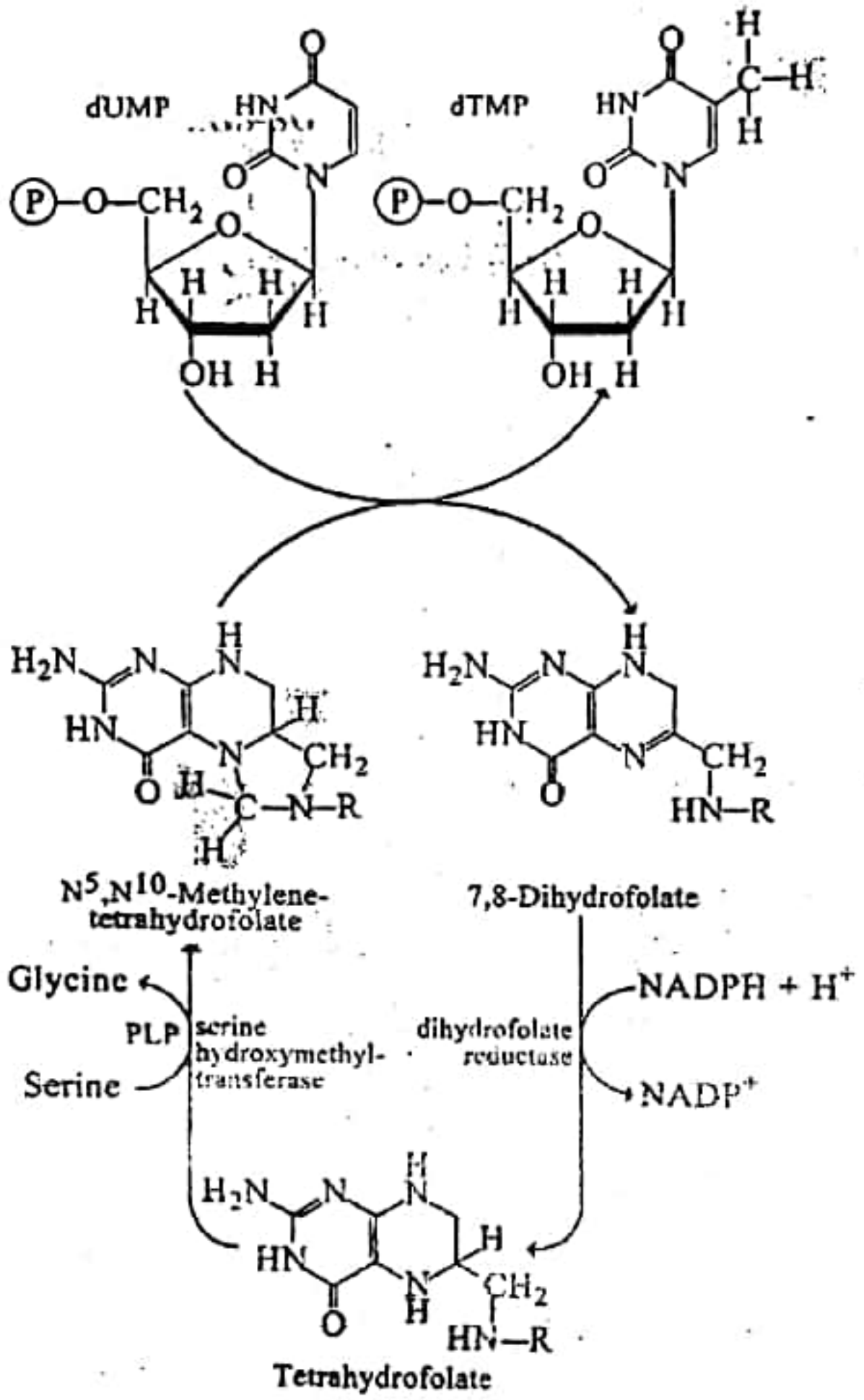
Dihydrofolate توسط آنزیم Dihydrofolate reducrase با استفاده از NADPH احیا و به Tetrahydrofolate تبدیل می‌شود.

۵-۷ داروهای ضد سرطان

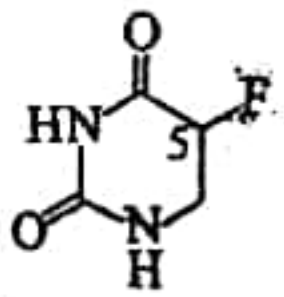
سلول‌های سرطانی که دارای رشد بی‌رویه هستند نیاز به سنتزنوکلئوتیدها دارند تا بتوانند DNA موجود خود را همانندسازی کرده و تقسیم شوند. سلول‌های سرطانی نسبت به سلول‌های طبیعی در مقابل ممانعت کننده‌های بیوسنتز نوکلئوتیدها حساس‌تر می‌باشند. هدف مولکولی بسیاری از داروهای ضد سرطان آنزیم‌های مسیر بیوسنتز نوکلئوتیدها می‌باشند.

۵-flurouracil یکی از این داروها است که آنزیم thymidylate synthase را منع می‌کند.

5-flutouracil توسط آنزیم مسیر salvage به فرم نوکلئوتید فلورو دی اکسی یوردین



شکل ۱۲-۵: سنتز dTMP از dUMP توسط Thymidylate Synthase

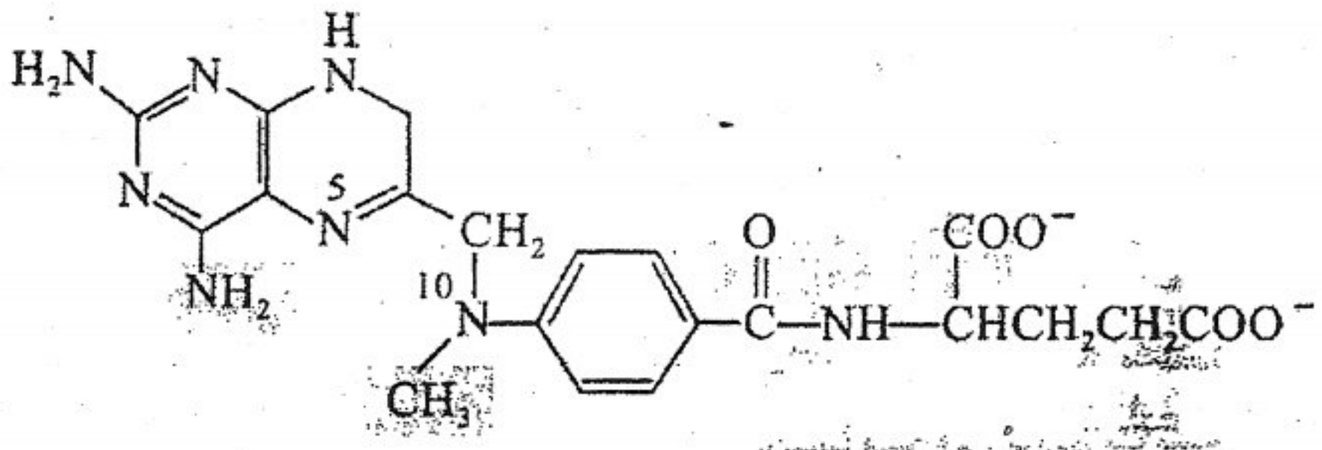


Fluorouracil

مونوفسفات F-dUMP تبدیل می‌شود F-dUMP با پیوند کووالانس به دهانه فعال آنزیم thymidylate sythase متصل شده و آن را منع می‌کند منع آنزیم توسط F-dUMP-۵ غیرقابل برگشت است.

Aminoptherin و methotrexate داروهای ضد سرطان دیگر هستند که باعث منع آنزیم dihydrofolate reductase می‌شوند.

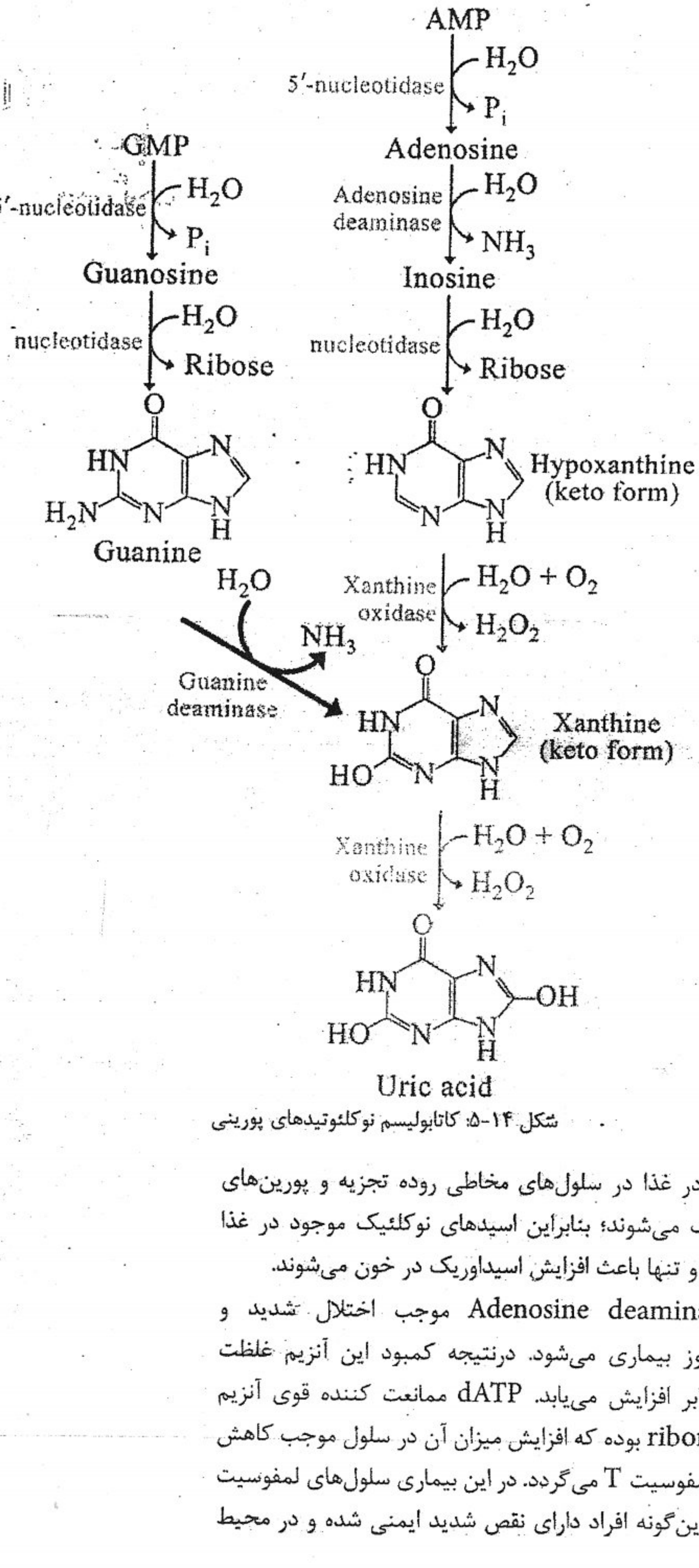
methotrexate آنالوگ فولیک اسید است و منع‌کننده رقابتی آنزیم Dihydrofolate reductase بوده و تمایل آن به آنزیم ۱۰۰ بار بیشتر از dihydrofolate برای اتصال به آنزیم است.



شکل ۱۳-۵: مکانیسم عمل داروهای ضد سرطان -۵فلورویوراسیل و متوترکسات- آمینوپترین و تریمتوپریم

۸-۵ کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی

کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی در کبد و روده انجام می‌شود. کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی با جدا شدن گروه فسفات شروع می‌شود. این واکنش توسط آنزیم ۵'-nucleotidas انجام می‌شود. (شکل ۱۴-۵) درنتیجه این واکنش Adenylate تبدیل به Adenosine می‌شود؛ و سپس توسط Ad-enosine deaminase گروه آمین از آدنین برداشته‌شده و تبدیل به Inosine می‌شود. Inosine توسط آنزیم nucleosidase هیدرولیز شده و باز آلی هیپوزانتین و قند ریبوز به وجود می‌آید. هیپوزانتین در دو مرحله واکنش اکسیداسیون توسط آنزیم Xanthine Oxidase ابتدا کربن شماره ۲ حلقه اکسیده شده و تبدیل به زانتین می‌شود و سپس کربن شماره ۸ حلقه اکسیده می‌شود و تبدیل به اسیداوریک می‌شود. آنزیم Xanthine Oxidase در کبد و سلول‌های مخاط روده وجود دارد.



شکل ۱۴-۵: کاتابولیسم نوکلئوتیدهای پورینی

اسیدهای نوکلئیک موجود در غذا در سلول‌های مخاطی روده تجزیه و پورین‌های موجود تبدیل به اسیداوریک می‌شوند؛ بنابراین اسیدهای نوکلئیک موجود در غذا ارزش غذایی چندانی ندارند و تنها باعث افزایش اسیداوریک در خون می‌شوند.

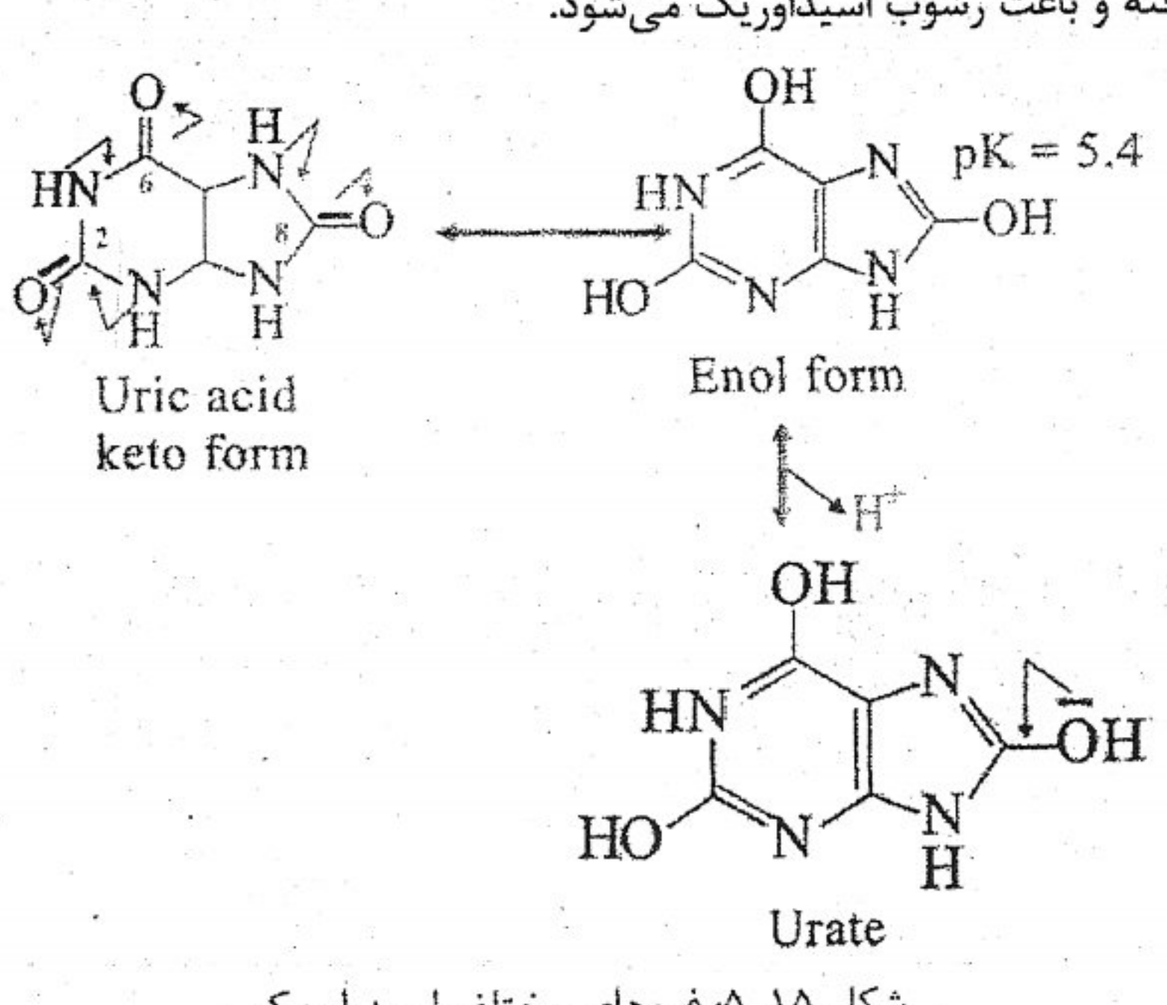
نقص ژنتیکی آنزیم Adenosine deaminase موجب اختلال شدید و ضعف سیستم ایمنی و بروز بیماری می‌شود. درنتیجه کمبود این آنزیم غلظت dATP در سلول ۱۰۰ برابر افزایش می‌یابد. dATP ممانعت کننده قوی آنزیم ribonucleoside reductase بوده که افزایش میزان آن در سلول موجب کاهش میزان سایر dNTPها در لمفوسیت T می‌گردد. در این بیماری سلول‌های لمفوسیت T و B تکامل نمی‌یابند و این‌گونه افراد دارای نقص شدید ایمنی شده و در محیط

غیر استریل زنده نمی‌مانند. انتقال ژن سالم آدنوزین دی آمیناز به مغز استخوان این بیماران اولین مورد ژن‌درمانی موفق بوده که در انسان انجام گرفته است.

کاتابولیسم GMP نیز تولید اسیداوریک می‌کند. GMP ابتدا هیدرولیز شده و باز آلی گوانین آن آزاد می‌شود. گوانین طبق شکل ۱۴-۵ گروه آمینی آن توسط آنزیم Guanine deaminase برداشته می‌شده و تبدیل به زانتین می‌شود. زانتین نیز توسط Xanthine Oxidase تبدیل به اسیداوریک می‌شود.

۱-۸-۵ بیماری نقرس

یک انسان سالم در ۲۴ ساعت ۰/۶ گرم اسیداوریک از طریق ادرار دفع می‌کند. اسیداوریک حلالیت کمی در آب دارد. اسیداوریک به دو فرم کتویی و انولی در حال تعادل باهم وجود دارند (شکل ۱۵-۵). اسیدی بودن این ترکیب به دلیل گروه‌های هیدروکسیل موجود روی کربن‌های ۲ و ۶ و ۸ حلقه در حالت انولی آن می‌باشد که می‌توانند یونیزه شده و تولید پروتون کنند و خود به اورات تبدیل شوند.pK این گروهای یونیزه شونده حدود ۵/۴ است. در pH فیزیولوژیک خون (۷/۴) غلظت اورات صد برابر اسیداوریک است. اورات به دلیل بار منفی حلالیت آن در محیط آب نسبت به اسید اوریک بیشتر است. هر عاملی که pH خون را کاهش دهد باعث می‌شود تعادل به سمت اسیداوریک پیش رفته و باعث رسوب اسیداوریک می‌شود.

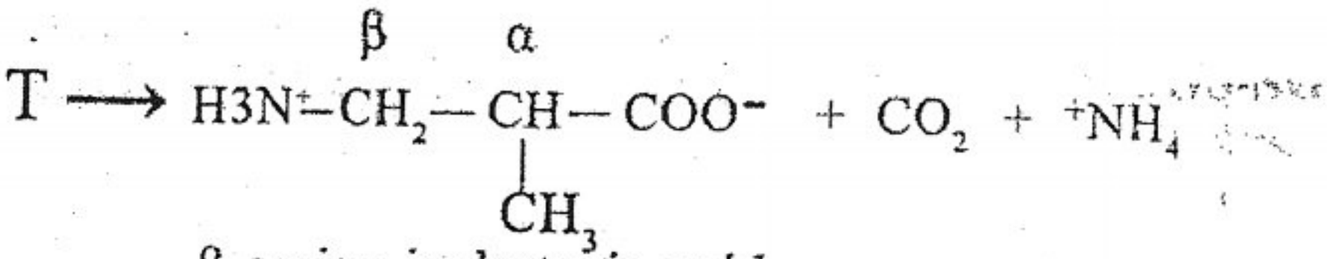


شکل ۱۵-۵: فرم‌های مختلف اسید اوریک

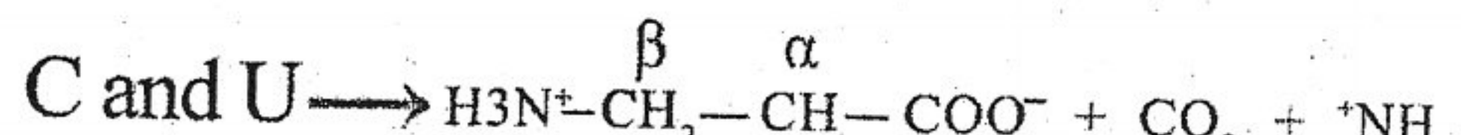
۹-۵ کاتابولیسم پیریمیدین‌ها

تجزیه پیریمیدین‌ها عمدتاً در کبد انجام می‌شود. تجزیه پیریمیدین‌ها منجر به تولید آمونیوم و درنتیجه تشکیل اوره می‌شود. درنتیجه کاتابولیسم تیمین β-aminoisobutyric acid به وجود می‌آید که گروه آمینی توسط واکنش

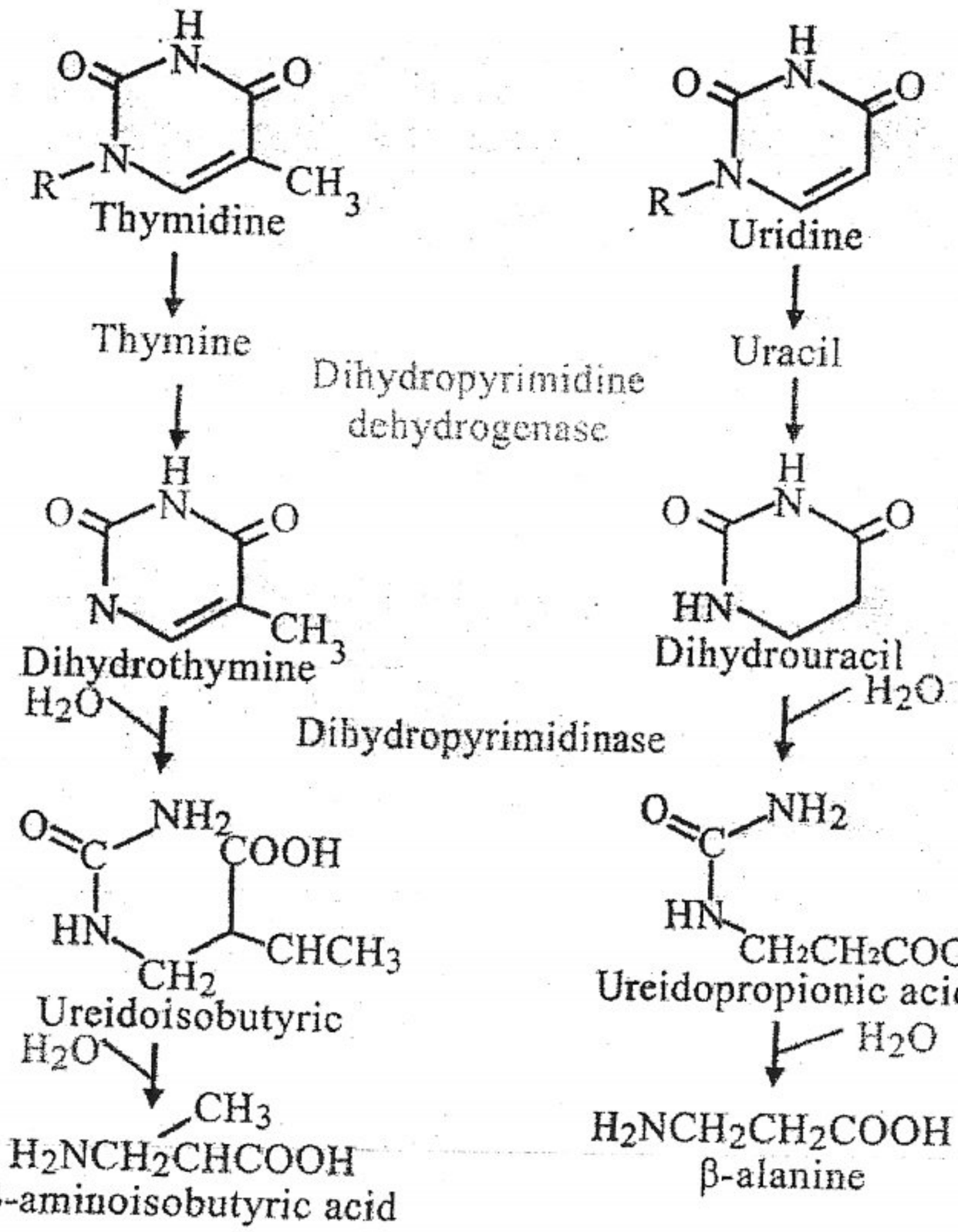
transamination جدا شده و به اوره تبدیل می‌شود.



و با تجزیه سیتوزین و یوراسیل بتا آلانین(β-alanine) به وجود می‌آید.



برخلاف کاتابولیسم پورین‌ها محصولات کاتابولیسم پیریمیدین‌ها در آب بسیار محلول هستند. نقص ژنتیکی آنزیم‌های کاتابولیسم پیریمیدین‌ها منجر به بیماری موسوم به combined uraciluria-thyminuria می‌شود که میزان دفع بازهای یوراسیل و تیمین در ادرار افزایش می‌یابد با عوارض مخرب عصبی همراه است.



شکل ۱۶-۵: مسیر واکنش‌های کاتابولیسم پیریمیدین‌ها

۱۰-۵ بیماری نقرس(Gout)

بیماری نقرس به دلیل افزایش اسیداوریک در خون ایجاد می‌شود. افزایش اسیداوریک در خون یا به دلیل کاهش دفع آن به علت نارسایی کلیه و یا افزایش تولید اسیداوریک در بدن به وجود می‌آید. با افزایش غلظت اسیداوریک در خون که حلالیت کمی در آب دارد به صورت کریستال‌های اورات سدیم در کلیه و مفاصل رسوب می‌کند و سنگ کلیه تشکیل می‌شود و همچنین التهاب مفاصل در این بیماری به وجود می‌آید.

۱. از لحاظ منشأ این بیماری را به دو دسته می‌توان تقسیم نمود:

۲. نقرس اولیه (primary gout) که نوع وراثتی بیماری است و ٪۷۵-٪۸۰ موارد این بیماری را تشکیل می‌دهد. این نوع از بیماری نقرس به دلیل موتاسیون دریکی از ژن‌های متعدد می‌تواند به وجود آید. وقتی این دسته از بیماران به پزشک مراجعه می‌کنند چون علت بیماری برای پزشک مشخص نمی‌باشد و برای مشخص شدن ژن درگیر با بیماری باید تست‌های ژنتیکی انجام شود این نوع از بیماری نقرس Idiopathic (عامل نامعلوم) گفته می‌شود.

نقرس ثانویه(secondary gout) که عارضه ثانویه بیماری‌های دیگر مثل سرطان‌های خون مانند لوکمیا leukemia است. در بیماری سرطان که رشد سلول‌ها زیاد است مرگ‌ومیر سلول‌ها نیز افزایش می‌یابد و یا درنتیجه شیمی‌درمانی که باعث افزایش مرگ و میر سلول‌ها می‌شود تجزیه اسیدهای نوکلئیک و پورین‌ها افزایش می‌یابد که این باعث افزایش تولید اسیداوریک می‌شود که نتیجه آن بیماری نقرس است که به‌صورت عارضه ثانویه سرطان خود را نشان می‌دهد. حال به چند مورد از نقص‌های متابولیکی که می‌تواند منجر به عارضه نقرس شود اشاره می‌کنیم.

۱-۱۰-۵ کمبود آنزیم Glucose-۶-phosphatase

کمبود این آنزیم منجر به بیماری ذخیره گلیکوژن (Glycogen storage disease) یا Von Gierke's disease می‌شود. به دلیل کمبود آنزیم فوق گلیکوژن در کبد تجزیه نمی‌شود و در کبد ذخیره شده و درنتیجه اندازه کبد بزرگ می‌شود چون گلیکوژن موجود در کبد نمی‌تواند قند خون را تأمین کند میزان قند خون کاهش یافته و فرد دچار هیپوگلیسمی می‌شود. گلوکز-۶- فسفات حاصل از تجزیه گلیکوژن در خود سلول‌های کبدی مصرف شده و به دلیل افزایش گلیکولیز تولید اسیدلاکتیک در کبد زیاد می‌شود؛ و همچنین تولید اجسام کتونی نیز در کبد افزایش می یابد. به دلیل زیادشدن اسیدلاکتیک و اجسام کتونی pH خون کاهش یافته و اسیدی می‌شود. اسیدی شدن خون موجب کاهش حلالیت اسیداوریک و کاهش دفع آن از طریق کلیه می‌شود. اسیداوریک در کلیه و مفاصل رسوب کرده و بیماری نقرس به

وجود می‌آید.

۲-۱۰-۵ افزایش فعالیت آنزیم Glutathione reductase

گلوتاتیون یک تری‌پپتید (گاماگلوتامیل – سیستئینیل – گلی سین) است. این تری‌پپتید به دلیل داشتن آمینواسید سیستئین و گروه sulfhydryl (-SH) به‌عنوان ماده احیاکننده در واکنش‌های متعدد در سلول استفاده می‌شود.

γ-Glu - Cys - Gly
|
SH

دو مولکول گلوتاتیون (GSH) با احیا کردن سوبسترا، خود اکسیده و با پیوند دی سولفیدی به هم متصل می‌شوند. (GS-SG)

آنزیم Glutathione reductase طبق واکنش زیر با استفاده از NADPH گلوتاتیون اکسیده (GS-SG) را احیا و به دو مولکول (GSH) می‌شکند.

G-S-S-G + NADPH, H+ ⟶ 2 GSH + NADP+
Oxidized Reduced

در صورت زیاد بودن فعالیت آنزیم Glutathione reductase کوآنزیم‌های NADPH موجود در سلول مصرف شده و تمام آن‌ها برای احیا کردن گلوتاتیون‌های اکسیده مورداستفاده قرار می‌گیرند. درنتیجه مقدار $NADP^+$ در سلول زیاد می‌شود. راه اصلی برای تبدیل فرم اکسیده NADP به فرم احیای NADPH در سلول ؛ فعال شدن مسیر Pentose Phosphate Pathway (PPP) است. همان‌طور که می‌دانید محصول عمل PPP علاوه بر NADPH قند ریبوز-۵-فسفات است. قند ریبوز-۵-فسفات ماده اولیه برای سنتز PRPP است بنابراین وقتی ریبوز-۵-فسفات در سلول زیاد شود مسیر سنتز Denovo نوکلئوتیدهای پورینی در سلول فعال می‌شود و مقدار زیادی از پورین‌ها به‌طور مداوم از طریق این مسیر تولید می‌شوند.

X. Oxidase
Xanthine ⟶ Uric acid
O2 H2O2
Glutathione peroxidase
2GSH
GSSG
NADP+
Glutathione reductase
2 H2O
NADPH, H+

شکل ۱۷-۵: تولید آب‌اکسیژنه در مسیر کاتابولیسم پورین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم Glutathione reductase

افزایش تولید پورین‌ها همراه با افزایش کاتابولیسم و تولید اسیداوریک است که منجر به بروز بیماری نقرس می‌شود.
این بیماری به طریق فیدبک مثبت خودش را تشدید می‌کند؛ زیرا افزایش کاتابولیسم پورین‌ها و افزایش فعالیت آنزیم Xanthine Oxidase همراه با تولید هیدروژن پراکسید H_2O_2 است که برای تجزیه شدن این ماده سمی توسط آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز در سلول طبق واکنش بالا، گلوتاتیون احیا مصرف و به فرم اکسیده تبدیل می‌شود؛ بنابراین افزایش تولید پورین‌ها موجب افزایش کاتابولیسم و افزایش تولید اسیداوریک و زیاد شدن مقدار هیدروژن پر اکسید می‌شود که برای تجزیه H_2O_2 مجدداً گلوتاتیون و NADPH مصرف می‌شود؛ که این خود مسیر PPP را فعال می‌نماید و یک سیکل تکراری افزایش تولید اسیداوریک به وجود می‌آید.

۵-۱۰-۳ افزایش فعالیت آنزیم‌های PRPP synthetase و PRPP Amidotransferase

این دو آنزیم که واکنش اول و دوم مسیر De novo سنتز نوکلئوتیدهای پورینی را کاتالیز می‌کنند آلوستریک می‌باشند. گاهی موتاسیون در قسمت کد کننده ناحیه آلواستریک ژن این دو آنزیم اتفاق می‌افتد. درنتیجه این آنزیم‌ها دیگر با محصولات عمل این مسیر از واکنش‌ها یعنی نوکلئوتیدهای پورینی IMP, GMP, AMP کنترل نمی‌شوند و همیشه فعال بوده حتی اگر مقدار این نوکلئوتیدها در سلول زیاد باشد. با افزایش تولید پورین‌ها از این طریق افزایش تجزیه و کاتابولیسم و درنتیجه تولید اسیداوریک زیاد می‌شود و بیماری نقرس به وجود می‌آید.

۵-۱۰-۴ کاهش جزئی فعالیت آنزیم HGPRT

کاهش فعالیت این آنزیم موجب می‌شود سنتز Salvage نوکلئوتیدهای IMP و GMP کم شده و PRPP در مسیر بازیافت مصرف نمی‌شود و مقدار آن در سلول افزایش یافته و در مسیر de novo سنتز پورین‌ها مصرف شود بنابراین تولید de novo نوکلئوتیدهای پورینی زیاد شده و کاتابولیسم و تولید اسیداوریک افزایش یابد.

۵-۱۰-۵ بیماری ژنتیکی Lesch-Nyhan

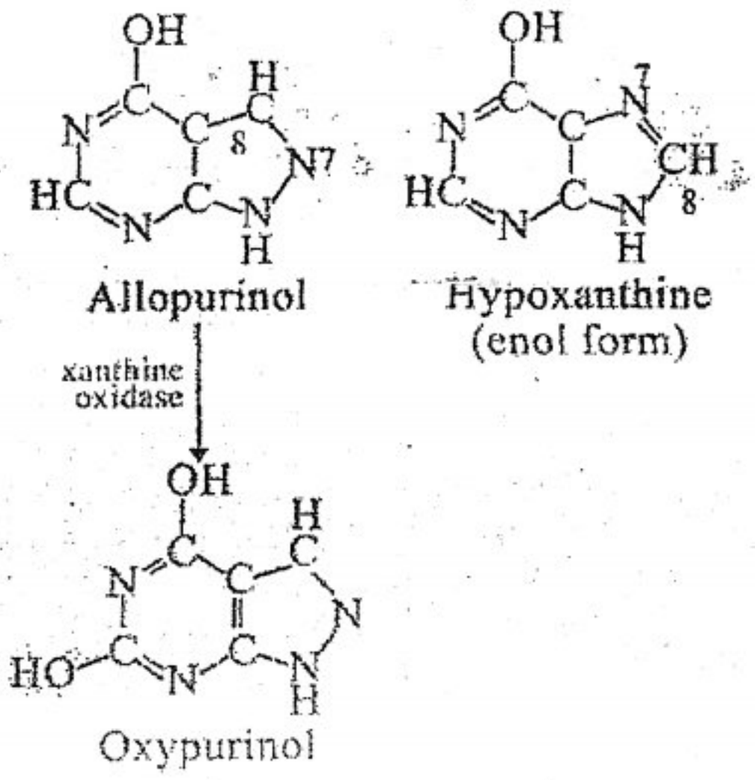
در این بیماری نقص در ژن HGPRT به‌گونه‌ای است که این آنزیم کلاً غیرفعال است. ژن HGPRT روی کروموزوم X قرار دارد بنابراین این بیماری وابسته به جنس بوده و در پسرها بیشتر دیده می‌شود. آثار و عوارض بیماری در همان اوایل کودکی (۳-۲ سالگی) خود را نشان می‌دهد که همراه است با تغییرات رفتاری و عصبی و عقب‌ماندگی ذهنی. به دلیل غیرفعال بودن آنزیم، گوانین و هیپوزانتین اضافی تجزیه و به اسیداوریک تبدیل می‌شوند. به دلیل عدم مصرف PRPP در مسیر salvage و عدم کنترل مسیر Denovo با IMP و GMP که به‌طور طبیعی به طریق salvage تولید می‌شوند مسیر تولید از نوی De novo نوکلئوتیدهای پورینی بسیار فعال

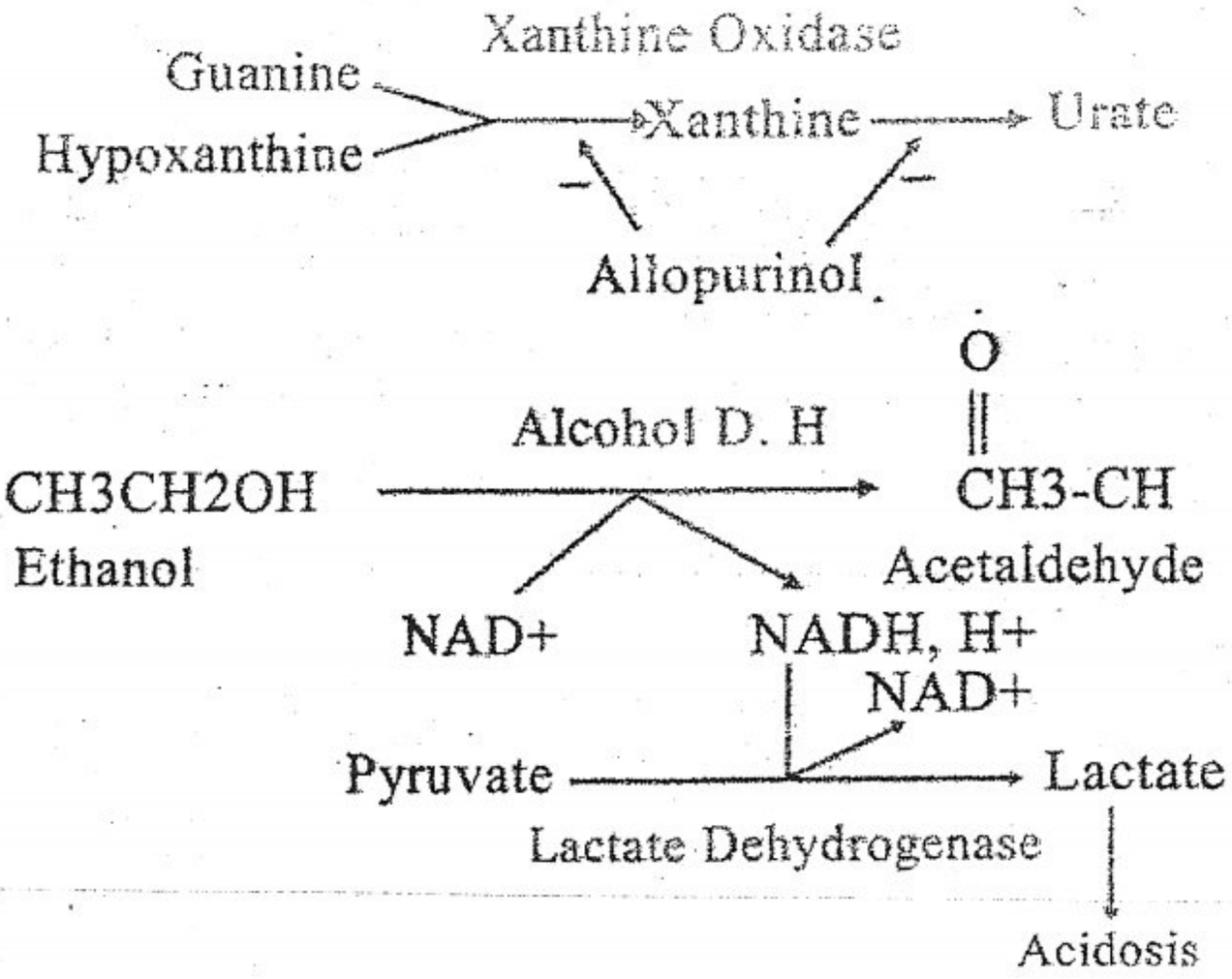
گشته بنابراین تولید و کاتابولیسم پورین‌ها کلاً زیاد بوده و مقدار اسیداوریک در خون بسیار افزایش می‌یابد؛ بنابراین از جمله عوارض این نقص ژنتیکی بروز نقرس می‌باشد.

۶-۱۰-۵ تغذیه و درمان بیماران نقرسی

در بیماران نقرسی از چاقی که باعث افزایش اشتها و پرخوری می‌شود باید جلوگیری شود. در غذای بیماران نقرسی پروتئین باید کافی ولی زیاد نباشد. اسیدهای آمینه موجود در پروتئین ماده اولیه برای سنتزازنوی پورین‌ها می‌باشد. غذاهای سلولی بخصوص گوشت قرمز و جگر که حاوی اسیدهای نوکلئیک زیاد می‌باشند باعث افزایش اسیداوریک خون شده بیماری را تشدید می‌کنند. چون تشکیل و رسوب کریستال‌های اورات وابسته به غلظت آن‌ها در خون است از تعریق و کاهش آب بدن در این‌گونه بیماران باید جلوگیری کرد. بیماران نقرسی باید مایعات زیاد مصرف کنند. مصرف الکل باعث تشدید بیماری می‌شود. الکل باعث افزایش حجم ادرار می‌شود که این خود موجب کاهش آب بدن می‌شود. کاتابولیسم الکل نیزموجب تولید اسیدلاکتیک طبق واکنش زیر می‌شود (شکل ۱۸-۵).

افزایش اسیدلاکتیک در خون باعث کاهش pH خون (Acidosis) (اسیدوز) می‌شود و درنتیجه تعادل اورات- اسیداوریک به سمت اسیداوریک که حلالیت آن کمتر است کشیده می‌شود؛ و درنتیجه دفع اسیداوریک کاهش یافته و عوارض بیماری تشدید می‌شود. داروی آلوپورینل برای درمان بیماران نقرسی استفاده می‌شود. آلوپورینل آنالوگ باز آلی هیپوزانتین می‌باشد و جای اتم N و C در موقعیت‌های ۷ و ۸ حلقه باهم عوض شده است. آلوپورینل باعث منع آنزیم زانتین اکسیداز (Oxidase Xanthine) می‌شود. ابتدا آلوپورینل به‌عنوان سوبسترا توسط آنزیم زانتین اکسیداز اکسیده و تبدیل به Oxypurinol (alloxanthine) می‌شود و اکسی پورینل از دهانه فعال آنزیم جدا نمی‌شود. وقتی آنزیم Xanthine oxidase





شکل ۱۸-۵: تجزیه الکل در کبد و افزایش تولید اسیدلاکتیک

منع شود تبدیل هیپوزانتین و زانتین به اسیداوریک انجام نمی‌شود و غلظت هیپوزانتین و زانتین که حلالیت آن‌ها بیشتر از اسیداوریک است در خون زیاد می‌شود.

آلوپورینل از طرق دیگر نیز موجب کاهش تولید اسید اسیداوریک می‌شود. آلوپورینل توسط آنزیم HGPRT به فرم نوکلئوتید تبدیل می‌شود.

$$\text{Allopurinol} + \text{PRPP} \xrightarrow{\text{HGPRT}} \text{Allopurinol-Ribose-5-P}$$

در نتیجه PRPP در این واکنش مصرف شده و به راه تولید پورین‌ها به طریق Denovo برده نمی‌شود. همچنین Allopurinol-Ribose-5-P مانند IMP منع‌کننده آنزیم‌های مسیر Denovo سنتز پورین‌ها می‌باشد.

$$\text{PRPP} \xrightarrow{\text{PRPP Amidotransferase}} \text{PRA}$$

$$\uparrow -$$

$$\text{Allopurinol Ribose 5-P}$$

با منع آنزیم Xanthine Oxidase هیپو زانتین توسط HGPRT بازیافت شده و تبدیل به IMP می‌شود که این خود باعث کاهش میزان PRPP برای مصرف در مسیر de novo می‌شود و از طرف دیگر IMP تولید شده موجب منع مسیر de novo سنتز نوکلئوتیدهای پورینی می‌شود.

۱۱-۵ نمونه سؤالات فصل پنجم

۱- XMP حد واسط برای بیوسنتز کدام نوکلئوتید است؟

الف- IMP ب- AMP

ج- GMP د- همه موارد فوق

۲- نوکلئو تید باز آلی سیتوزین از ..... ساخته میشود.

الف- TMP ب- TDP

ج- UMP د- UTP

ه- هیچکدام

۳- ۵-FU که در شیمی درمانی بیماران سرطانی استفاده می شود منع کننده آنزیم ..... است.

الف- OMP decarbioxylase

ب- Thymidylate synthase

ج- Dihydrofolate Reductase

د- Thioredoxin reductase

ه- Cythidylate synthetase

۴- اینوزین نوکلئوزید ..... است.

الف- باز آلی هیپوزانتین

ب- حد واسط برای سنتز نوکلئوتید باز آلی آدنین

ج- موجود در هر دو مسیر Denovo و salvage بیوسنتز نوکلئوتیدهای پورینی

د- حد واسط برای سنتز نوکلئوتید باز آلی گوانین

ه- تمام موارد فوق

۵- محصول آنزیم xanthine oxidase کدام است؟

الف- زانتین ب- هیپو زانتین

ج- اینوزین د- زانتوسین

ه- کاربامیل فسفا

پاسخها:

۱- ج

۲- د

۳- ب

۴- ه

۵- الف

۶

فصل ششم:

همانندسازی DNA
(DNA Replication)

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

هدف کلی درس: آشنایی با مکانیسم انجام همانندسازی در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی

اهداف اختصاصی:

با مطالعه این فصل دانشجو بایستی مطالب زیر را بیاموزد

- ویژگی‌های کلی همانندسازی DNA شامل شروع پلیمریزاسیون از محل مبدأ و نیمه حفاظتی بودن و دوطرفه بودن آن
- نقش و فعالیت انواع آنزیم‌های DNA پلیمراز – هلیکاز –پریماز- لیگاز و توپوایزومراز
- نحوه سنتز رشته پیش‌رو (leading) و پس‌رو (lagging) در چنگال (fork) همانندسازی
- نحوه برداشته شدن پرایمر RNA از ابتدای قطعات اکازاکی
- شباهت‌ها و تفاوت‌های همانندسازی کروموزوم در باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتی
- سنتز انتهای کروموزوم یو کاریوتی (تلومر) توسط آنزیم تلومراز
- نقش تلومراز در جلوگیری از کوتاه شدن انتهای کروموزوم یوکاریوتی

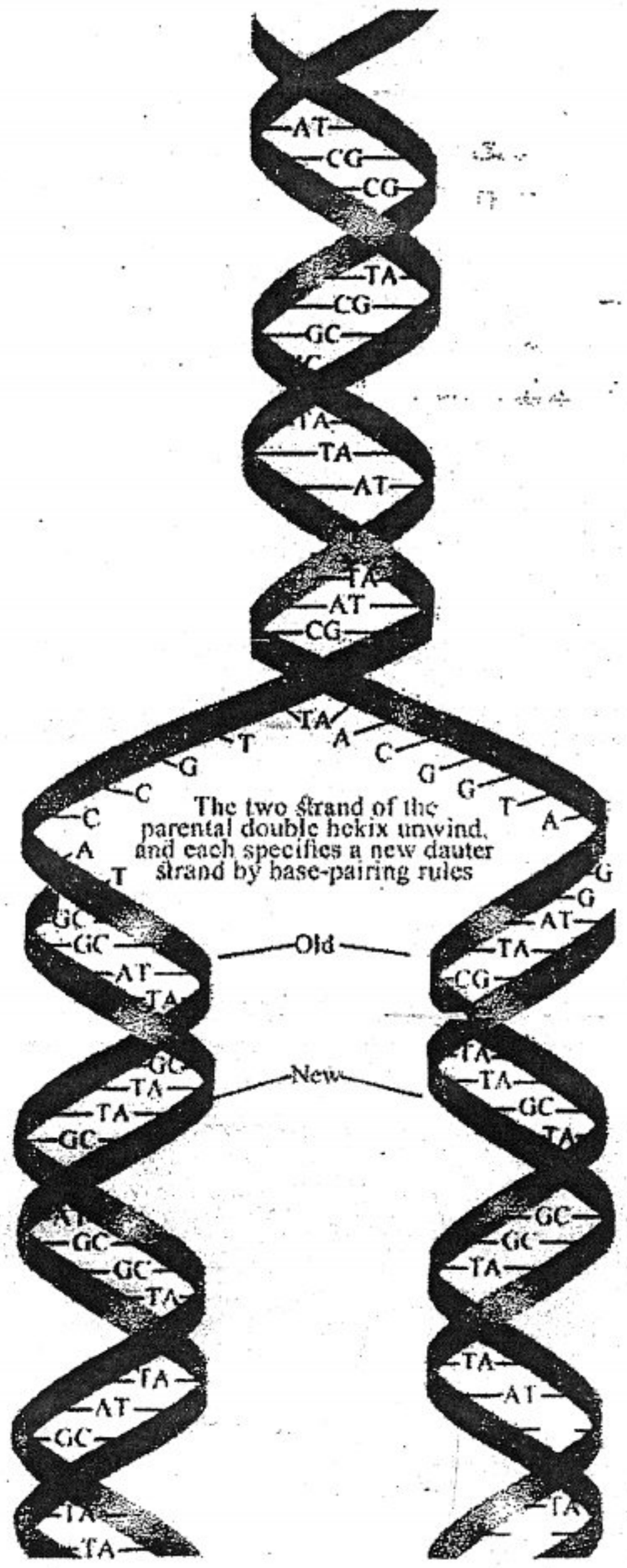
۱-۶ مقدمه

به کلیه واکنش‌هایی که منجر به پلیمریزاسیون دی‌اکسی ریبونوکلئوتیدها و ساخته‌شدن زنجیره جدید DNA همانندسازی DNA گفته می‌شود.

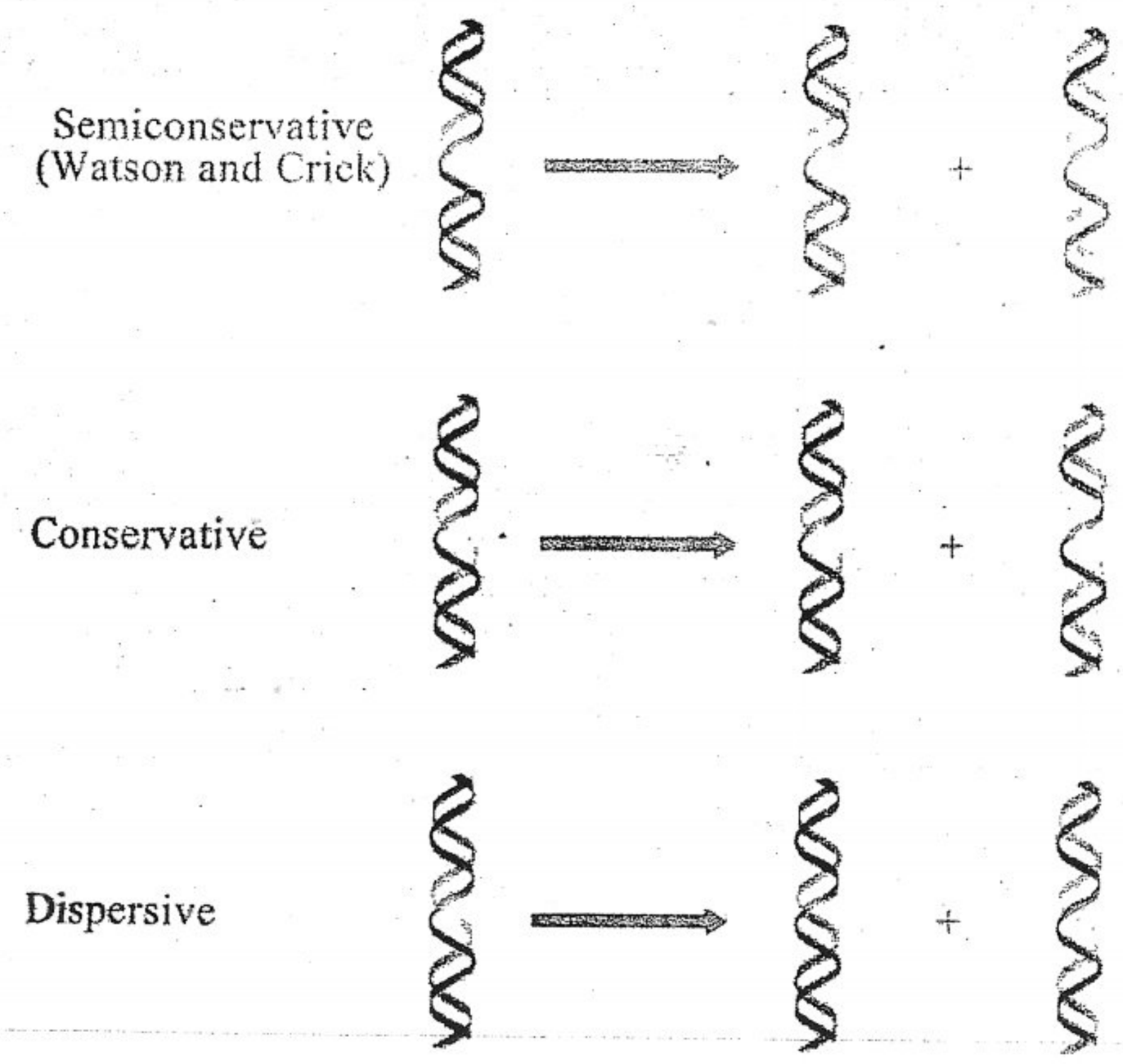
واتسون و کریک در سال ۱۹۵۳ ساختمان دو رشته‌ای و مارپیچ DNA Duplex را ارائه کردند. در همان زمان آن‌ها فرضیه نیمه حفاظتی Semi-Conservative برای همانندسازی مولکول DNA را نیز پیشنهاد نمودند. طبق این فرضیه هر رشته DNA به‌عنوان الگو برای ساخته‌شدن رشته‌ای جدید استفاده می‌شود که نهایتاً دو مولکول DNA جدید به وجود می‌آیند که هر مولکول دارای یک رشته قدیمی و یک رشته جدید مکمل آن خواهد بود (شکل ۱-۶).

در همان زمان دو فرضیه دیگر تحت عنوان فرضیه حفاظتی Conservative و فرضیه ترکیبی Dispersive نیز برای همانندسازی DNA مطرح بودند. طبق فرضیه حفاظتی Conservative در طی همانندسازی وقتی یک مولکول DNA به دو مولکول تبدیل می‌شود یکی از مولکول‌های DNA هر دو رشته آن قدیمی و مولکول دیگر هر دو رشته آن جدید می‌باشند. طبق فرضیه ترکیبی Dispersive هر رشته DNA موجود در هر مولکول، ترکیبی از به هم پیوستن قطعات کوتاه رشته قدیمی و جدید DNA هستند (شکل ۲-۶).

بعداً در سال ۱۹۵۷ میلادی در طی آزمایش‌هایی که توسط مزلسون و استال با



شکل ۱-۶: همانندسازی به طریق نیمه حفاظتی



شکل ۲-۶: سه نوع فرضیه برای تشریح مکانیسم همانندسازی DNA

استفاده از نیتروژن نشان‌دار ^{15}N روی کشت باکتری انجام شد درست بودن فرضیه نیمه حفاظتی واتسون و کریک اثبات شد.

تحقیقات اولیه روی همانندسازی DNA و آنزیم‌ها مربوطه در باکتری انجام شد. بعداً نشان داده شد که خصوصیات اصلی مکانیسم همانندسازی در سایر موجودات یوکاریوتی نیز با آنچه در باکتری‌ها انجام می‌گیرد شباهت دارد.

۲-۶ مبدأ همانندسازی Replication origin:

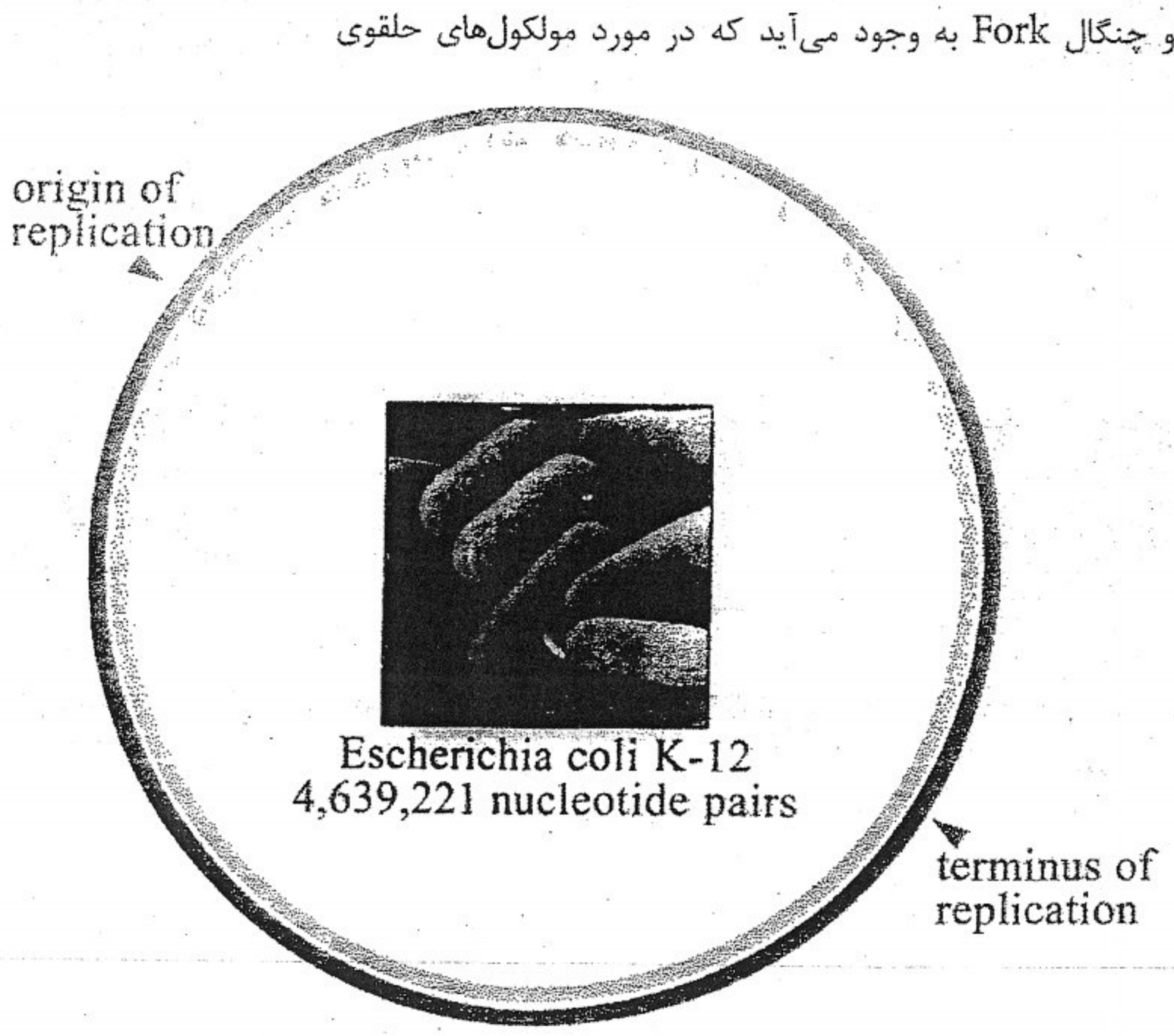
دو سؤال مهم در مورد نحوه همانندسازی DNA مطرح است:

۱. آیا همانندسازی در نقطه خاصی از DNA شروع می‌شود و یا به‌صورت تصادفی از هرجایی از کروموزوم می‌تواند انجام شود؟

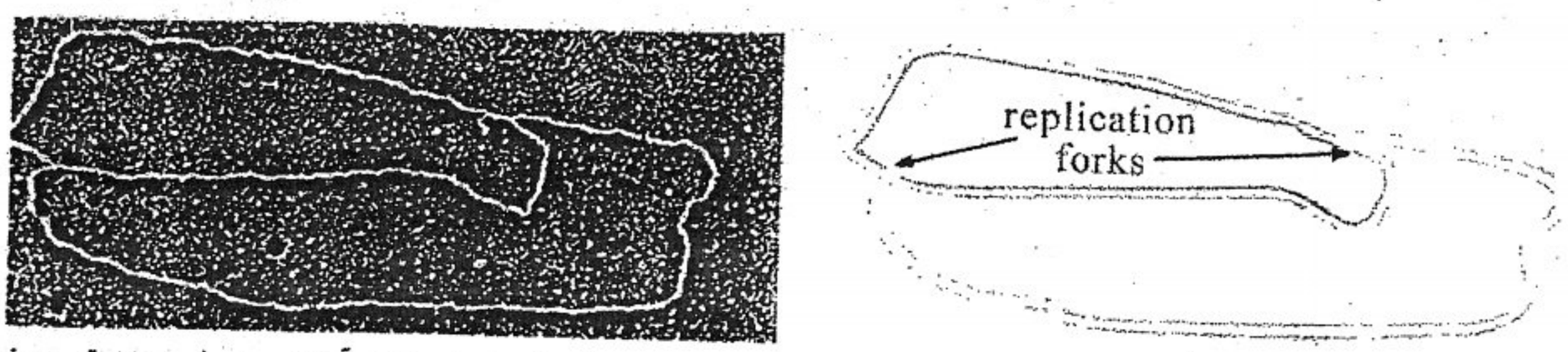
۲. آیا همانندسازی DNA به‌صورت یک‌طرفه یا دوطرفه انجام می‌شود؟

در پاسخ به سؤال اول آزمایش‌ها نشان دادند که همانندسازی همیشه در نقطه خاصی از مولکول DNA که به آن مبدأ همانندسازی Replication origin گفته می‌شود شروع می‌شود (شکل ۳-۶).

محلی که روی کروموزوم دو رشته مکمل DNA از هم جدا می‌شوند و نوکلئوتیدها به هر یک از زنجیره‌های جدید DNA اضافه می‌شود چنگال همانندسازی Replication Fork گفته می‌شود. با باز شدن دو رشته مکمل DNA در نقطه مبدأ origin دو چنگال Fork به وجود می‌آید که در مورد مولکول‌های حلقوی



شکل ۳-۶: کروموزوم باکتری E. Coli و نقطه مبدأ و خاتمه همانندسازی

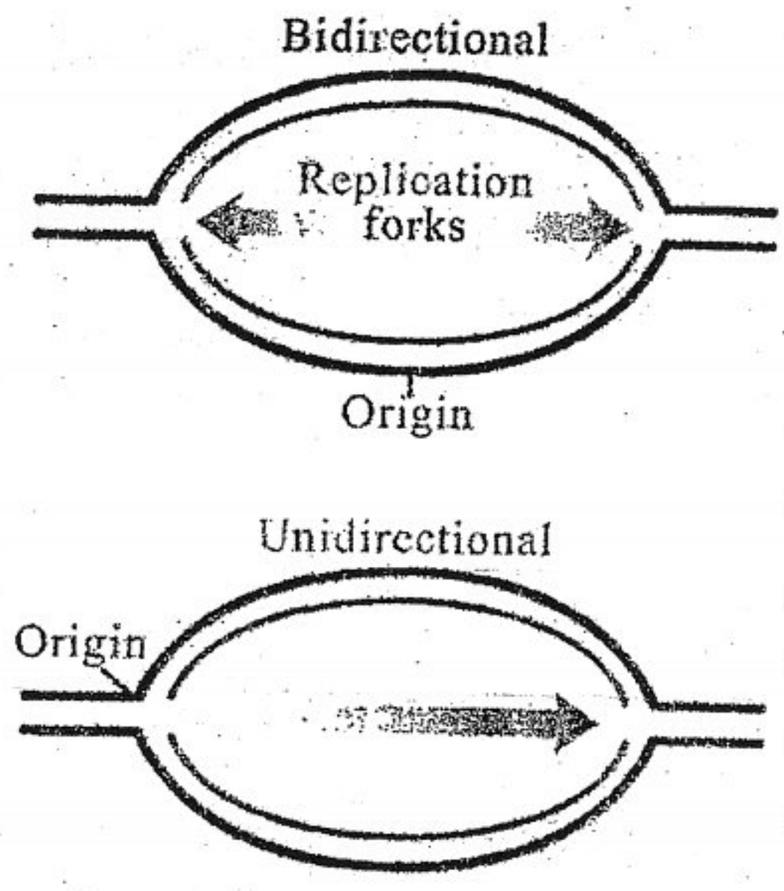


شکل ۴-۶: عکس میکروسکوپ کروموزوم باکتری در حین همانندسازی (عکس سمت چپ) و تصویر شماتیک آن (سمت راست) موقعیت فورک‌ها را نشان می‌دهد.

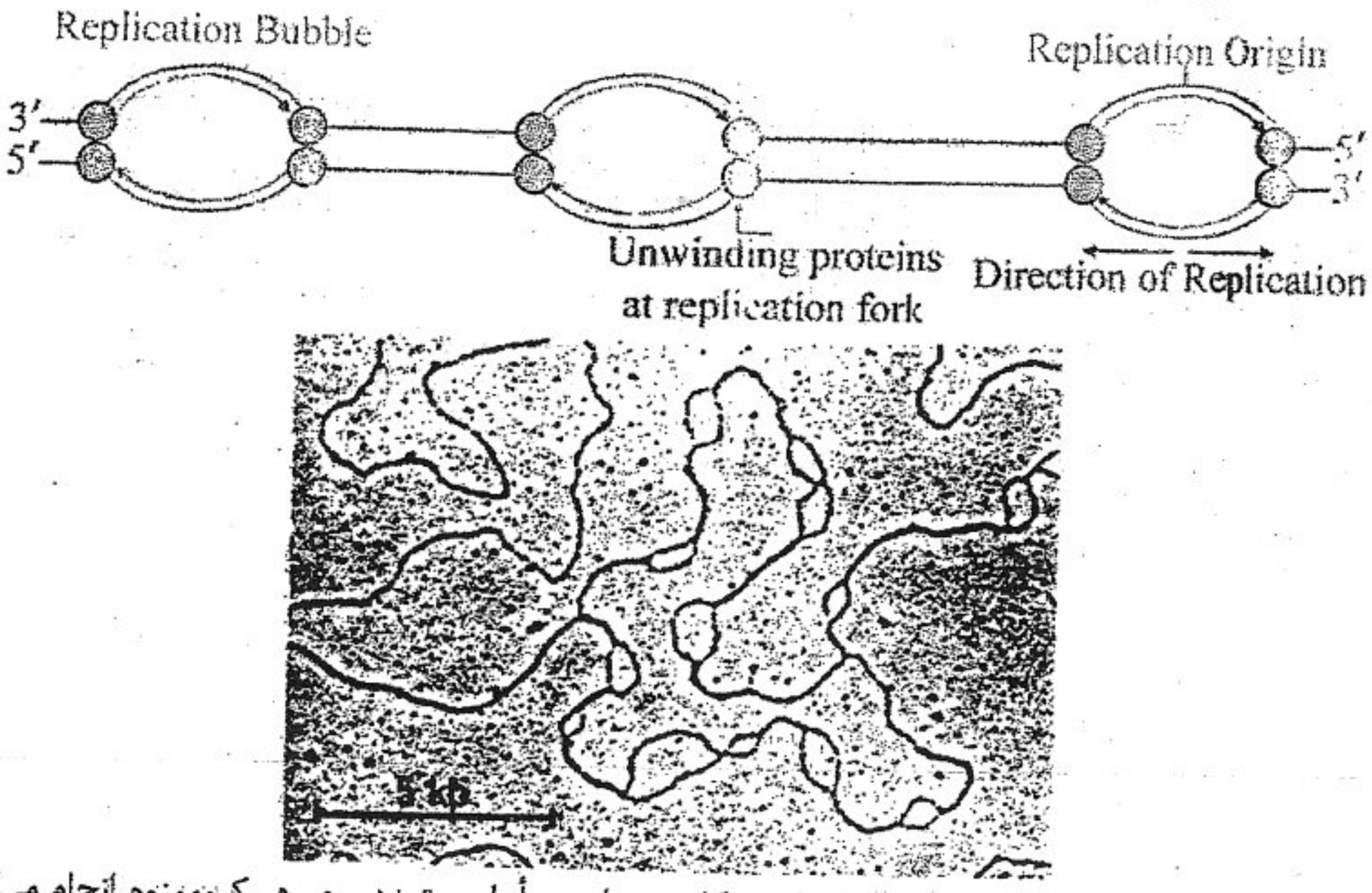
DNA باکتری‌ها در خاتمه همانند سازی دو چنگال همانندسازی در نقطه‌ای مقابل نقطه مبدأ که به آن نقطه خاتمه Terminus گفته می‌شود به هم می‌رسند.

در پاسخ به سؤال دوم در مورد یک‌طرفه یا دوطرفه بودن همانندسازی باید گفت که در همه موجودات اعم از پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها و اغلب ویروس‌ها رشد زنجیره DNA از نقطه مبدأ به‌صورت دوطرفه Bidirectional انجام می‌شود همانندسازی یک‌طرفه Unidirectional تنها در بعضی از ویروس‌ها انجام می‌شود (شکل ۵-۶).

کروموزوم حلقوی باکتری E.Coli از ۴۶۳۹۲۲۱ جفت نوکلئوتید تشکیل شده است و همانندسازی کروموزوم در ۲۰ دقیقه که زمان رشد و تقسیم یک باکتری است کامل می‌شود. در موجودات یوکاریوتی کروموزوم ساختمان پیچیده‌تری دارد و به‌صورت کمپلکس با پروتئین (کروماتین) وجود دارد و تعداد کروموزوم نیز بیشتر از یک عدد است و اندازه ژنوم (کل ماده ژنتیکی در هر سلول) نیز بیشتر از باکتری‌ها است. برای مثال اندازه ژنوم انسان سه میلیارد جفت نوکلئوتید است و هر کروموزوم به‌طور متوسط از ۱۳۰ میلیون جفت نوکلئوتید تشکیل شده است کروموزوم‌های طویل خطی یوکاریوتی دارای مبدأهای متعدد هستند (شکل ۶-۶). در هنگام همانندسازی در هر مبدأ دو چنگال همانندسازی به وجود می‌آید. دو چنگال از مبدأهای مجاور در طی همانندسازی نهایتاً به هم می‌رسند. هر ناحیه DNA که همانندسازی آن توسط یک مبدأ انجام می‌شود به آن یک رپلیکان Replicon یا یک واحد همانندسازی Replication unit گفته می‌شود.



شکل ۵-۶: نحوه همانندسازی دوطرفه (بالا) و یک‌طرفه(پایین)



شکل ۶-۶: همانندسازی کروموزوم در سلول‌های یوکاریوتی از مبدأهای متعدد روی هر کروموزوم انجام می‌گیرد

۳-۶ فرایند همانندسازی DNA را به سه مرحله می‌توان تقسیم کرد:

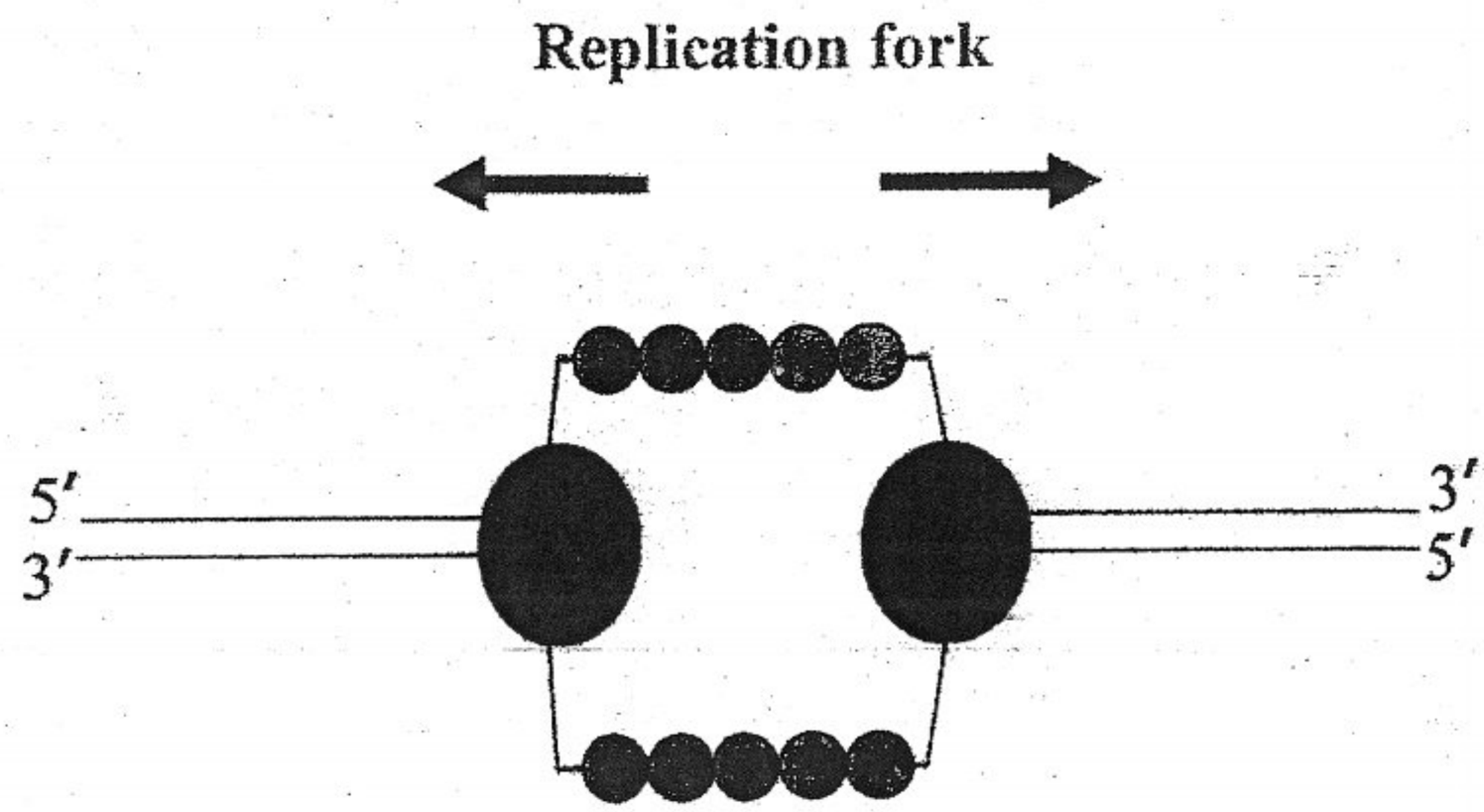
مرحله شروع Initiation، مرحله طویل شدن و رشد زنجیره Elongation و مرحله خاتمه Termoination

در باکتری E.Coli، به مبدأ همانندسازی Ori C گفته می‌شود که دارای ۲۴۵ جفت باز است. مبدأ همانندسازی توسط یک پروتئین دارای چند زیر واحد-multisub unit به نام کمپلکس شناسایی مبدأ Origin recognition complex (ORC) شناسایی می‌شود.

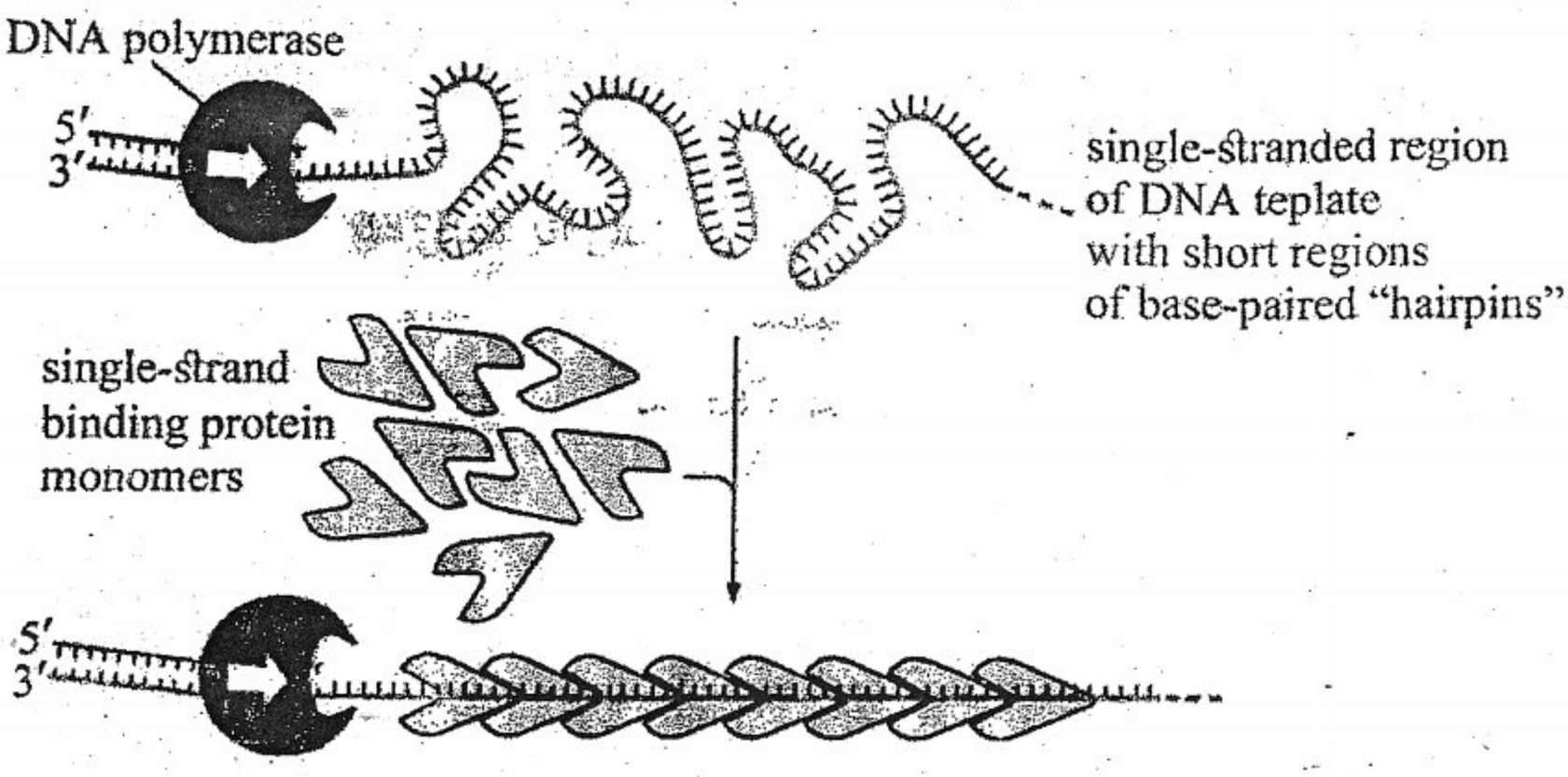
ORC با مصرف ATP به مبدأ همانندسازی متصل می‌شود. پروتئین‌هایی که به مبدأ همانندسازی متصل می‌شوند باعث باز شدن دو رشته DNA در آن محل می‌شوند تا همانندسازی بتواند در محل مبدأ شروع شود.

بعد از جدا شدن دو رشته مکمل DNA از هم پروتئین‌هایی به نام «پروتئین متصل شونده به تک رشته» Single Strand Binding (SSB) protein به سرتاسر تک زنجیره‌های DNA متصل می‌شود و از به هم پیوستن مجدد دو رشته مکمل به هم و تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین بازها در درون یک زنجیره (تاخوردگی تک زنجیره‌ها) جلوگیری می‌کنند (شکل‌های ۶-۷b و ۶-۷a).

مبدأ همانند سازی بر روی کروموزوم باکتری دارای ویژگی‌های خاصی است از جمله غنی از جفت باز AT (AT rich) می‌باشد که به دلیل سست بودن اتصال A و T باز شدن دو رشته مکمل در مبدأ راحت انجام می‌شود. دیگر این‌که ناحیه مبدأ دارای توالی‌های تکراری است که توسط پروتئین‌های خاص در ابتدای همانندسازی شناسایی شده و به آنها متصل می‌شوند. با حذف مبدأ از کروموزوم همانندسازی روی DNA شروع نخواهد شد.



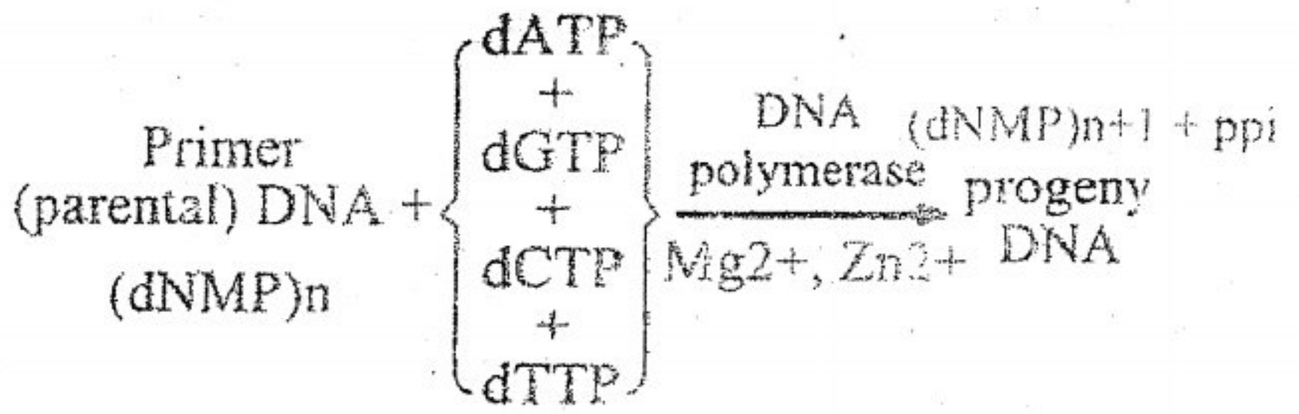
شکل ۶-۷a اتصال SSB پروتئین به تک زنجیره‌های DNA پس از جدا شدن دو رشته مکمل DNA از هم



شکل ۶-۷b: اتصال SSB پروتئین به تک رشته‌های DNA

۶-۴ مکانیسم ساخته‌شدن DNA

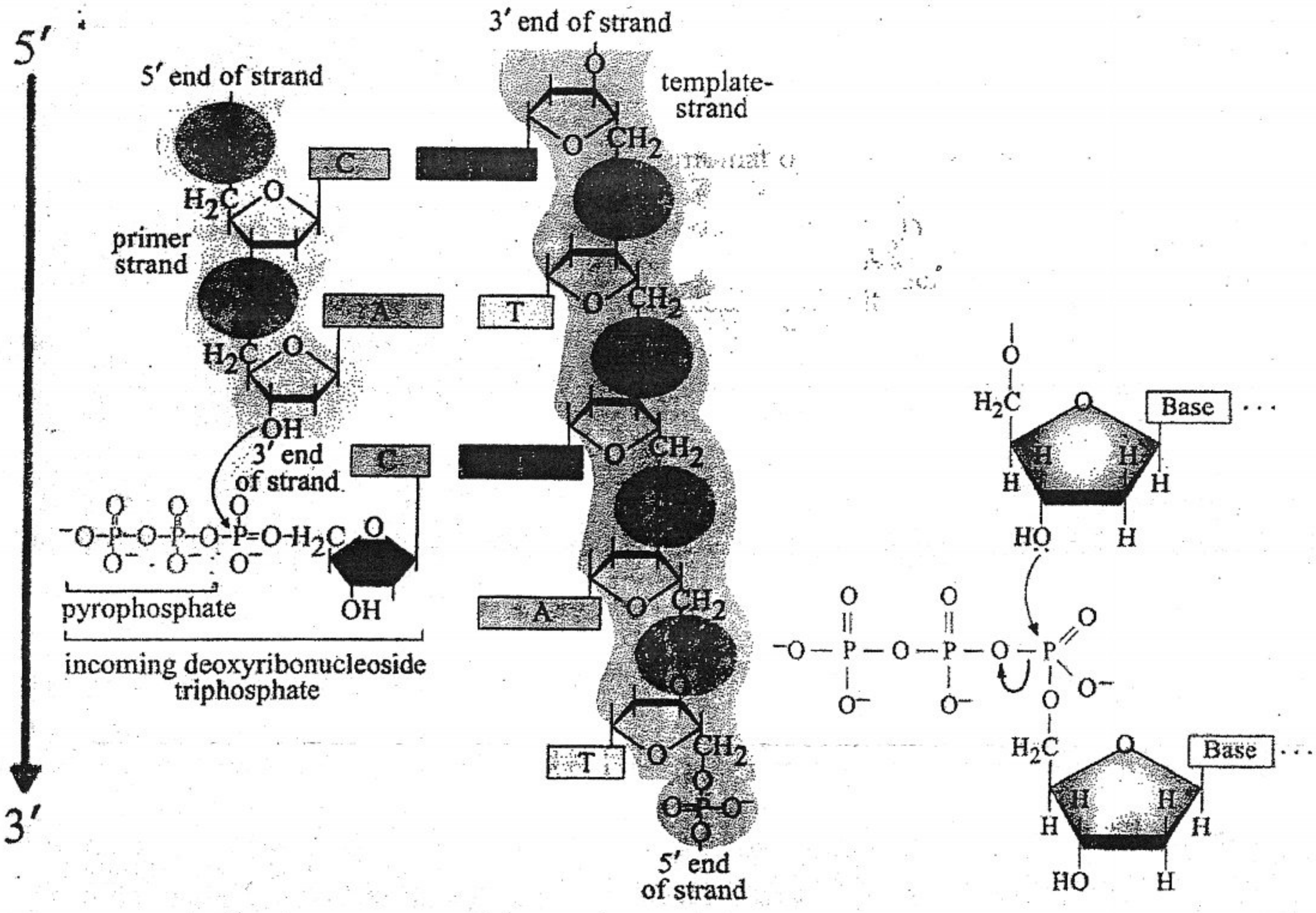
رشته DNA جدید همیشه از جهت ۳′ ← ۵′ ساخته می‌شود؛ یعنی همیشه نوکلئوتید جدید به OH- انتهای ۳′ زنجیره جدید DNA اضافه می‌شود. رشته الگو از جهت ۵′ ← ۳′ توسط DNA پلیمراز خوانده می‌شود. همانندسازی DNA یک واکنش شیمیایی است و آنزیم DNA پلیمراز برای عمل نیاز به ۴ نوع دی اکسی ریبونوکلئوتید تری فسفات dNTP و الگوی DNA و کاتیون‌های روی Zn^{2+} و Mg^{2+} دارد (شکل ۶-۸).



شکل ۶-۸: واکنش همانندسازی توسط DNA پلیمراز

اضافه شدن نوکلئوتید به زنجیره DNA از طریق حمله نوکلئوفیلی OH [illegible] DNA به فسفات شماره ۱ (α) dNTP انجام می‌گیرد. در طی این حمله گروه‌های فسفات ۲ و ۳ (β,γ) از dNTP به‌صورت پیروفسفات (PPi) خارج می‌شوند و پیوند جدید استری بین OH- ۳′ زنجیره DNA و فسفات α دی اکسی ریبونوکلئوتید مونوفسفات dNMP به وجود می‌آید و به‌این‌ترتیب زنجیره DNA به‌اندازه یک نوکلئوتید رشد می‌یابد. پیروفسفات آزاد شده بعداً هیدرولیز می‌شود و انرژی آزاد شده موجب یک‌طرفه شدن واکنش در جهت سنتز DNA پیش خواهد رفت (شکل ۶-۹).

همه DNA پلیمرازها نیاز به الگو دارند اینکه چه نوکلئوتیدی باید به زنجیره جدید اضافه شود توسط زنجیره الگو DNA تعیین می‌شود. همچنین DNA پلیمرازها نیاز به رشته شروع‌کننده یا پرایمر دارند. پرایمر رشته‌ای با OH- آزاد در انتهای



شکل ۹-۶: جهت همانندسازی و نحوه تشکیل پیوندهای فسفو دی استری بین نوکلئوتید جدید و زنجیره در حال رشد

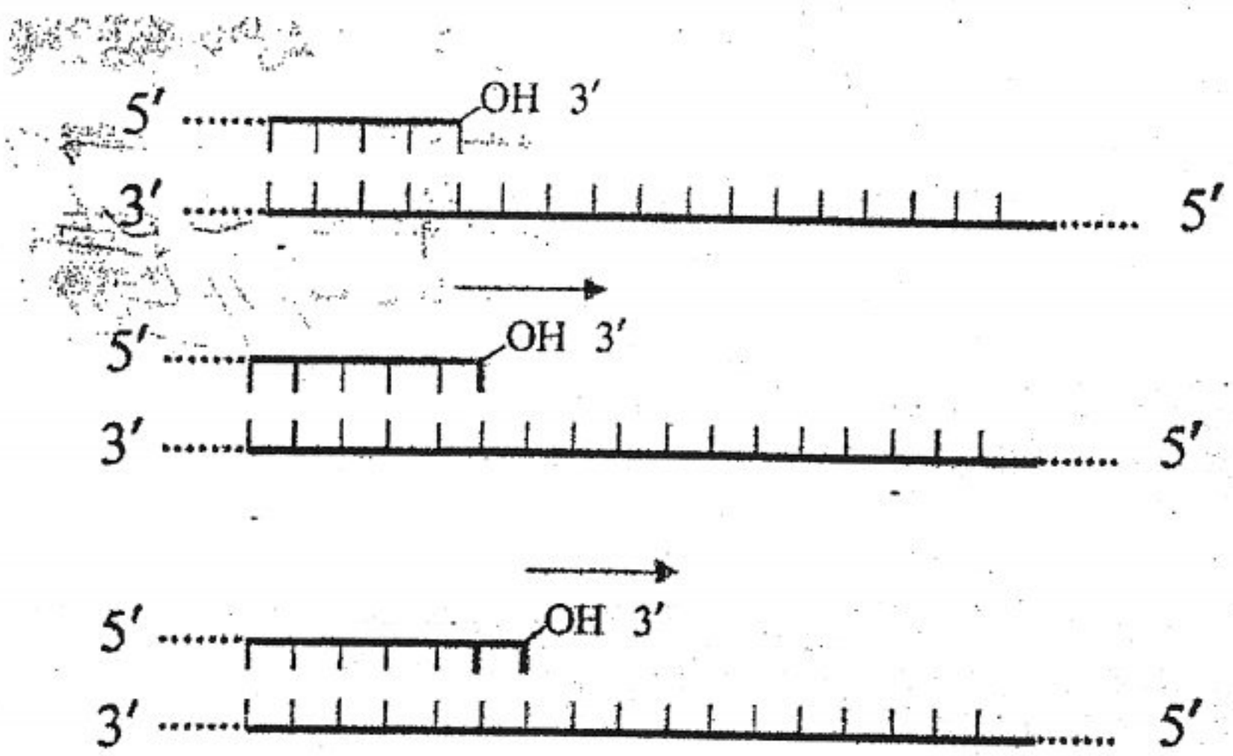
′۳ است که نوکلئوتید جدید به آن اضافه می‌شود. بیشتر پرایمرها از جنس RNA هستند که در ابتدا توسط آنزیم دیگری غیر از DNA پلیمراز ساخته می‌شوند. پرایمر در باکتری‌ها توسط آنزیم پریماز Primase ساخته می‌شوند؛ بنابراین ابتدا آنزیم Primase قطعه‌ای کوتاه از RNA (حدود ۳۰ نوکلئوتید) مکمل رشته DNA می‌سازد و بعد DNA پلیمراز به این دو رشته هیبرید RNA/DNA متصل می‌شود و به انتهای ′۳ زنجیره پرایمر RNA دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را اضافه می‌کند.

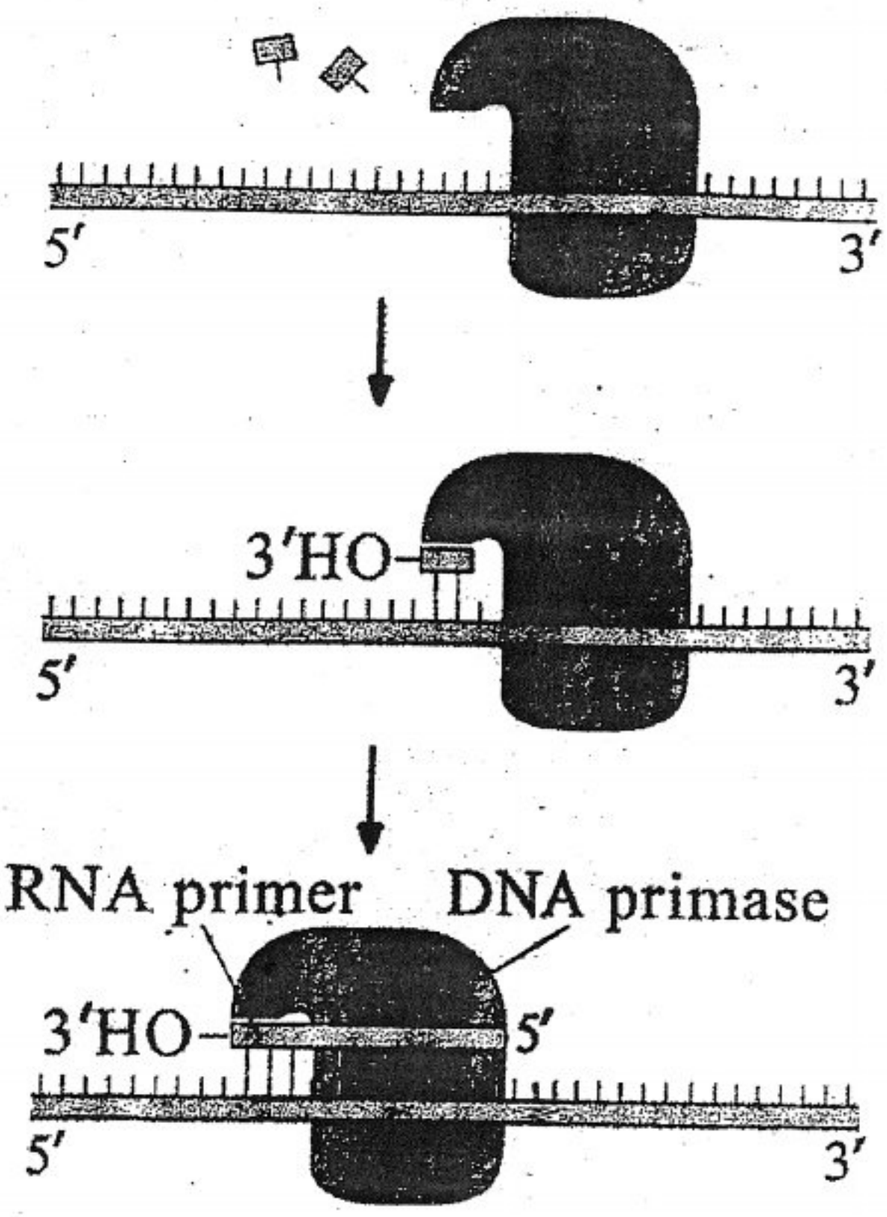
اکثر آنزیم‌های DNA پلیمراز نمی‌توانند دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را از صفر پلیمریزه کرده و رشته DNA جدید را بسازند. بلکه همان‌طور که اشاره شد به انتهای زنجیره‌ای که از قبل وجود دارد و به آن پرایمر گفته می‌شود دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را اضافه کرده و آن را رشد می‌دهند.(شکل ۱۰-۶)

۶-۵ سنتز قطعات اکازاکی و پلیمریزاسیون رشته پیش رو و پس رو

همان‌طور که قبلاً ذکر شد آنزیم DNA پلیمراز زنجیره جدید DNA را فقط در جهت ′۳ ⟵ ′۵ می تواند بسازد. سؤالی که مطرح می‌شود چگونه آنزیم می‌تواند مکمل هر دو رشته DNA را در هر چنگال Fork بسازد درحالی‌که در جهت حرکت Fork حرکت می‌کند و جهت دو رشته الگو نیز خلاف جهت هم می‌باشد؟

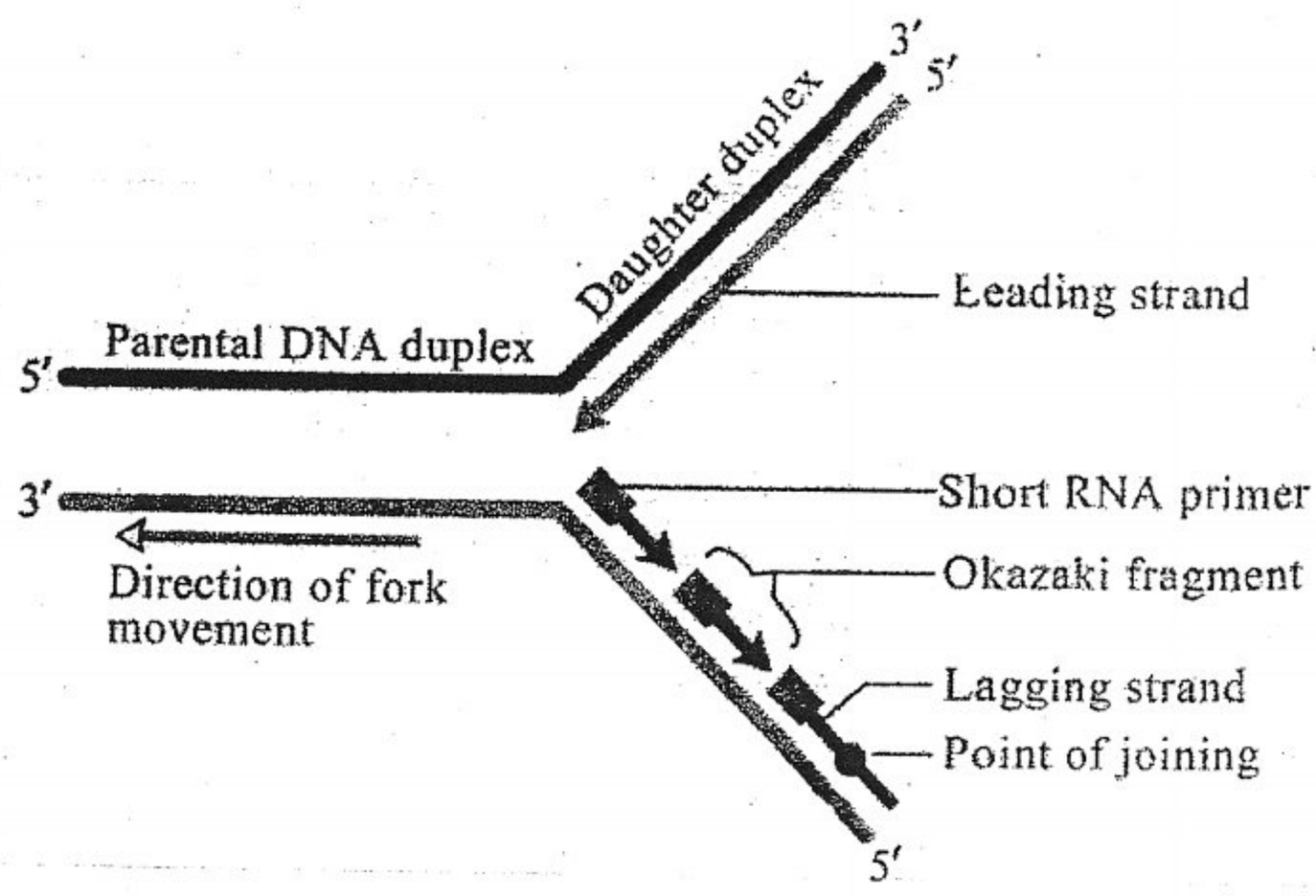
این سؤال در مورد همانندسازی DNA در سال ۱۹۶۰ توسط دانشمند ژاپنی بنام اکازاکی (Reji okazaki) پاسخ داده شد. اکازاکی دریافت که یکی از رشته‌های



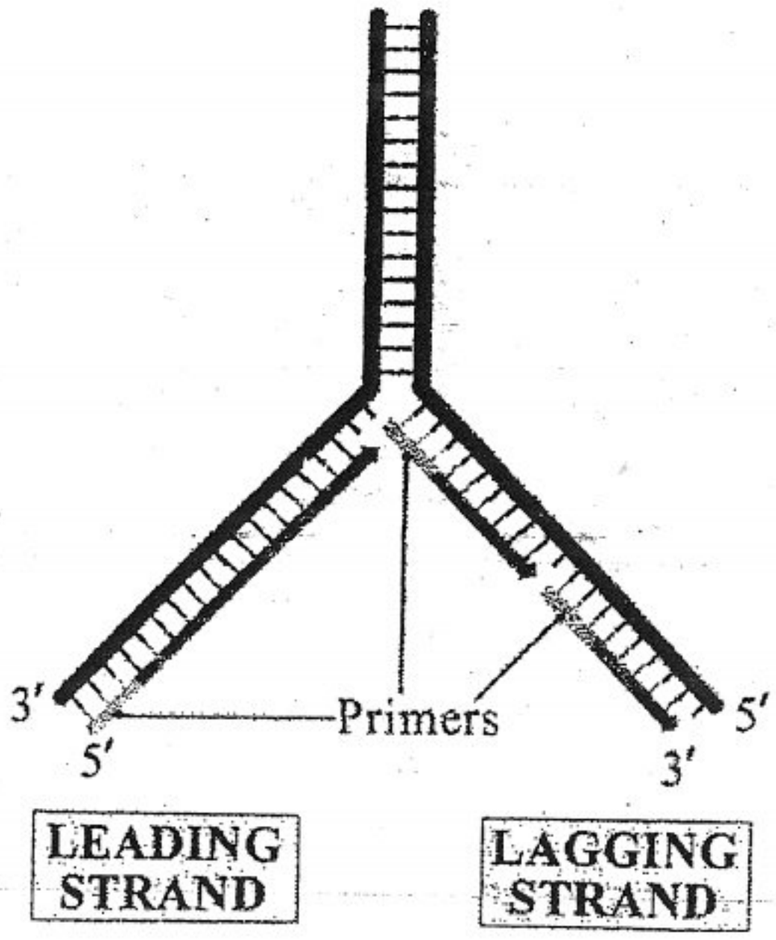


شکل ۱۰-۶: اضافه شدن نوکلئوتیدهای جدید به انتهای زنجیره در حال رشد هنگام همانندسازی

DNA جدید در هر Fork به‌صورت قطعات کوتاه و بریده‌بریده ساخته می‌شود به این قطعات منقطع DNA قطعات اکازاکی Okazaki Fragments گفته می شود.
پیدا شدن قطعات اکازاکی منجر به این نتیجه‌گیری شد که در هر Fork یکی از زنجیره‌های جدید DNA به‌صورت پیوسته و زنجیره جدید مقابل به‌صورت ناپیوسته ساخته می‌شوند که بعداً به هم متصل می‌شوند (شکل ۱۱-۶).



شکل ۱۱a-۶: نحوه ساخته شدن رشته پیش رو و پس رو در هر چنگال همانندسازی



شکل ۱۱b-۶: قطعات اکازاکی و رشته‌های پیش‌رو و پس‌رو DNA

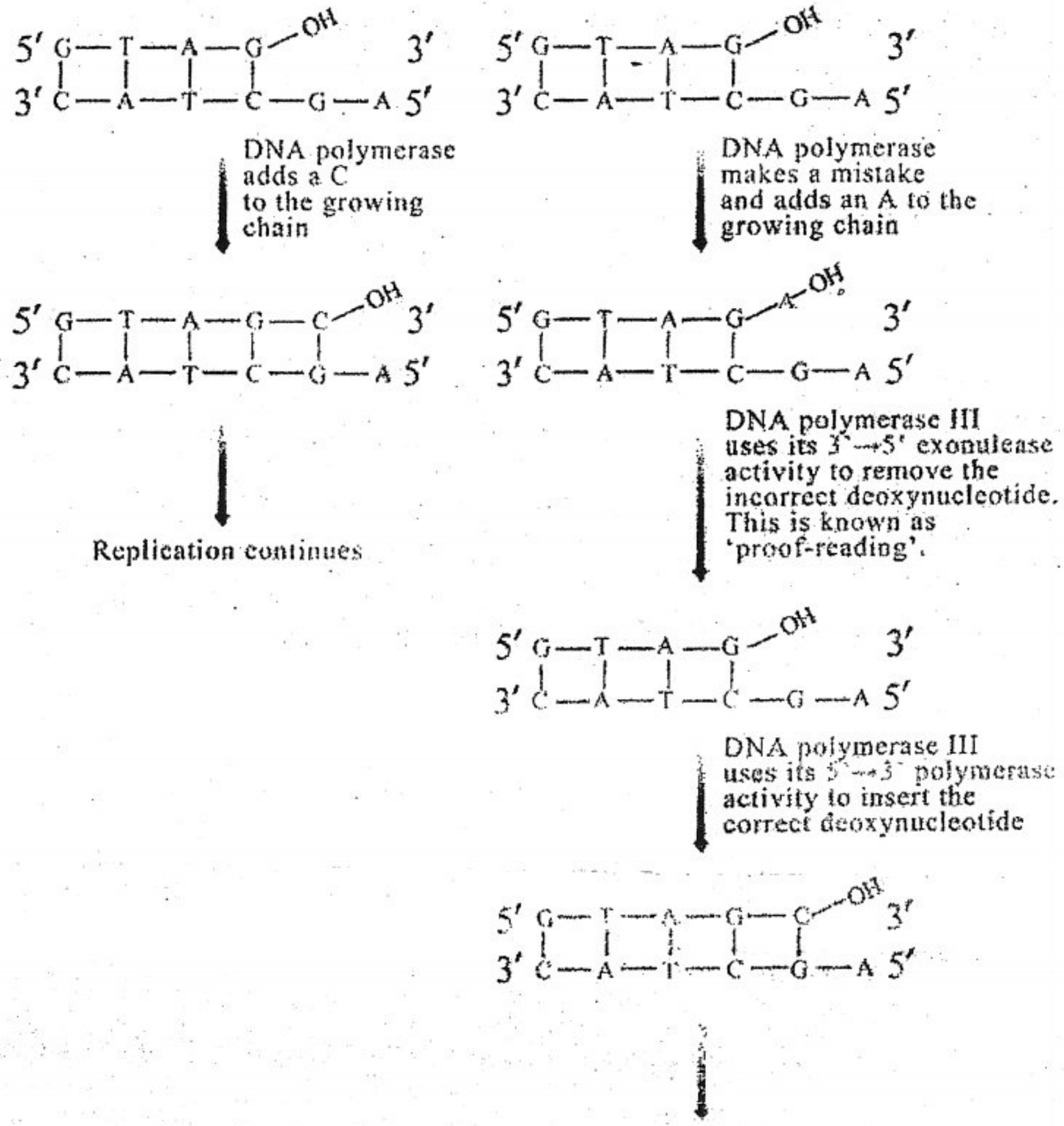
به آن رشته‌ای که به‌صورت پیوسته ساخته می‌شود رشته پیش‌رو Leading Strand و رشته‌ای که به‌صورت ناپیوسته ساخته می‌شود رشته پس‌رو Lagging strand گفته می‌شود. در شروع ساخته‌شدن هر قطعه اکازاکی یک پرایمر از جنس RNA در انتهای ′۵ قطعه وجود دارد. این قطعات کوتاه اکازاکی پس از برداشته شدن پرایمر RNA، توسط آنزیم DNA لیگاز به هم اتصال یافته و به‌صورت یک زنجیره بلند پیوسته درمی‌آیند. رشته پیش‌رو Leading در جهت حرکت Fork و رشته پس‌رو Lagging در خلاف جهت حرکت Fork ساخته می‌شوند؛ اما جهت سنتز رشته DNA توسط DNA پلیمراز در هر دو صورت از جهت ′۳ ← ′۵ است. طول قطعات اکازاکی در پروکاریوت‌ها ۲۰۰۰ - ۱۰۰۰ نوکلئوتید و در یوکاریوت‌ها ۲۰۰ - ۱۵۰ نوکلئوتید است.

۶-۶ آنزیم‌های DNA پلیمراز

اولین آنزیم DNA پلیمراز در باکتری E.Coli در سال ۱۹۵۵ توسط آرتور کورنبرگ کشف شد که این آنزیمی دارای یک زنجیره‌ی پلی پپتیدی است که هم‌اکنون DNA پلیمراز I نامیده می‌شود. DNA پلیمراز I باعث سنتز و رشد زنجیره‌ی DNA در جهت ′۳ ← ′۵ می‌شود و همچنین علاوه بر فعالیت پلیمرازی دارای دو فعالیت آنزیمی دیگر است. این آنزیم دارای فعالیت ′۵ ← ′۳ اگزونوکلئازی و فعالیت ′۳ ← ′۵ اگزونوکلئازی است. اگزونوکلئازها آنزیم‌هایی هستند که می‌توانند پیوند فسفودی استری بین نوکلئوتیدها را در انتهای زنجیره‌ی پلی نوکلئوتیدی هیدرولیز کنند و درنتیجه تک‌به‌تک نوکلئوتیدها را از انتهای زنجیره شکسته و آن‌ها را بردارند. اگر در انتهای ′۵ عمل کنند به آن ′۵ اگزونوکلئاز گفته می‌شود و اگر در انتهای ′۳ زنجیره عمل کنند به آن ′۳ اگزونوکلئاز گفته می‌شود. آنزیم DNA پلیمراز I دارای هر دو نوع فعالیت اگزونوکلئازی می‌باشد.

در مورد کاربرد و نقش بیولوژیک فعالیت اگزونوکلئازی این آنزیم در زیر توضیح داده شده است.

همانندسازی DNA با دقت بسیار بالا انجام می‌شود. در باکتری به ازای هر $۱۰^{۱۰}$ - $۱۰^{۹}$ نوکلئوتید که پلیمریزه می‌شوند یک اشتباه اتفاق می‌افتد. با توجه به‌اندازه کروموزوم باکتری که دارای ۴/۶ میلیون جفت باز است تنها یک اشتباه به ازای ۱۰۰۰ تا ۱۰/۰۰۰ بار همانندسازی کامل کروموزوم در باکتری وقوع می‌یابد. دقت و صحت بالای عمل آنزیم‌های DNA پلیمراز به دلیل فعالیت ′۵ ← ′۳ اگزونوکلئازی آن‌هاست. بعدازاینکه آنزیم نوکلئوتید جدید را به انتهای ′۳ زنجیره DNA اضافه می‌کند کار خود را مجدداً کنترل می‌کند که آیا نوکلئوتید اضافه شده درست بوده و مکمل نوکلئوتید مقابل در رشته الگو می‌باشد یا نه؟ اگر نوکلئوتید جدید اشتباهاً اضافه شده باشد آنزیم با استفاده از فعالیت ′۳ - اگزونوکلئازی خود آن را هیدرولیز نموده و از انتهای زنجیره برمی‌دارد و مجدداً نوکلئوتید صحیح را جایگزین می‌کند که مکمل نوکلئوتید رشته الگو باشد. به این فعالیت آنزیم عمل ویراستاری Proof-reading گفته می‌شود (شکل ۱۲-۶).



شکل ۱۲-۶: عمل ویراستاری DNA پلیمرازها برای تصحیح اشتباه خود

عمل ویراستاری آنزیم صحت پلیمریزاسیون را ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌دهد. مکانیسم‌های دیگر ترمیمی نیز در سلول وجود دارد که باوجود عملکرد ویراستاری آنزیم، بعد از همانندسازی باز اگر اشتباهی وجود داشته باشد آن‌ها را تشخیص داده و ترمیم می‌کند به این دسته از آنزیم‌ها که در ترمیم DNA نقش دارند ازیم‌های ترمیمی نوکلئوتیدهای ناجور Mismatch Repair Enzymes گفته می‌شود.

علاوه بر DNA پلیمراز I در باکتری E.Coli ۴ نوع آنزیم DNA پلیمراز دیگر نیز یافت شده است؛ که به‌صورت اعداد لاتین II و III و IV و V شماره‌گذاری می‌شوند. اگرچه DNA پلیمراز I فراوان‌ترین آنزیم DNA پلیمراز در باکتری E.Coli است (۹۰٪ از فعالیت DNA پلیمرازی باکتری) ولی آنزیم اصلی برای همانندسازی کروموزوم باکتری نیست. آنزیم اصلی برای همانندسازی کروموزوم باکتری DNA پلیمراز III می‌باشد.

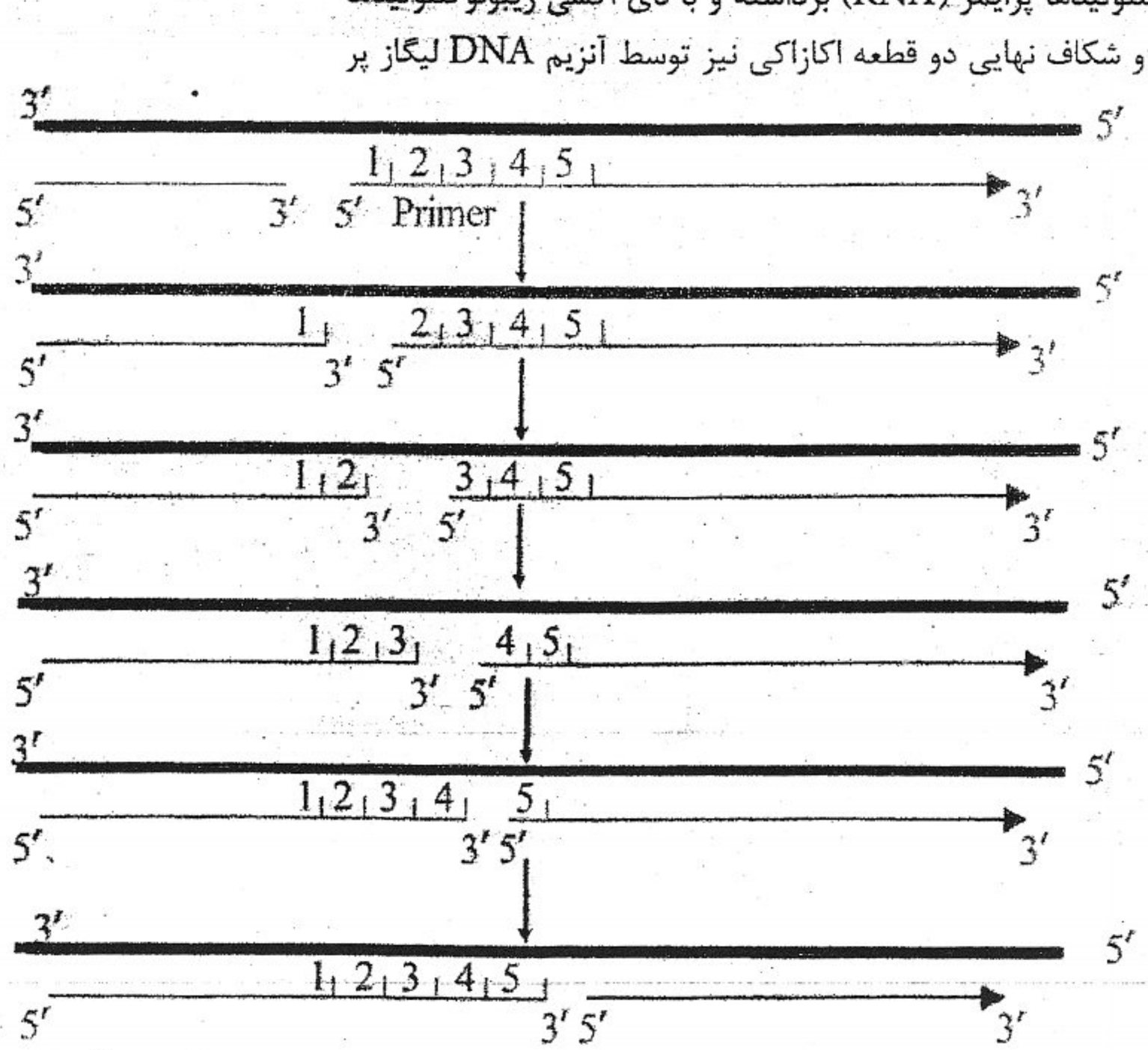
آنزیم DNA پلیمراز III نیز دارای فعالیت '۳ اگزونوکلئازی بوده بنابراین همانند آنزیم DNA پلیمراز I دارای توانایی تصحیح اشتباه می‌باشد. ولی فاقد فعالیت '۵ اگزونوکلئازی است.

آنزیم‌های DNA پلیمراز IV و V در سال ۱۹۹۹ در باکتری شناسایی شده‌اند.

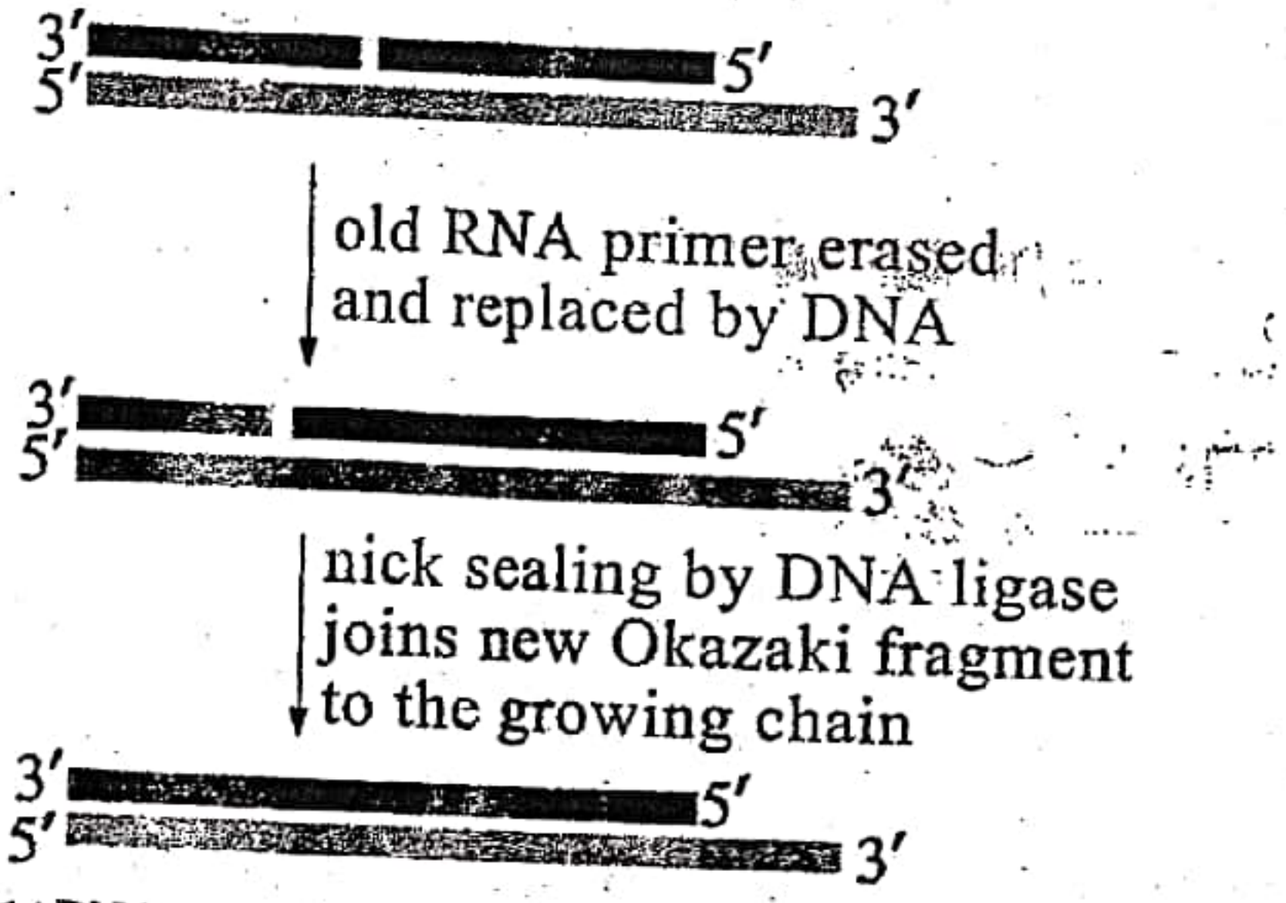
آنزیم‌های پلیمراز دیگر غیر از پلیمراز اصلی (DNA پلیمراز III) اکثراً در ترمیم DNA آسیب‌دیده و پدیده نوترکیبی (recombination) در باکتری شرکت دارند. همان‌طور که قبلاً اشاره شد آنزیم DNA پلیمراز I علاوه بر فعالیت '۳ – اگزونوکلئازی دارای فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی نیز است. کاربرد فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی آنزیم DNA پلیمراز I برای برداشتن پرایمر RNA از انتهای '۵ رشته DNA جدید می‌باشد. این آنزیم با استفاده از فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی خود در طی فرآیندی که به آن جابجایی شکاف Nick translation گفته می‌شود بعد از ساخته‌شدن هر قطعه DNA اکازاکی پرایمر RNA را از انتهای '۵ قطعات DNA به طریقی که در شکل ۱۳-۶ نشان داده شده برمی‌دارد.

۶-۷ برداشته شدن پرایمر RNA از ابتدای رشته های DNA

برای برداشته شدن پرایمرها، بعد از اینکه دو قطعه اکازاکی متوالی ساخته‌شدن آن‌ها کامل شد آنزیم DNA پلیمراز I با استفاده از فعالیت آنزیمی '۵ اگزونوکلئازی خود یکی‌یکی ریبونوکلئوتیدها ی پرایمر را از انتهای '۵ قطعه اکازاکی دوم (سمت راست در شکل ۱۳-۶) برمی‌دارد و بجای هر ریبونوکلئوتید برداشته‌شده یک دی اکسی ریبونوکلئوتید مکمل رشته الگو به انتهای '۳ قطعه اکازاکی قبلی (سمت چپ در شکل ۱۳-۶) اضافه می‌کند. در طی این فرآیند شکاف Nick موجود بین دو قطعه اکازاکی سمت چپ و راست یکی‌یکی به سمت جلو جابجا شده و انتقال می‌یابد و نهایتاً تمام ریبونوکلئوتیدها پرایمر (RNA) برداشته و با دی اکسی ریبونوکلئوتیدها جایگزین می‌شوند و شکاف نهایی دو قطعه اکازاکی نیز توسط آنزیم DNA لیگاز پر



شکل ۱۳-۶: برداشته شدن پرایمر از انتهای '۵ توسط DNA پلیمراز I با مکانیسم جابجایی شکاف Nick translation. برای ساده شدن تنها ۵ ریبونوکلئوتید از پرایمر در انتهای '۵ نشان داده شده‌اند



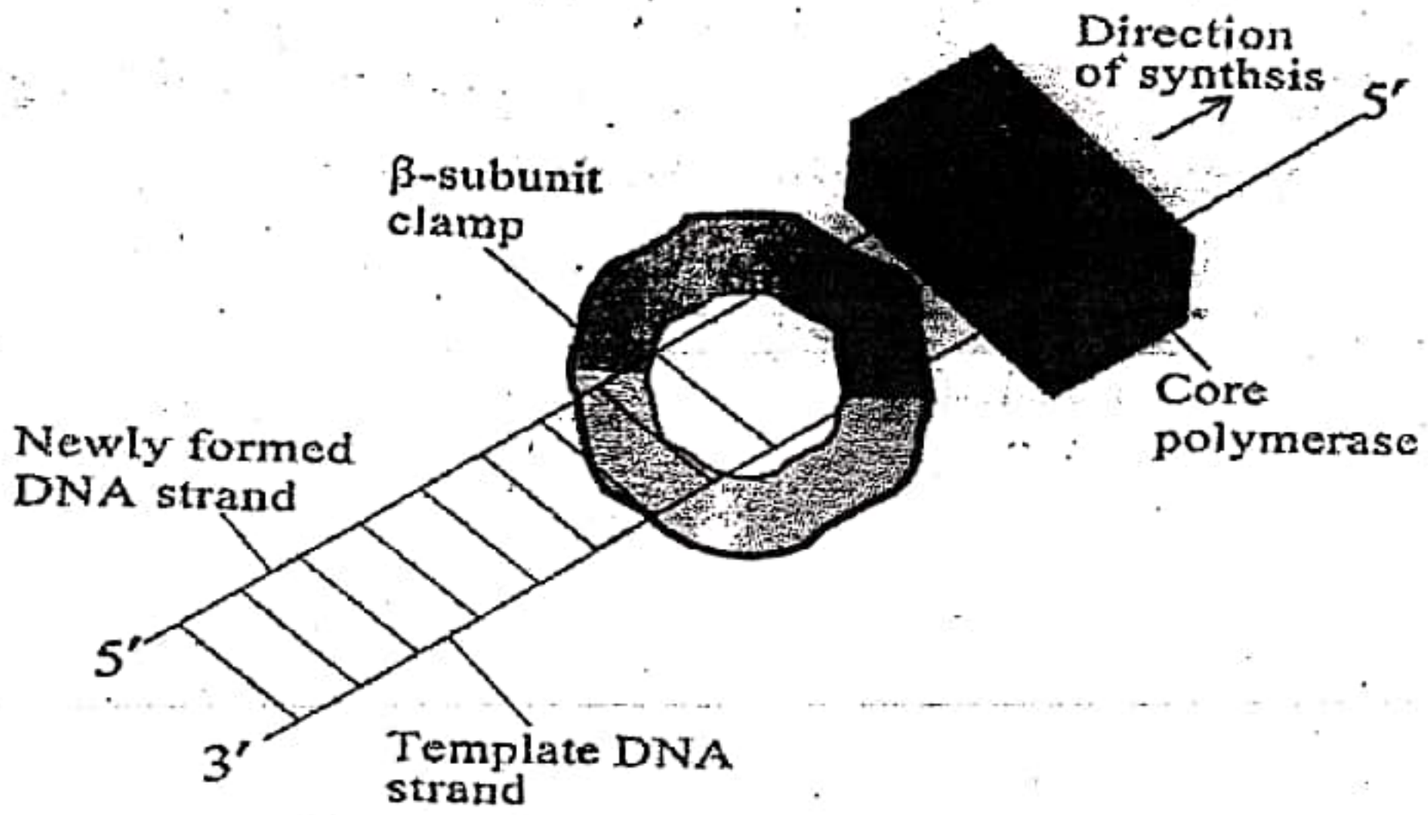
شکل ۱۴-۶: برداشته شدن پرایمر و اتصال دو قطعه اکازاکی به همدیگر توسط DNA لیگاز

می‌شود. آنزیم لیگاز پیوند استری بین OH- '۳ از یک رشته DNA و گروه فسفات '۵ رشته مجاور DNA ایجاد می‌کند.

DNA- لیگاز در یوکاریوت‌ها انرژی لازم برای ایجاد پیوند فسفودی استری بین دو رشته DNA را از ATP تأمین می‌کند؛ اما DNA لیگاز در باکتری‌ها از کوآنزیم NAD استفاده کرده و آن را به AMP و NMN (Nicotin mono nucleotide) می‌شکنند.

۸-۶ اتصال DNA پلیمراز به DNA توسط گیره متحرک بتا

DNA پلی مراز III یک آنزیم چند زیر واحدی multi subunit است که یکی از زیر واحدهای آن جزء β است. جزء β مانند گیره عمل می‌کند که به‌صورت دایمر مولکول DNA را می‌گیرد و در طول DNA حرکت می‌کند. جزء β باعث اتصال DNA پلیمراز به DNA می‌شود. به همین دلیل به این جزء DNA پلیمراز III گیره متحرک β (β – sliding clamp) گفته می‌شود. در عدم حضور زیر واحد β آنزیم DNA پلیمراز با پلیمریزه کردن حدود ۲۰ نوکلئوتید از DNA جدا می‌شود و کارایی آن برای ساختن DNA بسیار پایین خواهد بود.



شکل ۱۵-۶: عملکرد گیره β زیر واحد DNA پلیمراز III باکتری

زیر واحد دیگر این آنزیم جزء γ است که باعث باز و بسته شدن گیره‌ی β می‌شود؛ و به همین دلیل به آن γ-Clamp lōader گفته می‌شود.

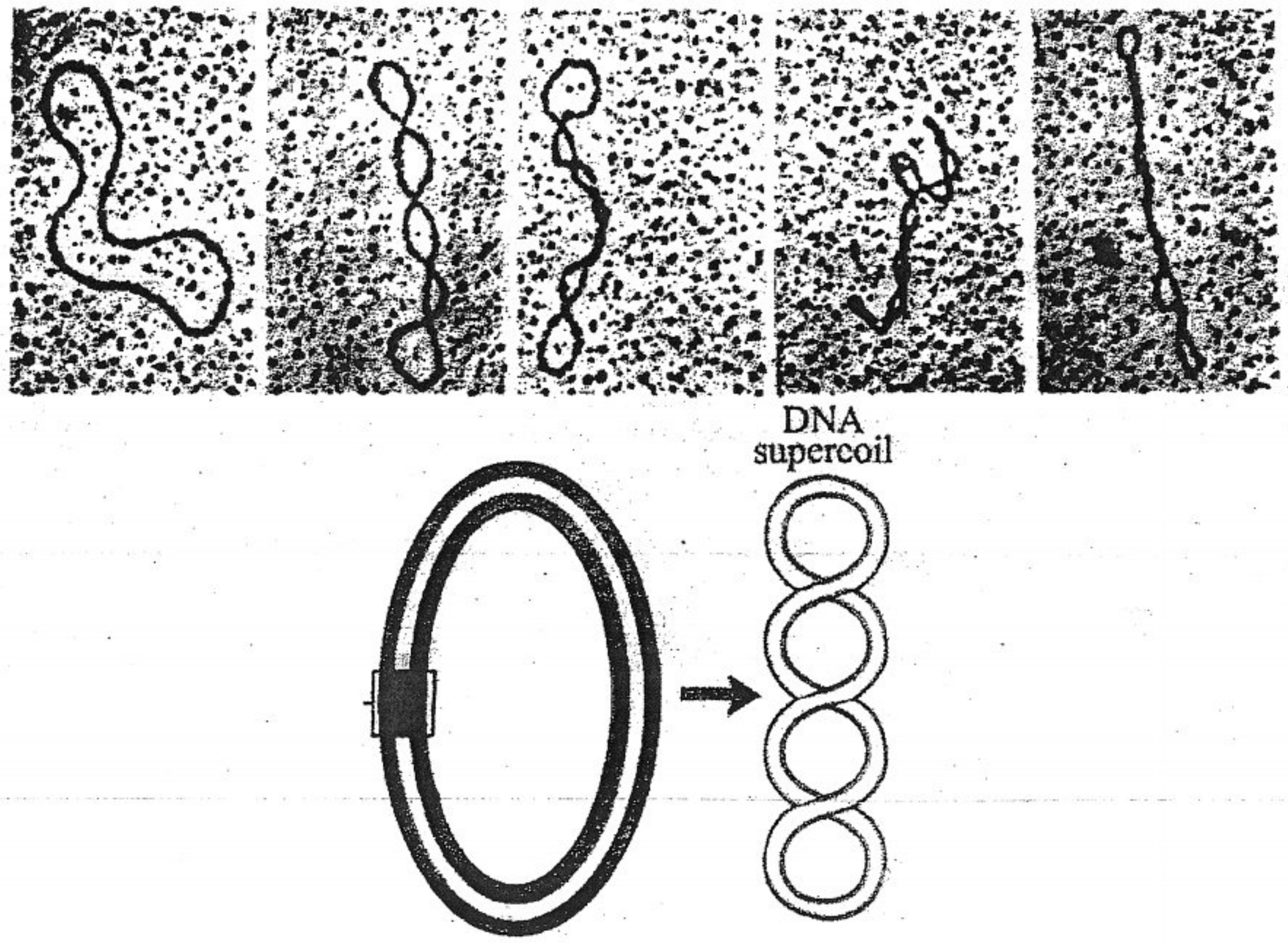
۹-۶ رپلیزوم و نقش آنزیمهای هلیکاز و توپوایزومراز در همانند سازی

برای همانندسازی DNA آنزیم‌ها و فاکتورهای پروتئینی زیادی لازم هستند. بیش از ۲۰ آنزیم و پروتئین برای همانندسازی DNA لازم است. به مجموعه این آنزیم‌ها و پروتئین‌ها که در همانندسازی DNA دخالت دارند DNA Replicase system یا رپلیزوم Replisome گفته می‌شود. جدا شدن دو رشته DNA مکمل توسط آنزیم هلیکاز انجام می‌شود که با استفاده از انرژی حاصل از هیدرولیز ATP پیوندهای هیدروژنی بین بازهای آلی مکمل از دو رشته DNA شکسته می‌شود و هر رشته به‌عنوان الگو در دسترس آنزیم DNA پلیمراز قرار می‌گیرد.

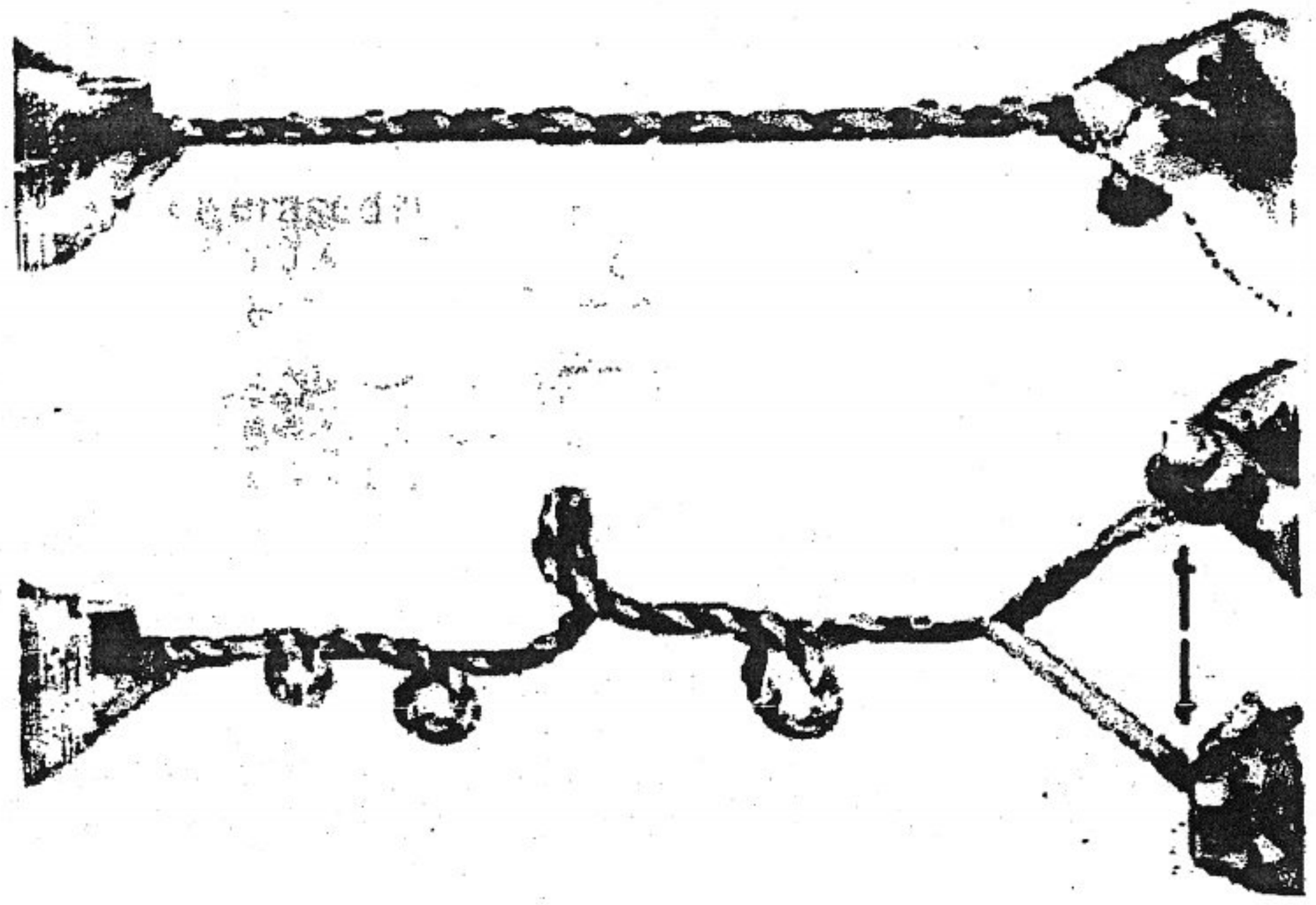
باز شدن دو رشته DNA از هم در هنگام همانندسازی ایجاد تنش فضایی روی ساختمان مارپیچ DNA می‌کند که درنتیجه عملکرد آنزیم‌های Topoisomerse (DNA gyrase در باکتری) این تنش فضایی از روی مولکول برداشته می‌شود.

مولکول DNA از لحاظ شکل فضایی به دو فرم Relaxed یا Supercoiled می‌تواند وجود داشته باشند شکل ۱۶-۶.

شکل پایین عکس میکروسکوپ الکترونی DNA حلقوی پلاسمید در باکتری را نشان می‌دهد. مولکول در سمت چپ این عکس در فرم راحت Relaxed است در این فرم مولکول روی سطح می‌تواند قرار گیرد. در عکس‌های سمت راست حالت‌های فوق تاخورده Supercoil را نشان می‌دهند. درجه فوق تاخوردگی (Supercoil) در شکل ۱۶-۶ از چپ به راست بیشتر می‌شود. در حالت Supercoil مولکول DNA



شکل ۱۶-۶: فرم راحت relaxed و فوق تاخورده supercoiled مولکول DNA

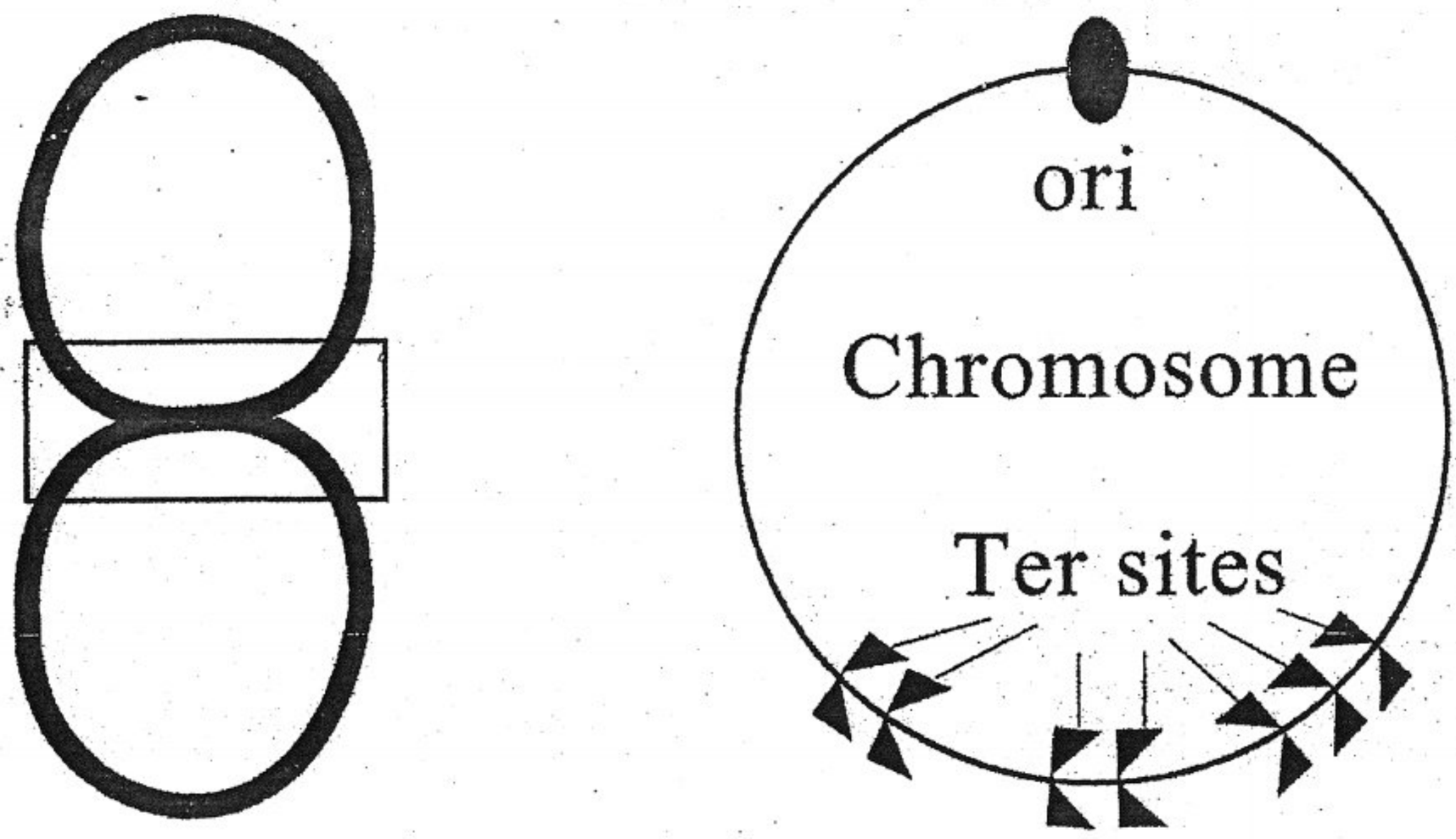


شکل ۱۷-۶: پیچیده شدن بیش‌ازاندازه دو طناب به دور همدیگر باعث سوپر کویل شدن آن‌ها می‌شود

علاوه بر مارپیچ واتسون کریک روی خود نیز تا می‌خورد. در حالت سوپرکویل-Su percoil مولکول DNA حالت سه‌بعدی دارد و روی سطح قرار نمی‌گیرد. ایده سوپر کویل Supercoil بودن مولکول DNA اولین بار از مشاهده سیم تلفن که روی خود تاخورده بود توسط ژروم ویناگراد Jerome vinagrad در سال ۱۹۶۵ میلادی پیشنهاد شد. اگر دو رشته طناب دورهم پیچیده شده باشند و یک‌طرف رشته‌ها گرفته شده باشند طوری که قابلیت چرخیدن نداشته باشند و از طرف دیگر بخواهیم بدون تابیدن رشته‌ها دورهم آن‌ها را از هم بازکنیم این کار باعث تاب خوردن طناب روی خود خواهد شد و به فرم Supercoil درمی‌آیند.

چنین وضعیتی با حرکت Fork در هنگام همانندسازی DNA نیز به وجود می‌آید. چه در مورد کروموزوم حلقوی باکتری که انتهای آزاد ندارد و چه در مورد کروموزوم یوکاریوتی که به دلیل وجود نوکلئوزوم قابلیت چرخش آزادانه دو رشته DNA وجود ندارد با حرکت Fork و باز شدن هر چه بیشتر دو رشته DNA از همدیگر، مارپیچ در جلو Fork فشرده می‌شود و این باعث تاب خوردن مولکول DNA روی خود می‌شود هر چه دو رشته DNA بیشتر باز شوند در جه تاخورخودگی Supercoil شدن بیشتر خواهد شد طوری که مولکول DNA روی خود چندان تاب خواهد خورد که امکان باز شدن هر چه بیشتر دو رشته مکمل از هم وجود نخواهد داشت و همانندسازی متوقف خواهد شد. نقش آنزیم‌های توپوایزومراز برداشتن تنش فضایی (supercoiling) از مارپیچ DNA است تا همانندسازی بتواند ادامه یابد. در هنگام همانندسازی توپوایزومراز در جلو Fork حرکت کرده و تاخوردگی DNA روی خود را از بین می‌برد. این کار با برش یک یا هر دو رشته DNA و اتصال دوباره ligation دو انتها پس از برداشته شدن تاب خوردگی DNA انجام می‌شود.

در مرحله‌ی رشد DNA (Elongation) سنتز رشته‌های Leading و Lagging ادامه می‌یابد.

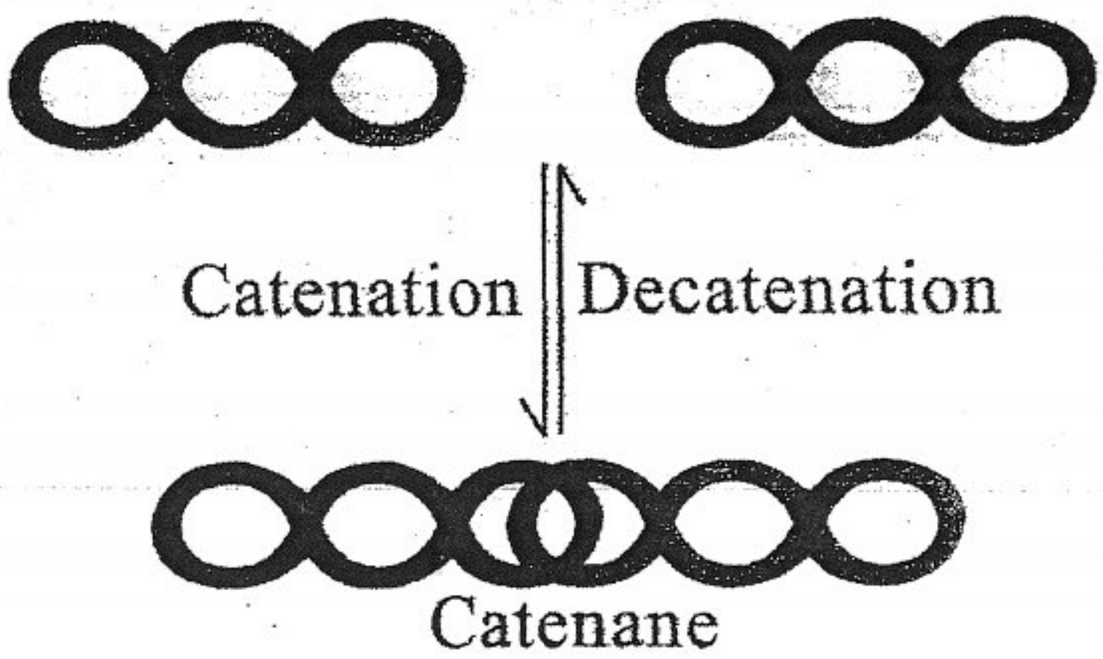


شکل ۱۸-۶: جایگاه‌های خاتمه روی کروموزوم باکتری (شکل سمت راست) و اتصال دو کروموزوم همانندسازی شده به هم در جایگاه خاتمه (شکل سمت چپ)

۱۰-۶ خاتمه همانند سازی کروموزوم باکتری

در مرحله خاتمه Termination دو چنگال همانندسازی در کروموزوم حلقوی باکتری نهایتاً به هم می‌رسند. در ناحیه خاتمه که حدود ۱۸۰ درجه مقابل ناحیه مبدأ همانندسازی قرار دارد توالی‌هایی ۲۰ جفت باز تکراری وجود دارد که به آن خاتمه Terminus (Ter) گفته می‌شود (شکل ۱۸-۶). به‌توالی‌های خاتمه Ter پروتئینی بنام پروتئین خاتمه Terminus utilization substance (Tus) متصل می‌شود. کمپلکس پروتئین- DNA در ناحیه خاتمه باعث توقف حرکت چنگال همانندسازی می‌شود.

با کامل شدن همانندسازی کروموزوم در باکتری دو مولکول DNA حلقوی که مانند دو قلاب زنجیر درگیر هستند به وجود می‌آید. به این ساختمان ایجاد شده قلاب Catenan گفته می‌شود. برای اینکه دو مولکول DNA از هم جدا شوند آنزیم توپوایزومراز IV در باکتری با برش موقت هر دو رشته DNA از یک کروموزوم باعث جدا شدن دو مولکول DNA حلقوی از هم می‌شود؛ که به این واکنش جدا شدن قلاب Decatenation گفته می‌شود(شکل ۱۹-۶).



شکل ۱۹-۶: قلاب شدن و جدا شدن قلاب دو مولکول DNA حلقوی از هم توسط آنزیم توپوایزومراز

۱۱-۶ همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی

همانندسازی DNA در سلول‌های یوکاریوتی پیچیده‌تر از باکتری‌ها می‌باشد. مولکول‌های DNA در یوکاریوت‌ها بسیار بزرگ‌تر از آنچه در باکتری‌هاست بوده و به صورت کروماتین وجود دارد. همانندسازی در یوکاریوت‌ها اصولاً شبیه به پروکاریوت‌ها است. ساده‌ترین سلول یوکاریوتی مخمر می‌باشد؛ که بسیاری از مطالعات همانندسازی در یوکاریوت‌ها در این میکروارگانیسم انجام شده است. به مبدأ همانندسازی در کروموزوم مخمر Autonomously Replicating sequence (ARS) گفته می‌شود. در ARS نیز همانند مبدأ همانندسازی در باکتری‌ها توالی‌های تکراری وجود دارد که توسط پروتئین های موسوم به Origin Recognition complex (ORC) شناسایی و به آن متصل می‌شوند. سرعت حرکت چنگال همانندسازی دریوکاریوت‌ها کندتر از پروکاریوت‌ها بوده و حدود ۵۰ نوکلئوتید در ثانیه است. با این سرعت کم همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی مانند سلول‌های انسان، با استفاده از تنها یک مبدأ همانندسازی بیش از ۵۰۰ ساعت طول خواهد کشید تا کامل شود؛ اما همان‌طور که قبلاً اشاره شد سرعت کم همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی با افزایش تعداد مبدأهای همانندسازی که به فاصله هر ۳۰۰/۰۰۰ – ۳۰/۰۰۰ جفت باز روی کروموزوم قرار دارند جبران شده است. در هر یک از این مبدأها، همانندسازی به‌صورت دوطرفه انجام می‌شود و به‌طور متوسط در ۸ ساعت همانندسازی کروموزوم‌ها در سلول‌های یوکاریوتی کامل می‌شود و سلول یوکاریوتی می‌تواند تقسیم شود.

در سلول‌های یوکاریوتی بیش از ۵ نوع DNA پلیمراز شناسایی شده که با حروف لاتین نام‌گذاری می‌شوند.

همانندسازی DNA کروموزومی به کمک DNA پلیمراز دلتا (δ) و آلفا (α) در محل Fork انجام می‌شود. DNA پلیمراز δ آنزیم اصلی برای همانندسازی هر دو رشته‌های پیش‌رو Leading و پس‌رو Lagging می‌باشد. DNA پلیمراز α فاقد قابلیت ویراستاری است و نقش آن سنتز پرایمرهای RNA و یا DNA برای DNAپلیمراز δ است.

به DNA پلیمراز δ پروتئینی متصل می‌شود که به آن Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) گفته می‌شود. PCNA در سلول‌های یوکاریوتی نقشی مشابه با زیر واحد β آنزیم DNA پلیمراز III باکتری‌ها دارد. این پروتئین به‌صورت گیره‌ای حلقوی به DNA اتصال یافته بنابراین DNA پلیمراز δ را متصل به DNA نگه داشته تا همانندسازی با کارایی بالا بتواند انجام گیرد. DNA پلیمراز دلتا دارای فعالیت ۵′ → ۳′ اگزونوکلئازی بوده بنابراین توانایی ویراستاری و تصحیح اشتباه را نیز دارا می‌باشد.

DNA پلیمراز اپسیلون (Pol ε) و پلیمراز زتا (pol ζ) در ترمیم DNA در هسته سلول نقش دارند. DNA پلیمراز ε در محل Fork نیز دیده می‌شود که احتمالاً نقشی مشابه با DNA پلیمراز I باکتری دارد و باعث برداشتن پرایمرها از انتهای ۵′ قطعات اکازاکی می‌شود.

DNA پلیمراز گاما (Polγ) در میتوکندری وجود دارد و مسئول همانندسازی DNA حلقوی میتوکندری می‌باشد. دو پروتئین مهم دیگر در سلول‌های یوکاریوتی

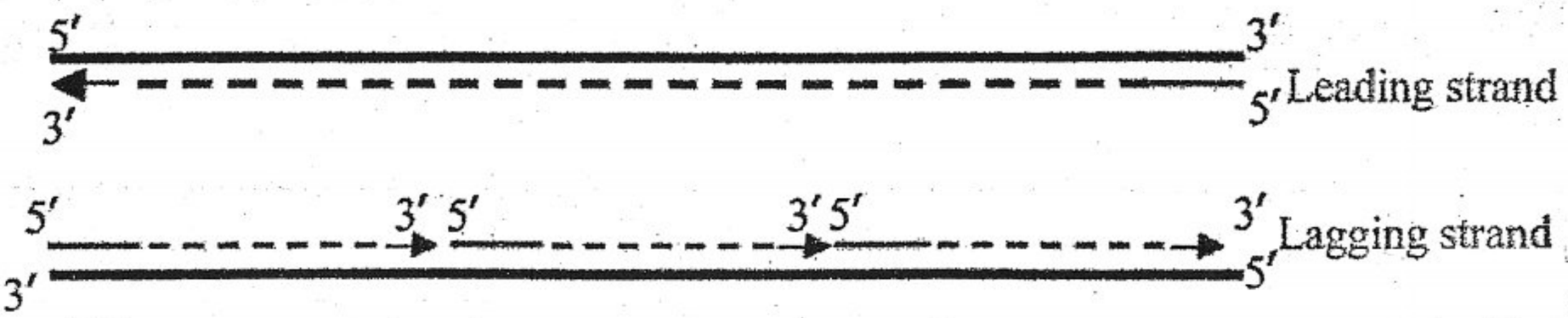
در همانندسازی DNA نقش دارند. پروتئین همانندسازی-A (RPA Repication protein A) که نقشی معادل پروتئین SSB باکتری‌ها دارد و به زنجیره تک رشته‌ای DNA متصل می‌شود و فاکتور همانندسازی-C Replication Factor C (RFC) که نقشی معادل زیر واحد γ از آنزیم DNA پلیمراز III باکتری دارد و باعث باز و بسته شدن گیره PCNA می‌شود تا PCNA بتواند به DNA اتصال یافته و یا جدا شود.

۱۲-۶ نقش آنزیم تلومراز در همانند سازی انتهای کروموزوم یوکاریوتی

خاتمه همانندسازی کروموزوم‌های خطی در یوکاریوت‌ها شامل ساخت تلومر در انتهای کروموزوم است. مشکلی که در همانندسازی انتهای کروموزوم یوکاریوت‌ها وجود دارد برداشتن پرایمر از رشته Leading و Lagging در انتهای کروموزوم است. چون در انتهای کروموزوم رشته اکازاکی دیگری وجود ندارد که با برداشتن پرایمر RNA، دی اکسی نوکلئوتیدها بتوانند طی فرآیند Nick translation به آن اضافه شوند. همانندسازی متوالی در سلول‌های یوکاریوتی می‌تواند باعث کوتاه شدن انتهای کروموزوم‌ها به اندازه یک پرایمر در هر دور همانندسازی حین تقسیم سلول‌ها شود (شکل ۲۰-۶).

مکانیسمی که در سلول‌های یوکاریوتی برای حل این مشکل وجود دارد فعالیت آنزیمی بنام تلومراز است. آنزیم تلومراز توالی‌های تکراری ۶تایی را به انتهای ′۳ هر دو رشته کروموزوم اضافه می‌کند. این توالی‌های ۶ تایی چند هزار بار به دو انتهای کروموزوم اضافه می‌شوند و تلومر در انتهای کروموزوم به وجود می‌آید. توالی‌های تکراری در گونه‌های مختلف موجودات با هم متفاوت است برای مثال در انسان توالی ۶ تایی TTAGGG در انتهای کروموزوم وجود دارد (شکل ۲۱-۶).

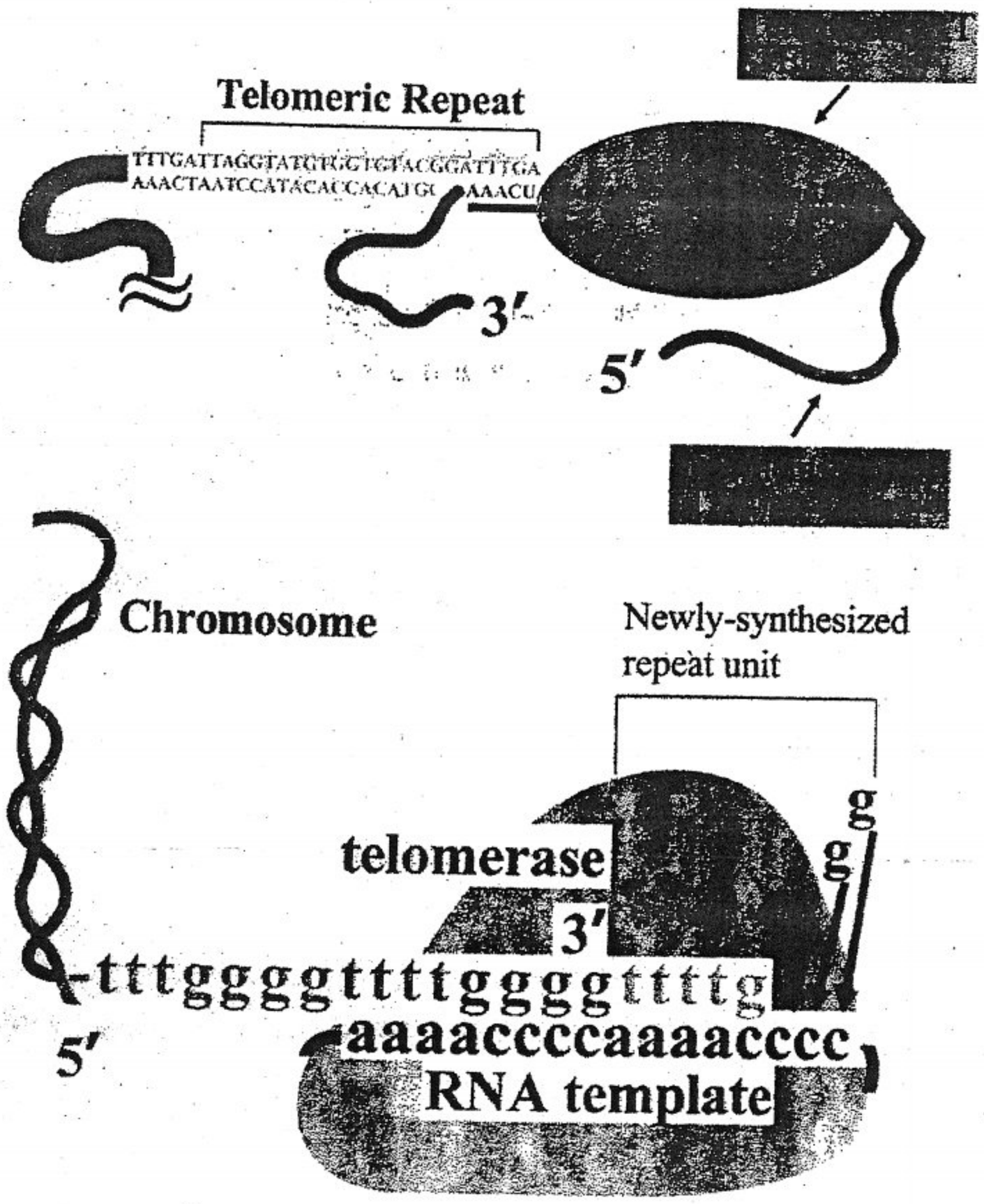
تلومراز یک آنزیم Reverse transcriptase است یعنی برخلاف رونویسی که از روی DNA، RNA ساخته می‌شود تلومراز از روی RNA، DNA می‌سازد. آنزیم تلومراز نیاز به زنجیره الگوی خارجی ندارد زیرا در ساختمان خود دارای یک رشته RNA است که به‌عنوان الگو از آن استفاده می‌کند. این RNA الگو حدود ۱۵۰ نوکلئوتید طول دارد و توالی آن شامل توالی شش‌تایی تکراری است که مکمل آن در تلومر دیده می‌شود. تلومراز به انتهای ′۳ کروموزوم متصل می‌شود و از RNA



شکل ۲۰-۶: انتهای کروموزوم یوکاریوت و عدم امکان جایگزین شدن پرایمرها در دو انتهای کروموزوم از طریق مکانیسم Nick translation

...GGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTA
GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGT
TAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTA...

شکل ۲۱-۶: توالی‌های تکراری تلومر در انتهای کروموزوم انسان



شکل ۲۲-۶: اضافه شدن توالی‌های تکراری تلومر به انتهای کروموزوم توسط آنزیم تلومراز

خود به‌عنوان الگو استفاده کرده و دی اکسی ریبو نوکلئوتیدها را که همان توالی‌های تکراری شش‌تایی TTAGGG است به انتهای یک رشته اضافه می‌کند و پس از طویل شدن، این رشته توسط DNA پلیمراز به‌عنوان الگو استفاده می‌شود و مکمل توالی‌های تکراری آن به رشته مقابل کروموزوم اضافه شده و دو رشته با توالی‌های تکراری انتهای کروموزوم که همان تلومر است به وجود می‌آید (شکل ۲۲-۶).

تلومراز در سلولهای جنینی و سلولهای بنیادی بسیار فعال است. اما در اکثر سلولهای بافتهای بزرگسالان غیر فعال می شود بجز در بعضی از سلولهای بزرگسالان که بطور طبیعی دارای قدرت رشد هستند مانند سلولهای خون ساز در مغز استخوان و سلولهای فولیکول مو که به مقدار کم تلومراز در انها فعال است. سلولهای معمولی بافت در بزرگسالان فاقد قدرت رشد هستند برای مثال سلولهای فیبروبلاست پوست بزرگسالان در محیط کشت آزمایشگاه بعد از چند بار تقسیم شدن بدلیل کوتاه شدن طول تلومر دچار مرگ و میر می شوند. در سلولهای سرطانی بافتهای مختلف فعالیت آنزیم تلومراز افزایش می یابد که این امر موجب نا میرا شدن (قدرت رشد نا محدود)

سلولهای سرطانی می شود. یکی از زمینه های مهم تحقیقات امروزه پیدا نمودن ماده ای است که به کمک آن بتوان با غیر فعال نمودن آنزیم تلومراز در سلولهای سرطانی این بیماری را درمان نمود.

۱۳-۶ نمونه سؤالات فصل ۶

۱- کدام آنزیم دو قطعه اکازاکی را به هم متصل می کند؟

الف- DNA ligase ب- DNA polymerase

ج- DNA helicase د- Topoisomerase

ه- Exonuclease

۲- کدام آنزیم تاخوردگی مضاعف DNA supercoiling را هنگام همانند سازی DNA بر می دارد؟

الف- Telomerase ب- Primase

ج- Gyrase د- Ligase

ه- Helicase

۳- کدام DNA پلیمراز مسئول همانند سازی کروموزوم حلقوی موجود در میتوکندری است؟

الف- پلیمراز III ب- پلیمراز β

ج- پلیمراز I د- پلیمراز α

ه- پلیمراز γ

۴- کدامیک از بیانات زیر در مورد همه آنزیمهای DNA پلیمراز درست است؟

الف- دارای قدرت تصحیح اشتباه هستند.

ب- نیاز به پرایمر دارند

ج- رشته الگو را در جهت ′۵←′۳ می خوانند

د- DNA جدید رابصورت دوطرفه ′۵←′۳ و ′۳←′۵ پلیمریزه می نمایند

ه- همه موارد فوق

جواب ها:

۱- الف

۲- ج

۳- ه

۴- ج

۶

فصل ششم:

همانندسازی DNA
(DNA Replication)

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

هدف کلی درس: آشنایی با مکانیسم انجام همانندسازی در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی

اهداف اختصاصی:

با مطالعه این فصل دانشجو بایستی مطالب زیر را بیاموزد

- ویژگی‌های کلی همانندسازی DNA شامل شروع پلیمریزاسیون از محل مبدأ و نیمه حفاظتی بودن و دوطرفه بودن آن
- نقش و فعالیت انواع آنزیم‌های DNA پلیمراز - هلیکاز -پریماز- لیگاز و توپوایزومراز
- نحوه سنتز رشته پیش‌رو (leading) و پس‌رو (lagging) در چنگال (fork) همانندسازی
- نحوه برداشته شدن پرایمر RNA از ابتدای قطعات اکازاکی
- شباهت‌ها و تفاوت‌های همانندسازی کروموزوم در باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتی
- سنتز انتهای کروموزوم یو کاریوتی (تلومر) توسط آنزیم تلومراز
- نقش تلومراز در جلوگیری از کوتاه شدن انتهای کروموزوم یوکاریوتی

Scanned by TapScanner

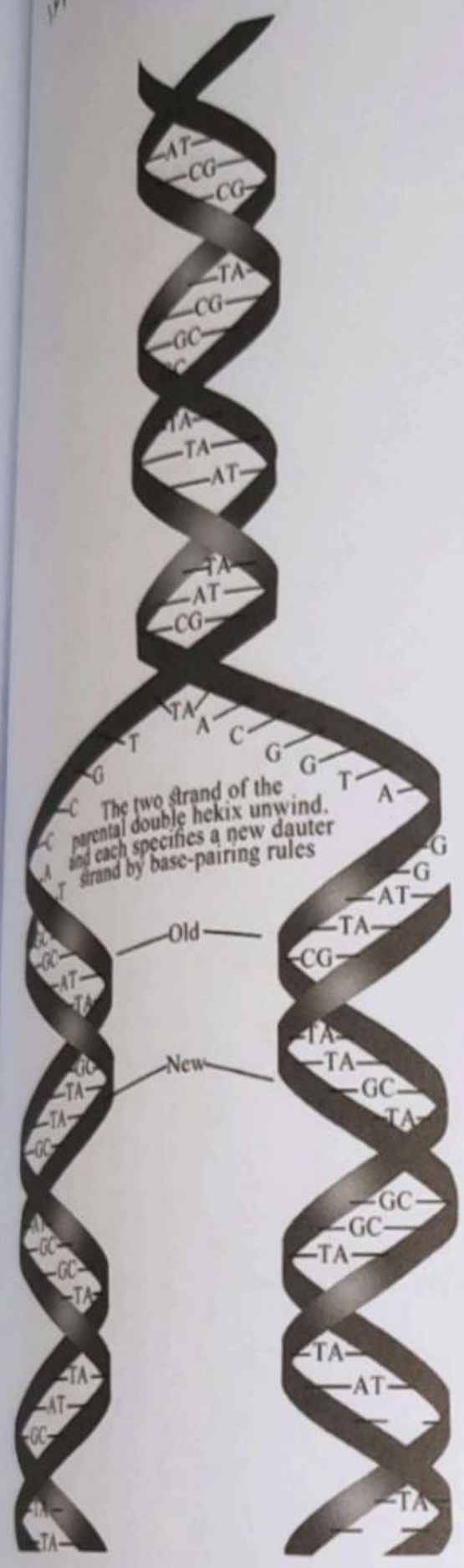
۱-۶ مقدمه

به کلیه واکنش‌هایی که منجر به پلیمریزاسیون دی‌اکسی ریبونوکلئوتیدها و ساخته‌شدن زنجیره جدید DNA می گردد همانندسازی DNA گفته می‌شود.

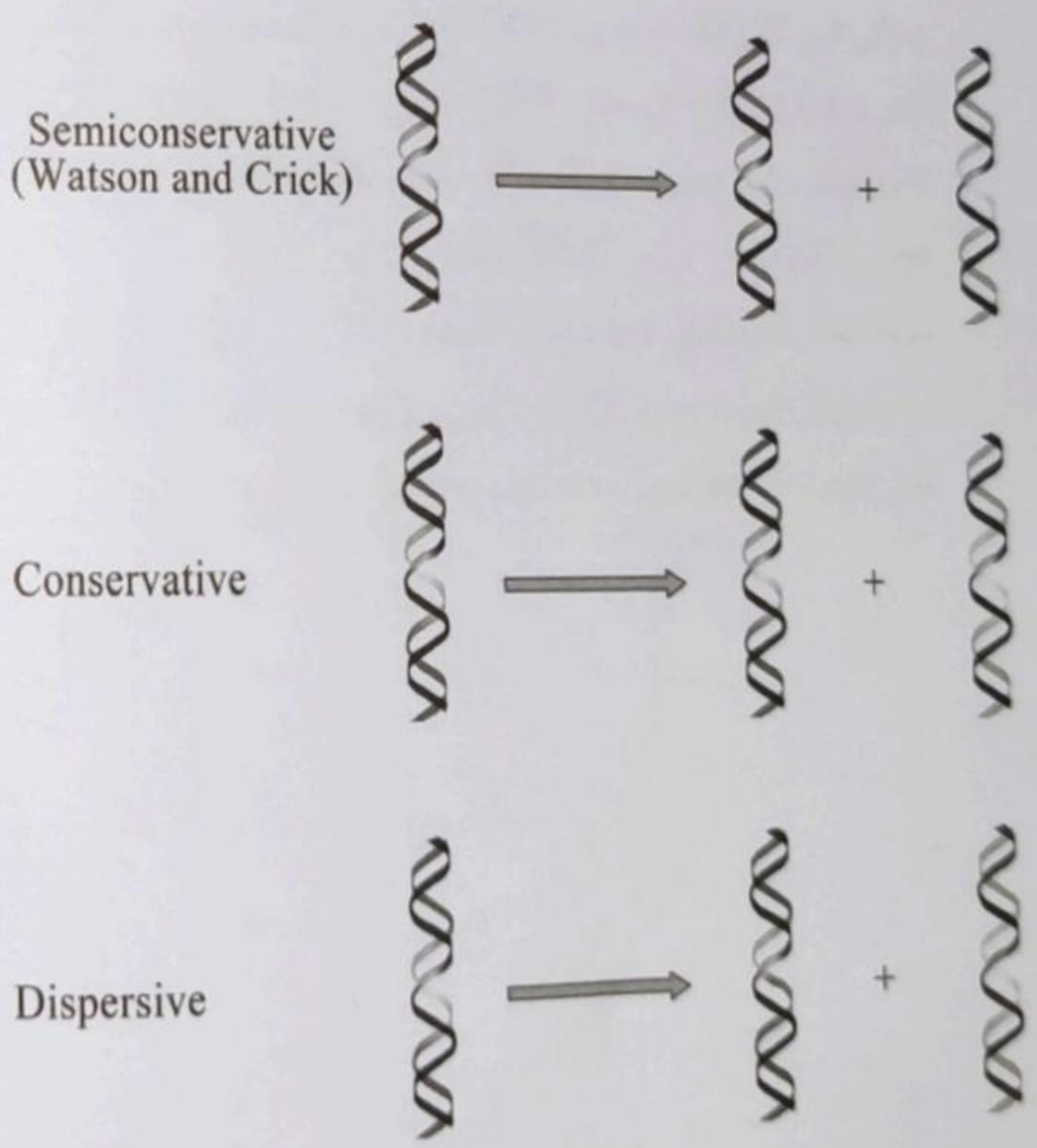
واتسون و کریک در سال ۱۹۵۳ ساختمان دو رشته‌ای و مارپیچ DNA Duplex را پیشنهاد کردند. در همان زمان آن‌ها فرضیه نیمه حفاظتی Semi-Conservative برای همانندسازی مولکول DNA را نیز ارائه نمودند. طبق این فرضیه هر رشته DNA به‌عنوان الگو برای ساخته‌شدن رشته‌ای جدید استفاده می‌شود که نهایتاً دو مولکول DNA جدید به وجود می‌آیند که هر مولکول دارای یک رشته قدیمی و یک رشته جدید مکمل آن خواهد بود (شکل ۱-۶).

در همان زمان دو فرضیه دیگر تحت عنوان فرضیه حفاظتی Conservative و فرضیه ترکیبی Dispersive نیز برای همانندسازی DNA مطرح بودند. طبق فرضیه حفاظتی Conservative در طی همانندسازی وقتی یک مولکول DNA به دو مولکول تبدیل می‌شود یکی از مولکول‌های DNA هر دو رشته آن قدیمی و مولکول دیگر هر دو رشته آن جدید می‌باشند. طبق فرضیه ترکیبی Dispersive هر رشته DNA موجود در هر مولکول، ترکیبی از به هم پیوستن قطعات کوتاه رشته قدیمی و جدید DNA هستند (شکل ۲-۶).

بعداً در سال ۱۹۵۷ میلادی در طی آزمایش‌هایی که توسط مزلسون و استال با



شکل ۱-۶: همانندسازی به طریق نیمه حفاظتی



شکل ۲-۶: سه نوع فرضیه برای تشریح مکانیسم همانندسازی DNA

Scanned by TapScanner

استفاده از نیتروژن نشان‌دار ^{15}N روی کشت باکتری انجام شد درست بودن فرضیه نیمه حفاظتی واتسون و کریک اثبات شد.

تحقیقات اولیه روی همانندسازی DNA و آنزیم‌ها مربوطه در باکتری انجام شد. بعداً نشان داده شد که خصوصیات اصلی مکانیسم همانندسازی در سایر موجودات یوکاریوتی نیز با آنچه در باکتری‌ها انجام می‌گیرد شباهت دارد.

۲-۶ مبدأ همانندسازی Replication origin:

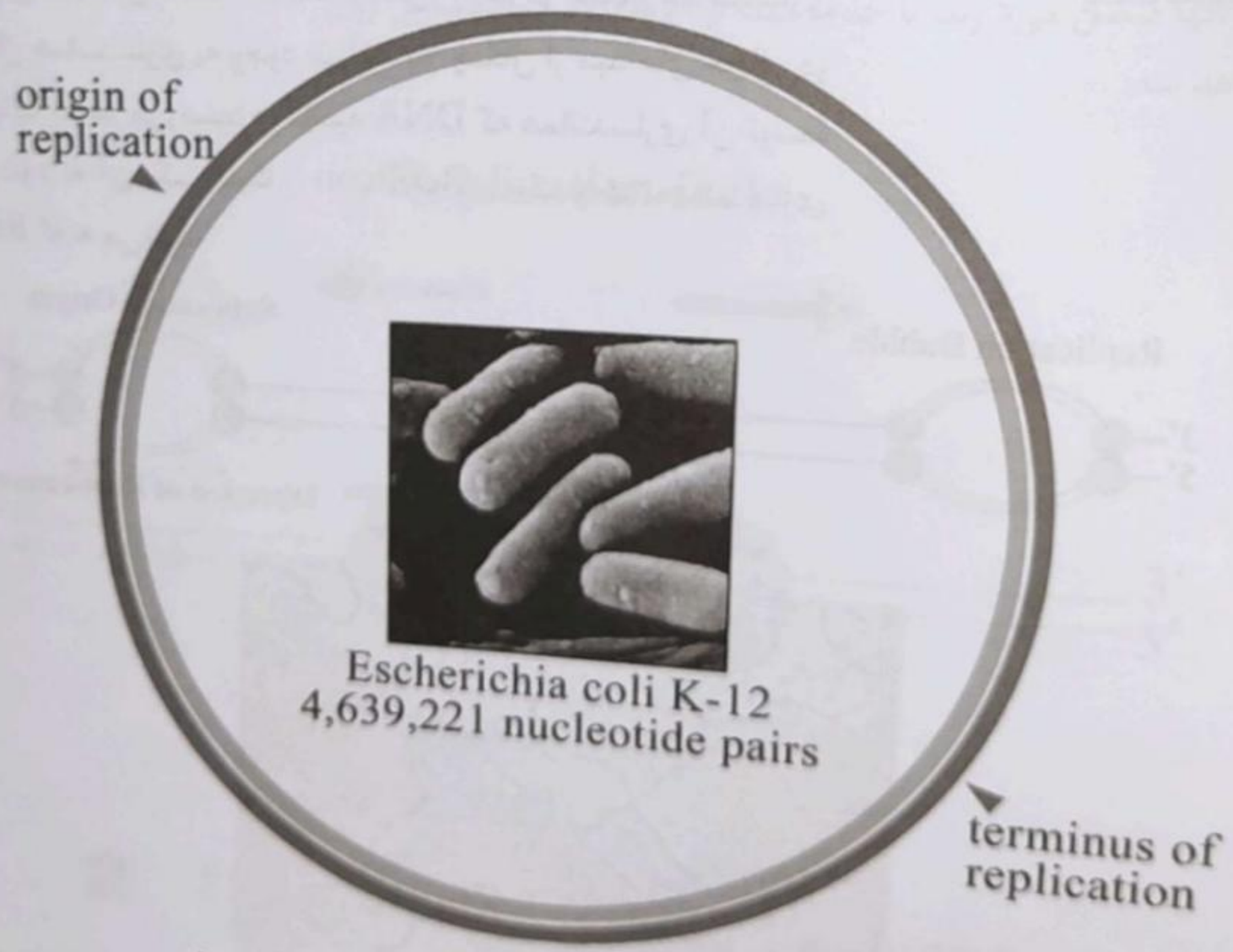
دو سؤال مهم در مورد نحوه همانندسازی DNA قابل طرح است:

۱. آیا همانندسازی در نقطه خاصی از DNA شروع می‌شود و یا به‌صورت تصادفی از هرجایی از کروموزوم می‌تواند انجام شود؟

۲. آیا همانندسازی DNA به‌صورت یک‌طرفه یا دوطرفه انجام می‌شود؟

در پاسخ به سؤال اول آزمایش‌ها نشان دادند که همانندسازی همیشه در نقطه خاصی از مولکول DNA که به آن مبدأ همانندسازی Replication origin گفته می‌شود شروع می‌شود (شکل ۳-۶).

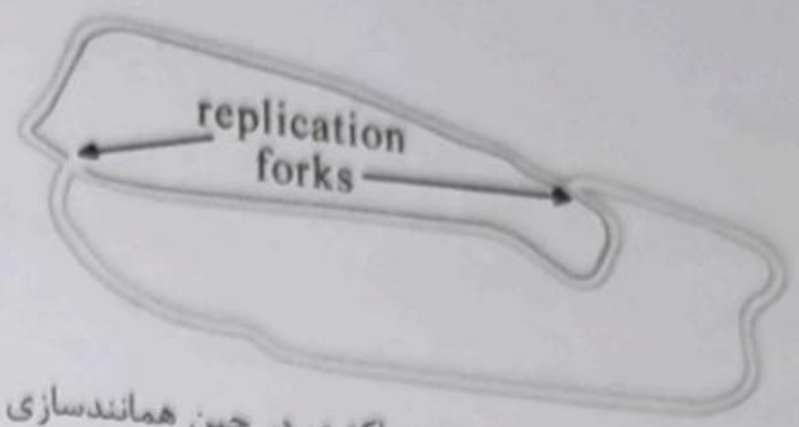
محلی که روی کروموزوم دو رشته مکمل DNA از هم جدا می‌شوند و نوکلئوتیدها به هر یک از زنجیره‌های جدید DNA اضافه می‌شود چنگال همانندسازی Replication Fork گفته می‌شود. با باز شدن دو رشته مکمل DNA در نقطه مبدأ origin دو چنگال Fork به وجود می‌آید که در مورد کروموزوم حلقوی باکتری‌ها در



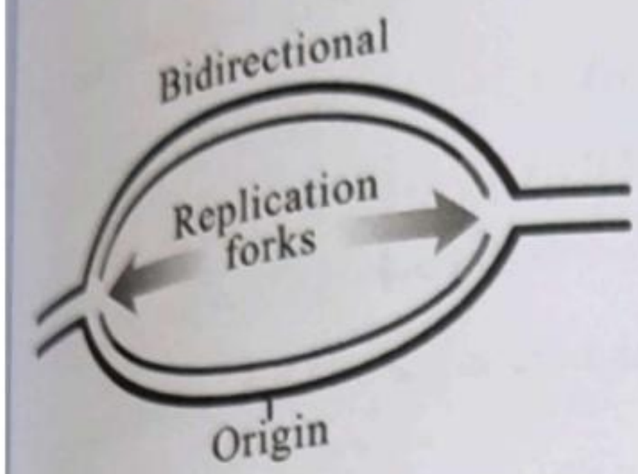
شکل ۳-۶: کروموزوم باکتری E. Coli و نقطه مبدا و خاتمه همانندسازی

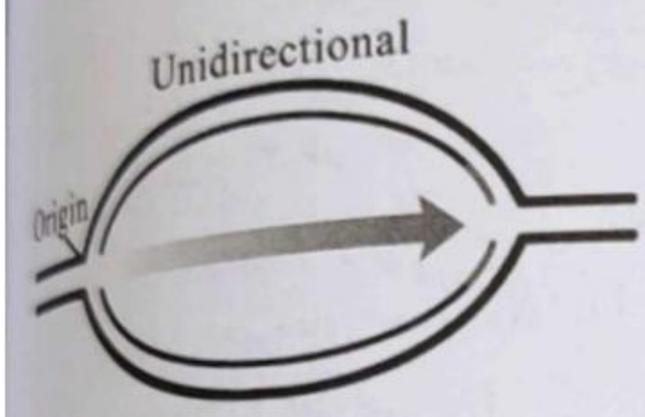
Scanned by TapScanner





شکل ۶-۴: عکس میکروسکوپ کروموزوم باکتری در حین همانندسازی (عکس سمت چپ) و تصویر شماتیک آن (سمت راست) موقعیت فورک‌ها را نشان می‌دهد.



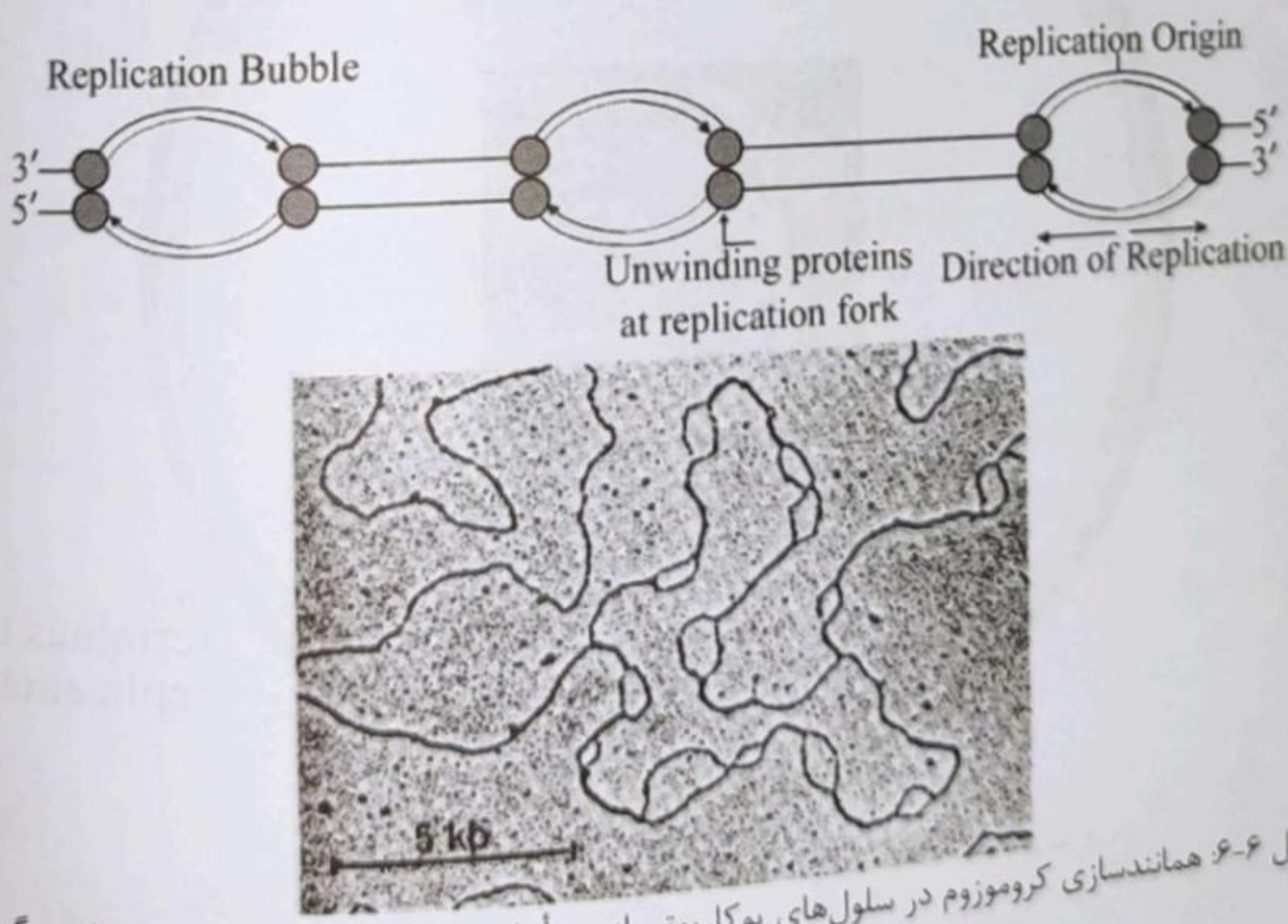


شکل ۶-۵: نحوه همانندسازی دوطرفه (بالا) و یک‌طرفه(پایین)

محل خاتمه همانند سازی دو چنگال همانندسازی در نقطه‌ای مقابل نقطه مبدأ که به آن نقطه خاتمه Terminus گفته می‌شود به هم می‌رسند.

در پاسخ به سؤال دوم در مورد یک‌طرفه یا دوطرفه بودن همانندسازی باید گفت که در همه موجودات اعم از پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها و اغلب ویروس‌ها رشد زنجیره DNA از نقطه مبدأ به‌صورت دوطرفه Bidirectional انجام می‌شود همانندسازی یک‌طرفه Unidirectional تنها در بعضی از ویروس‌ها انجام می‌شود (شکل ۶-۵).

کروموزوم حلقوی باکتری E.Coli از ۴۶۳۹۲۲۱ جفت نوکلئوتید تشکیل شده است و همانندسازی کروموزوم در ۲۰ دقیقه که زمان رشد و تقسیم یک باکتری است کامل می‌شود. در موجودات یوکاریوتی کروموزوم ساختمان پیچیده‌تری دارد و به‌صورت کمپلکس با پروتئین (کروماتین) وجود دارد و تعداد کروموزوم نیز بیشتر از یک عدد است و اندازه ژنوم (کل ماده ژنتیکی در هر سلول) نیز بیشتر از باکتری‌ها است. برای مثال اندازه ژنوم انسان سه میلیارد جفت نوکلئوتید است و هر کروموزوم به‌طور متوسط از ۱۳۰ میلیون جفت نوکلئوتید تشکیل شده است کروموزوم‌های طویل خطی یوکاریوتی دارای مبدأهای متعدد هستند (شکل ۶-۶). در هنگام همانندسازی در هر مبدأ دو چنگال همانندسازی به وجود می‌آید. دو چنگال از مبدأهای مجاور در طی همانندسازی نهایتاً به هم می‌رسند. هر ناحیه DNA که همانندسازی آن توسط یک مبدأ انجام می‌شود به آن یک رپلیکان Replicon یا یک واحد همانندسازی Replication unit گفته می‌شود.



شکل ۶-۶: همانندسازی کروموزوم در سلول‌های یوکاریوتی از مبدأهای متعدد روی هر کروموزوم انجام می‌گیرد

Scanned by TapScanner

۴-۶فرایند همانندسازی DNA را به سه مرحله می‌توان تقسیم کرد:

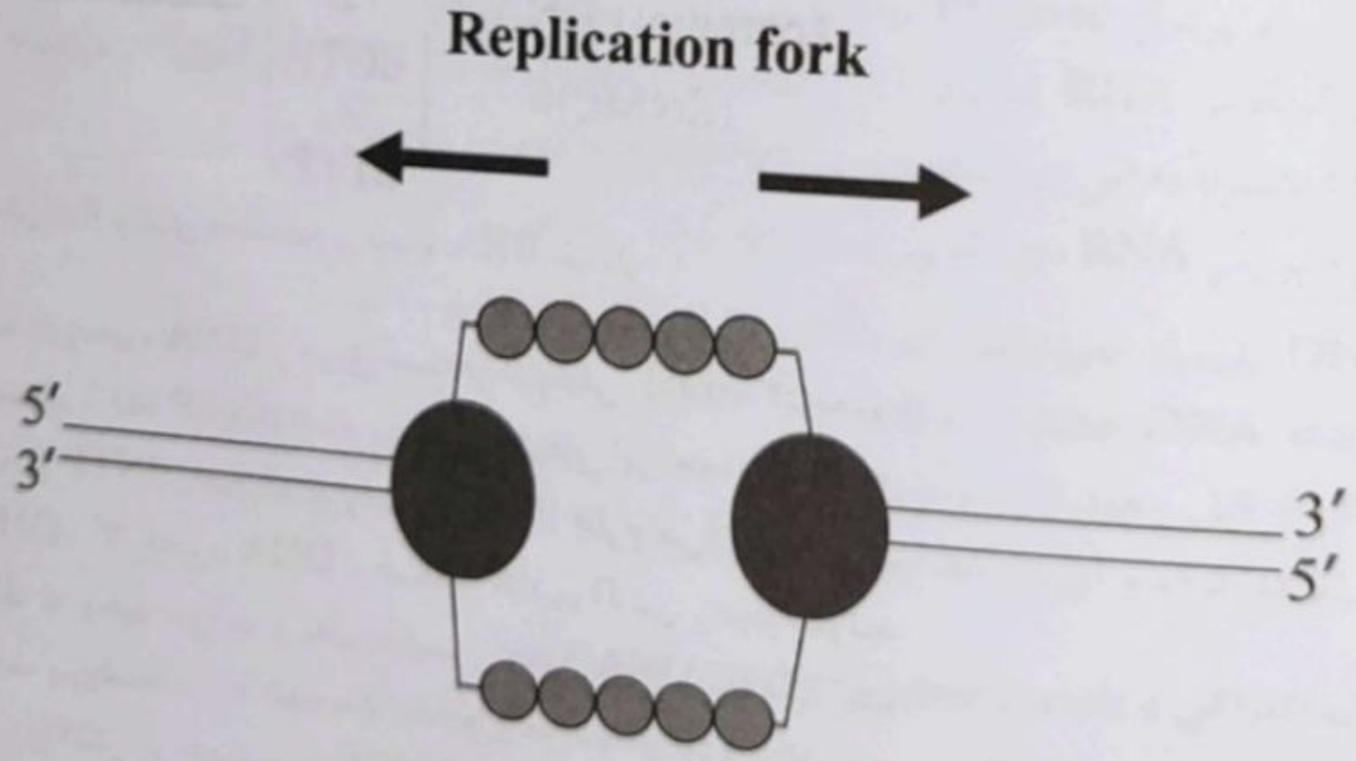
مرحله شروع Initiation، مرحله طویل شدن و رشد زنجیره Elongation و مرحله خاتمه Termoination.

در باکتری E.Coli، به مبدأ همانندسازی Ori C گفته می‌شود که شامل ۲۴۵ جفت باز است. مبدأ همانندسازی توسط یک پروتئین دارای چند زیر واحد-multisub unit به نام کمپلکس شناسایی مبدأ(Origin recognition complex (ORC شناسایی می‌شود.

ORC با مصرف ATP به مبدأ همانندسازی متصل می‌شود. پروتئین‌هایی که به مبدأ همانندسازی متصل می‌شوند باعث باز شدن دو رشته DNA در آن محل می‌شوند تا همانندسازی بتواند در محل مبدأ شروع شود.

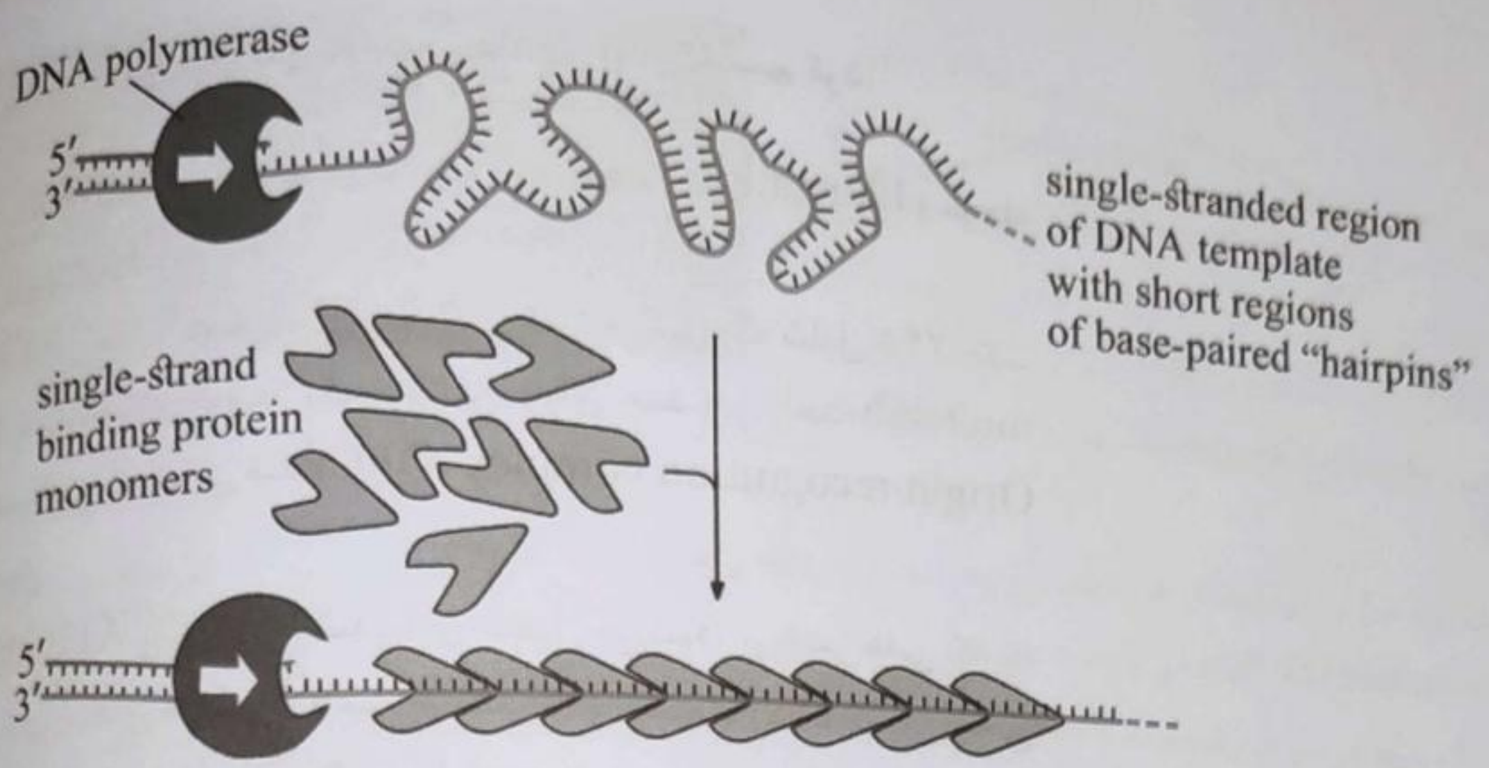
بعد از جدا شدن دو رشته مکمل DNA از هم پروتئین‌هایی به نام «پروتئین متصل شونده به تک رشته» Single Strand Binding (SSB) protein به سرتاسر تک زنجیره‌های DNA متصل می‌شود و از به هم پیوستن مجدد دو رشته مکمل به هم و تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین بازها در درون یک زنجیره (تاخوردگی تک زنجیره‌ها) جلوگیری می‌کنند (شکل‌های ۶-۷b و ۶-۷a).

مبدأ همانند سازی بر روی کروموزوم باکتری دارای ویژگی‌های خاصی است از جمله غنی از جفت بازAT (AT rich) می‌باشد که به دلیل سست بودن اتصال A و T باز شدن دو رشته مکمل در مبدأ راحت انجام می‌شود. دیگر این‌که ناحیه مبدأ دارای توالی‌های تکراری است که توسط پروتئین‌های خاص در ابتدای همانندسازی شناسایی شده و به آنها متصل می‌شوند. با حذف مبدأ از کروموزوم همانندسازی روی DNA شروع نخواهد شد.



شکل ۶-۷a: اتصال SSB پروتئین به تک زنجیره‌های DNA پس از جدا شدن دو رشته مکمل DNA از هم

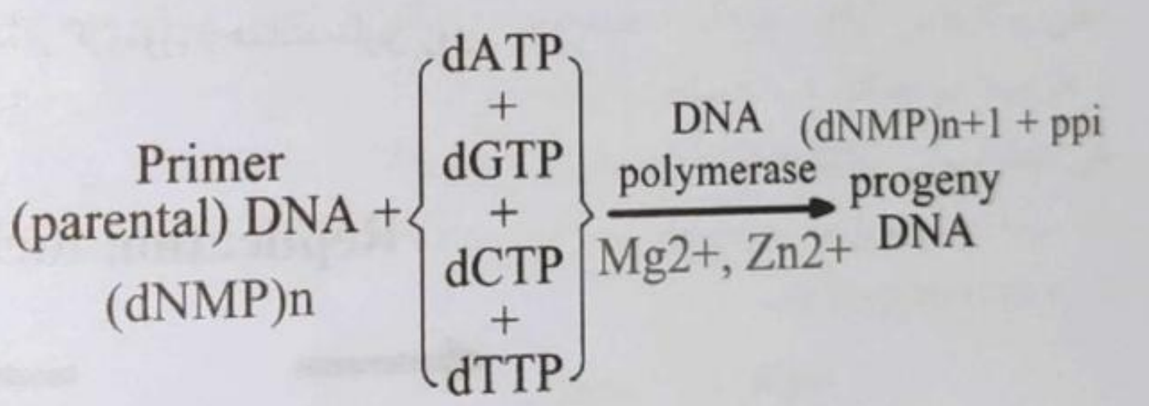
Scanned by TapScanner



شکل ۶-۷b: اتصال SSB پروتئین به تک رشته‌های DNA

۶-۴ مکانیسم ساخته‌شدن DNA

رشته DNA جدید همیشه از جهت ۳′ → ۵′ ساخته می‌شود؛ یعنی همیشه نوکلئوتید جدید به OH- انتهای ۳′ زنجیره جدید DNA اضافه می‌شود. رشته الگو از جهت ۵′ → ۳′ توسط DNA پلیمراز خوانده می‌شود. همانندسازی DNA یک واکنش شیمیایی است و آنزیم DNA پلیمراز برای عمل نیاز به ۴ نوع دی اکسی ریبونوکلئوتید تری فسفات dNTP و الگوی DNA و کاتیون‌های روی Zn^{2+} و Mg^{2+} دارد (شکل ۶-۸).

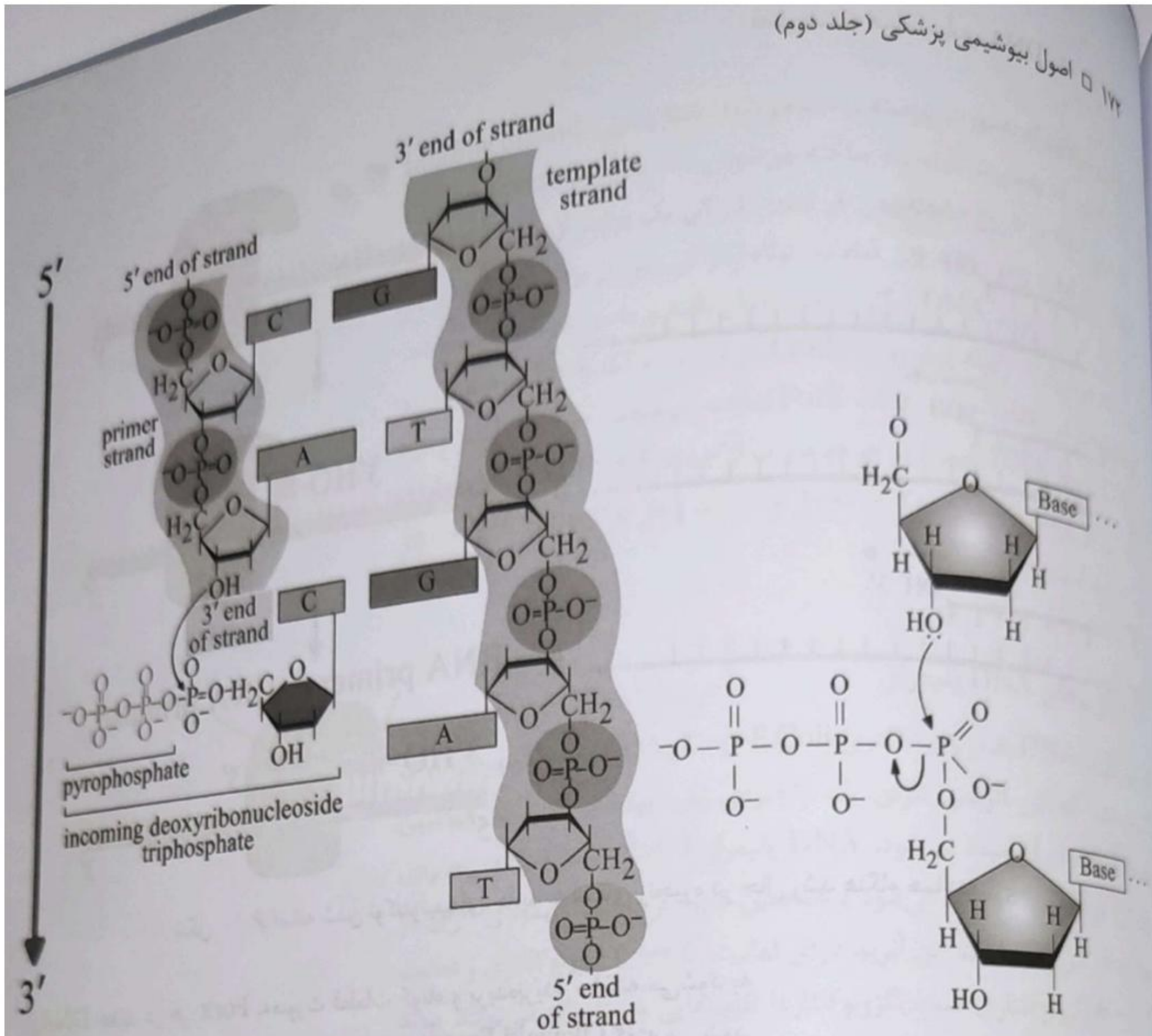


شکل ۶-۸: واکنش همانندسازی توسط DNA پلیمراز

اضافه شدن نوکلئوتید به زنجیره DNA از طریق حمله نوکلئوفیلی OH- ۳′ زنجیره DNA به فسفات شماره ۱ (α) dNTP انجام می‌گیرد. در طی این حمله گروه‌های فسفات ۲ و ۳ (β,γ) از dNTP به‌صورت پیروفسفات (PPi) خارج می‌شوند و پیوند جدید استری بین OH- ۳′ زنجیره DNA و فسفات α دی اکسی ریبونوکلئوتید مونوفسفات dNMP به وجود می‌آید و به‌این‌ترتیب زنجیره DNA به‌اندازه یک نوکلئوتید رشد می‌یابد. پیروفسفات آزاد شده بعداً هیدرولیز می‌شود و انرژی آزاد شده موجب یک‌طرفه شدن واکنش در جهت سنتز DNA پیش خواهد رفت (شکل ۶-۹).

همه DNA پلیمرازها نیاز به الگو دارند اینکه چه نوکلئوتیدی باید به زنجیره جدید اضافه شود توسط زنجیره الگو DNA تعیین می‌شود. همچنین DNA پلیمرازها نیاز به رشته شروع‌کننده یا پرایمر دارند. پرایمر رشته‌ای با OH- آزاد در انتهای

Scanned by TapScanner



شکل ۹-۶: جهت همانندسازی و نحوه تشکیل پیوندهای فسفو دی استری بین نوکلئوتید جدید و زنجیره در حال رشد

۳′ است که نوکلئوتید جدید به آن اضافه می‌شود. بیشتر پرایمرها از جنس RNA هستند که در ابتدا توسط آنزیم دیگری غیر از DNA پلیمراز ساخته می‌شوند. پرایمر در باکتری‌ها توسط آنزیم پریماز Primase ساخته می‌شوند؛ بنابراین ابتدا آنزیم Primase قطعه‌ای کوتاه از RNA (حدود ۳۰ نوکلئوتید) مکمل رشته DNA می‌سازد و بعد DNA پلیمراز به این دو رشته هیبرید RNA/DNA متصل می‌شود و به انتهای ۳′ زنجیره پرایمر RNA دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را اضافه می‌کند.

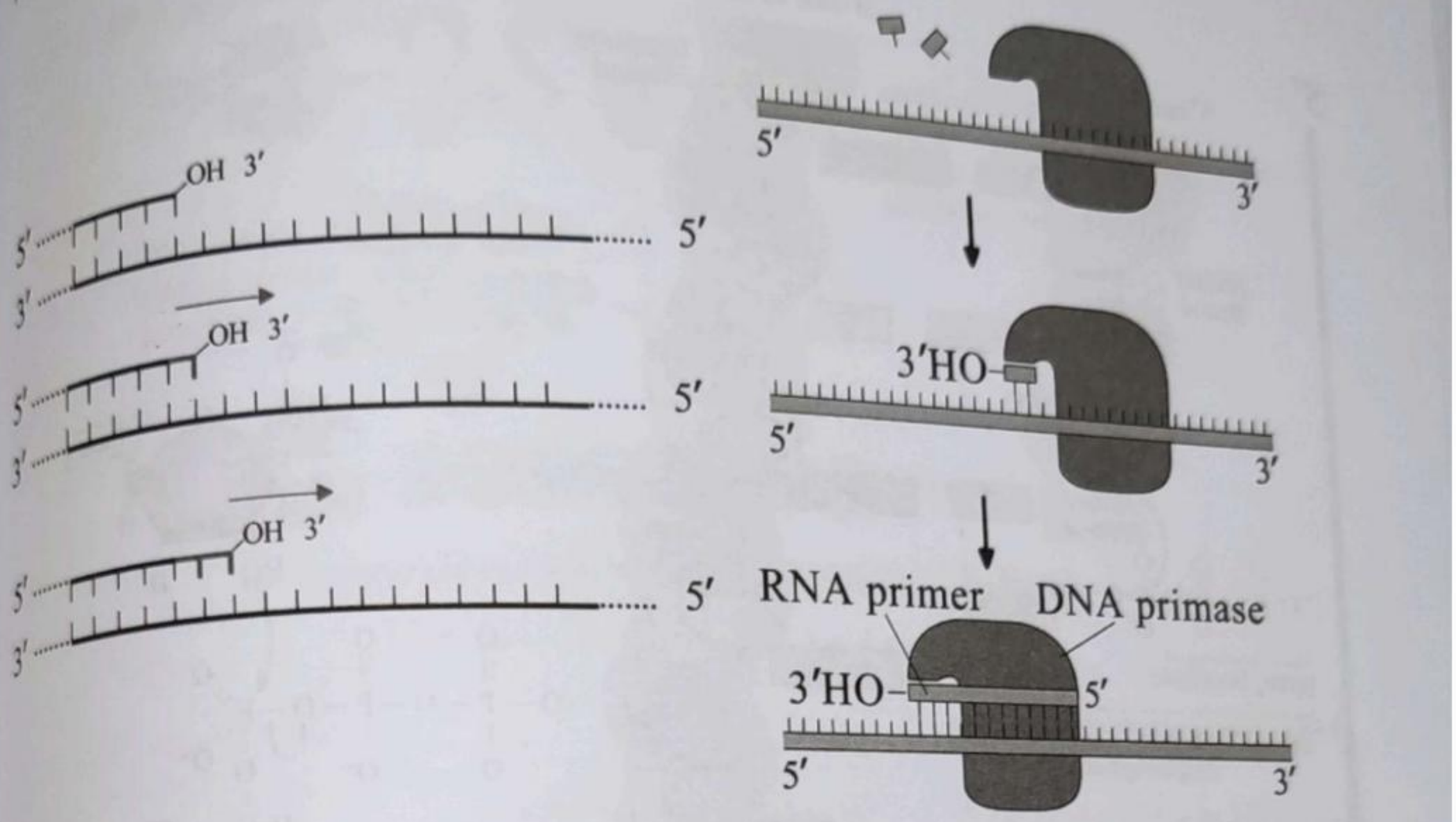
اکثر آنزیم‌های DNA پلیمراز نمی‌توانند دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را از صفر پلیمریزه کرده و رشته DNA جدید را بسازند. بلکه همان‌طور که اشاره شد به انتهای زنجیره‌ای که از قبل وجود دارد و به آن پرایمر گفته می‌شود دی اکسی ریبونوکلئوتیدها را اضافه کرده و آن را رشد می‌دهند.(شکل ۱۰-۶)

۶-۵ سنتز قطعات اکازاکی و پلیمریزاسیون رشته پیش رو و پس رو

همان‌طور که قبلاً ذکر شد آنزیم DNA پلیمراز زنجیره جدید DNA را فقط در جهت ۳′ → ۵′ می تواند بسازد. سؤالی که مطرح می‌شود چگونه آنزیم می‌تواند مکمل هر دو رشته DNA را در هر چنگال Fork بسازد درحالی‌که در جهت حرکت Fork حرکت می‌کند و جهت دو رشته الگو نیز خلاف جهت هم می‌باشد؟

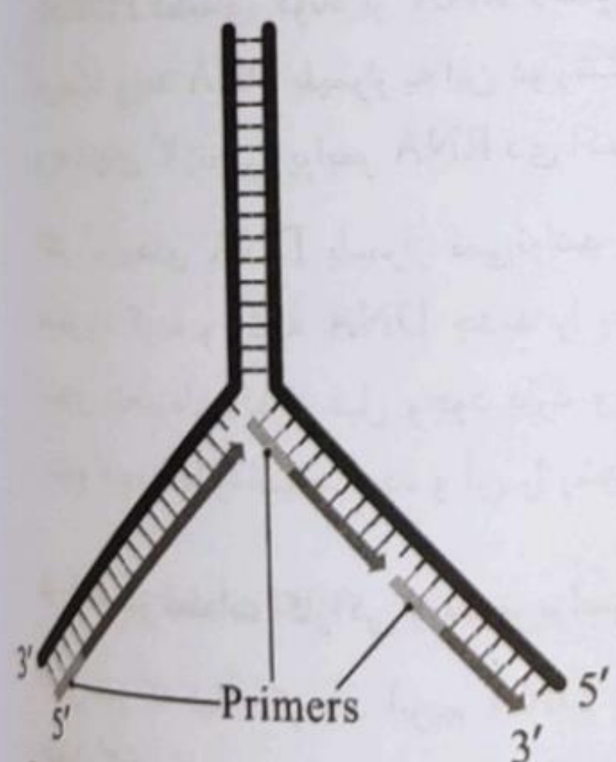
این سؤال در مورد همانندسازی DNA در سال ۱۹۶۰ توسط دانشمند ژاپنی بنام اکازاکی (Reji okazaki) پاسخ داده شد. اکازاکی پیشنهاد کرد که یکی از رشته‌های

Scanned by TapScanner

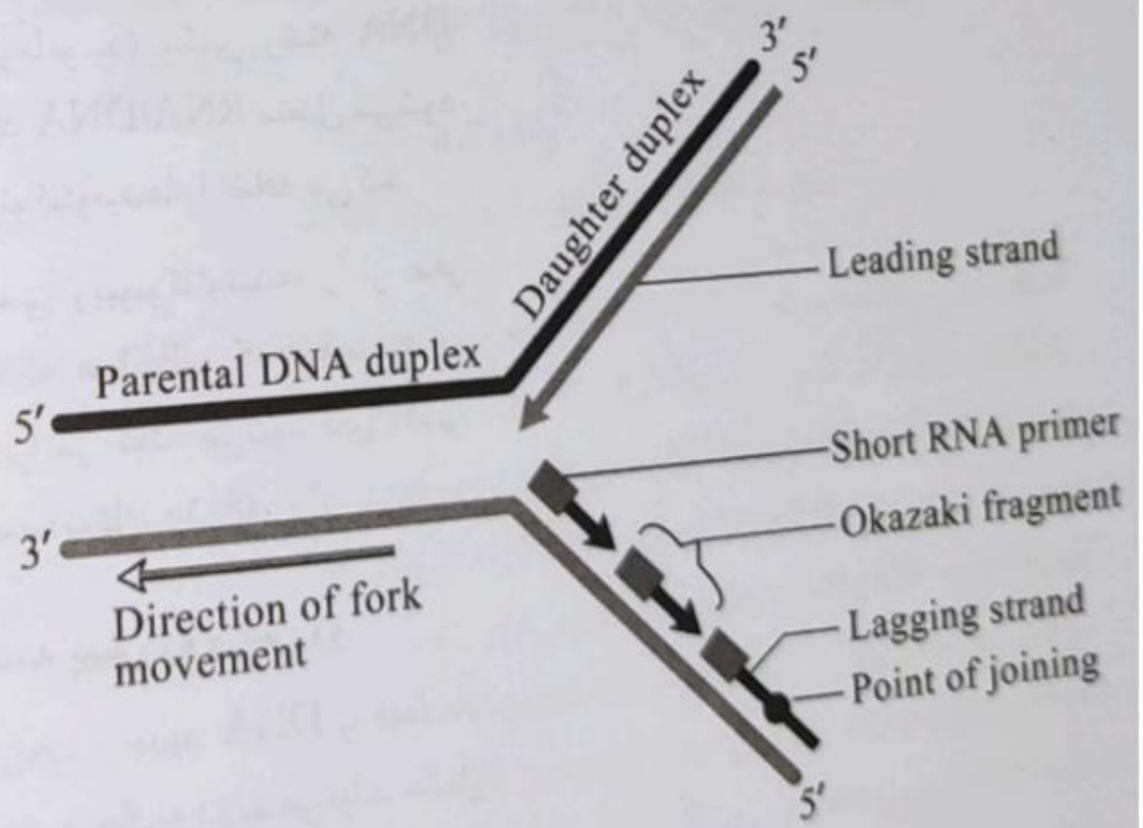


شکل ۱۰-۶: اضافه شدن نوکلئوتیدهای جدید به انتهای زنجیره در حال رشد هنگام همانندسازی

DNA جدید در هر Fork به‌صورت قطعات کوتاه و بریده‌بریده ساخته می‌شود به این قطعات منقطع DNA قطعات اکازاکی Okazaki Fragments گفته می شود. پیدا شدن قطعات اکازاکی منجر به این نتیجه‌گیری شد که در هر Fork یکی از زنجیره‌های جدید DNA به‌صورت پیوسته و زنجیره جدید مقابل به‌صورت ناپیوسته ساخته می‌شوند که بعداً به هم متصل می‌شوند (شکل ۱۱-۶).



شکل ۱۱b-۶: قطعات اکازاکی و رشته‌های پیش‌رو و پس‌رو DNA



شکل ۱۱a-۶: نحوه ساخته شدن رشته پیش رو و پس رو در هر چنگال همانندسازی

Scanned by TapScanner

به آن رشته‌ای که به‌صورت پیوسته ساخته می‌شود رشته پیش‌رو Leading Strand و رشته‌ای که به‌صورت ناپیوسته ساخته می‌شود رشته پس‌رو Lagging strand گفته می‌شود. در شروع ساخته‌شدن هر قطعه اکازاکی یک پرایمر از جنس RNA در انتهای '۵ قطعه وجود دارد. این قطعات کوتاه اکازاکی پس از برداشته شدن پرایمر RNA، توسط آنزیم DNA لیگاز به هم اتصال یافته و به‌صورت یک زنجیره بلند پیوسته درمی‌آیند. رشته پیش‌رو Leading در جهت حرکت Fork و رشته پس‌رو Lagging در خلاف جهت حرکت Fork ساخته می‌شوند؛ اما جهت سنتز رشته DNA توسط DNA پلیمراز در هر دو صورت از جهت '۳ ← '۵ است. طول قطعات اکازاکی در پروکاریوت‌ها ۲۰۰۰ - ۱۰۰۰ نوکلئوتید و در یوکاریوت‌ها ۲۰۰ - ۱۵۰ نوکلئوتید است.

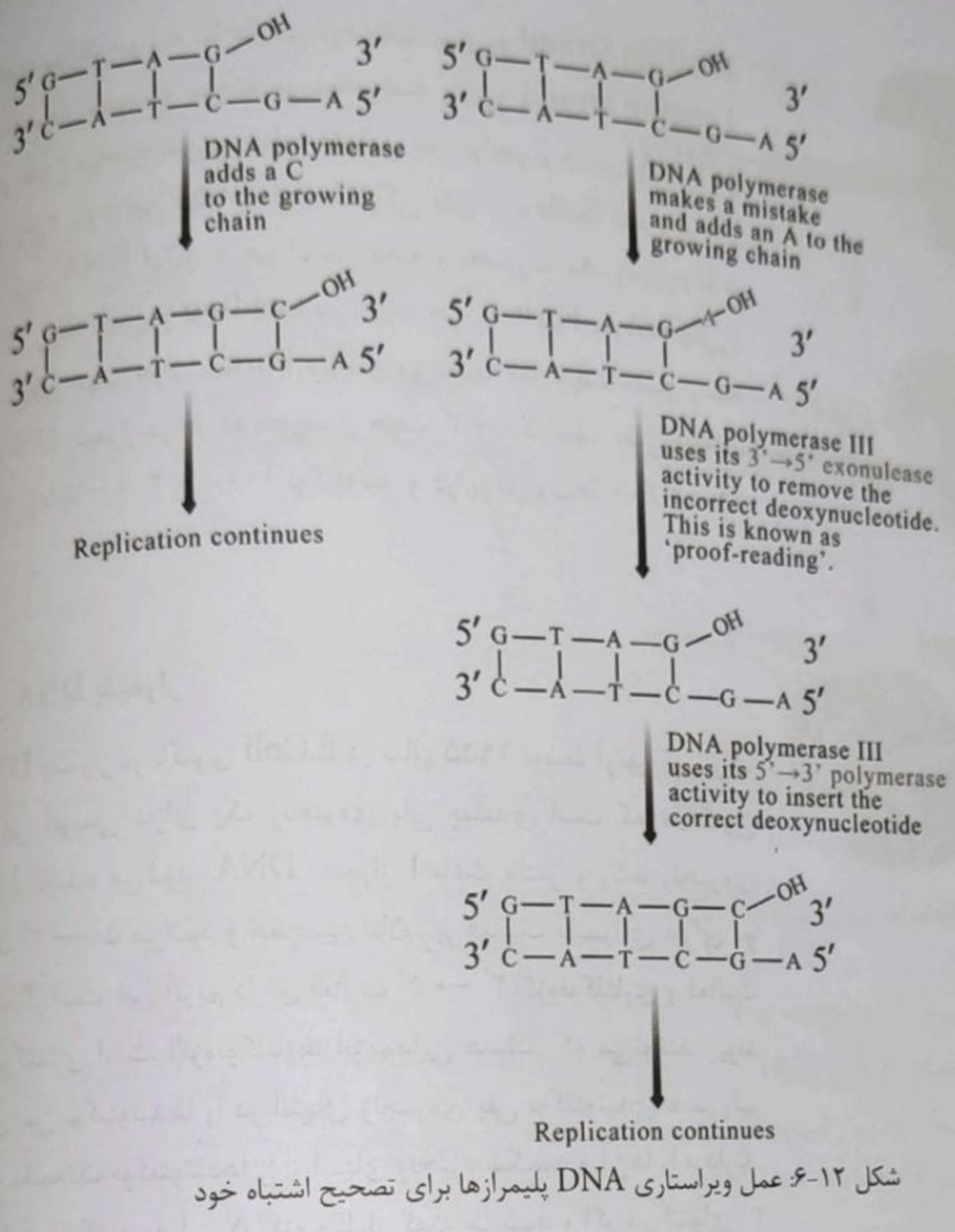
۶-۶ آنزیم‌های DNA پلیمراز

اولین آنزیم DNA پلیمراز در باکتری E.Coli در سال ۱۹۵۵ توسط آرتور کورنبرگ کشف شد که این آنزیمی دارای یک زنجیره‌ی پلی پپتیدی است که هم‌اکنون DNA پلیمراز I نامیده می‌شود. DNA پلیمراز I باعث سنتز و رشد زنجیره‌ی DNA در جهت '۳ ← '۵ می‌شود و همچنین علاوه بر فعالیت پلیمرازی دارای دو فعالیت آنزیمی دیگر است. این آنزیم دارای فعالیت '۵ ← '۳ اگزونوکلئازی و فعالیت '۳ ← '۵ اگزونوکلئازی است. اگزونوکلئازها آنزیم‌هایی هستند که می‌توانند پیوند فسفودی استری بین نوکلئوتیدها را در انتهای زنجیره‌ی پلی نوکلئوتیدی هیدرولیز کنند و درنتیجه تک‌به‌تک نوکلئوتیدها را از انتهای زنجیره شکسته و آن‌ها را بردارند. اگر در انتهای '۵ عمل کنند به آن '۵ اگزونوکلئاز گفته می‌شود و اگر در انتهای '۳ زنجیره عمل کنند به آن '۳ اگزونوکلئاز گفته می‌شود. آنزیم DNA پلیمراز I دارای هر دو نوع فعالیت اگزونوکلئازی می‌باشد.

در مورد کاربرد و نقش بیولوژیک فعالیت اگزونوکلئازی این آنزیم در زیر توضیح داده شده است.

همانندسازی DNA با دقت بسیار بالا انجام می‌شود. در باکتری به ازای هر 10^{9}-10^{10} نوکلئوتید که پلیمریزه می‌شوند یک اشتباه اتفاق می‌افتد. با توجه به‌اندازه کروموزوم باکتری که دارای ۴/۶ میلیون جفت باز است تنها یک اشتباه به ازای ۱۰۰۰ تا ۱۰/۰۰۰ بار همانندسازی کامل کروموزوم در باکتری وقوع می‌یابد. دقت و صحت بالای عمل آنزیم‌های DNA پلیمراز به دلیل فعالیت '۵ ← '۳ اگزونوکلئازی آن‌هاست. بعدازاینکه آنزیم نوکلئوتید جدید را به انتهای '۳ زنجیره DNA اضافه می‌کند کار خود را مجدداً کنترل می‌کند که آیا نوکلئوتید اضافه شده درست بوده و مکمل نوکلئوتید مقابل در رشته الگو می‌باشد یا نه؟ اگر نوکلئوتید جدید اشتباهاً اضافه شده باشد آنزیم با استفاده از فعالیت '۳ - اگزونوکلئازی خود آن را هیدرولیز نموده و از انتهای زنجیره برمی‌دارد و مجدداً نوکلئوتید صحیح را جایگزین می‌کند که مکمل نوکلئوتید رشته الگو باشد. به این فعالیت آنزیم عمل ویراستاری Proof-reading گفته می‌شود (شکل ۱۲-۶).

Scanned by TapScanner



شکل ۱۲-۶: عمل ویراستاری DNA پلیمرازها برای تصحیح اشتباه خود

عمل ویراستاری آنزیم صحت پلیمریزاسیون را ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر افزایش می‌دهد مکانیسم‌های دیگر ترمیمی نیز در سلول وجود دارد که باوجود عملکرد ویراستاری آنزیم، بعد از همانندسازی باز اگر اشتباهی در DNA وجود داشته باشد آن‌ها را تشخیص داده و ترمیم می‌کند به این دسته از آنزیم‌ها که در ترمیم DNA نقش دارند آنزیم‌های ترمیمی نوکلئوتیدهای ناجور Mismatch Repair Enzymes گفته می‌شود.

علاوه بر DNA پلیمراز I در باکتری E.Coli ۴ نوع آنزیم DNA پلیمراز دیگر نیز یافت شده است؛ که به‌صورت اعداد لاتین II و III و IV و V شماره‌گذاری می‌شوند. اگرچه DNA پلیمراز I فراوان‌ترین آنزیم DNA پلیمراز در باکتری E.Coli است (۹۰٪ از فعالیت DNA پلیمرازی باکتری) ولی آنزیم اصلی برای همانندسازی کروموزوم باکتری نیست. آنزیم اصلی برای همانندسازی کروموزوم باکتری DNA پلیمراز III می‌باشد.

آنزیم DNA پلیمراز III نیز دارای فعالیت '۳ اگزونوکلئازی بوده بنابراین همانند آنزیم DNA پلیمراز I دارای توانایی تصحیح اشتباه می‌باشد. ولی فاقد فعالیت '۵ اگزونوکلئازی است.

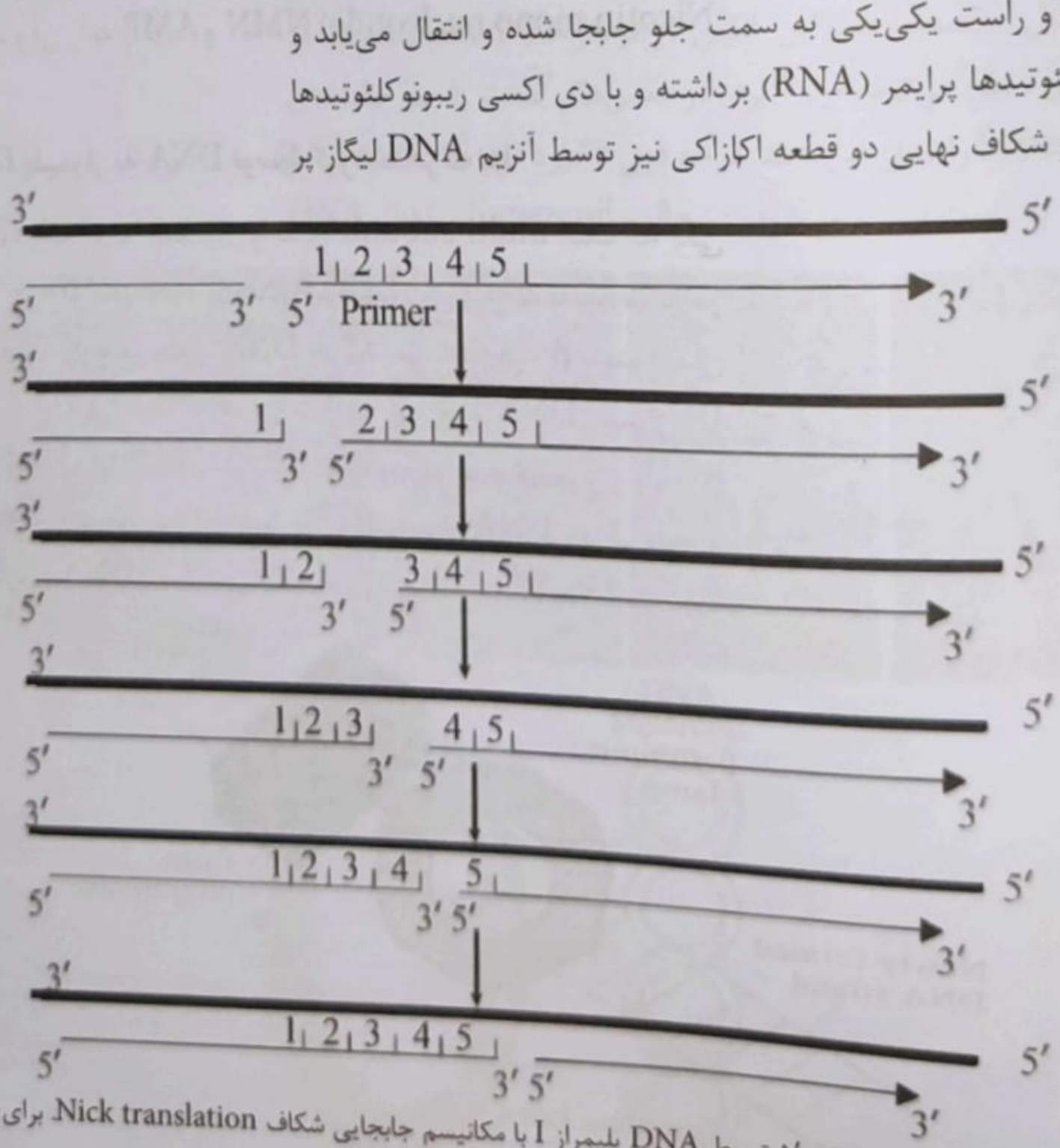
آنزیم‌های DNA پلیمراز IV و V در سال ۱۹۹۹ در باکتری شناسایی شده‌اند.

Scanned by TapScanner

آنزیم‌های پلیمراز دیگر غیر از پلیمراز اصلی (DNA پلیمراز III) اکثراً در ترمیم DNA آسیب‌دیده و پدیده نوترکیبی (recombination) در باکتری شرکت دارند. همان‌طور که قبلاً اشاره شد آنزیم DNA پلیمراز I علاوه بر فعالیت '۳ – اگزونوکلئازی دارای فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی نیز است. کاربرد فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی آنزیم DNA پلیمراز I برای برداشتن پرایمر RNA از انتهای '۵ رشته DNA اکازاکی می‌باشد. این آنزیم با استفاده از فعالیت '۵ – اگزونوکلئازی خود در طی فرآیندی که به آن جابجایی شکاف Nick translation گفته می‌شود بعد از ساخته‌شدن هر قطعه DNA اکازاکی پرایمر RNA را از انتهای '۵ قطعات DNA به طریقی که در شکل ۱۳-۶ نشان داده شده برمی‌دارد.

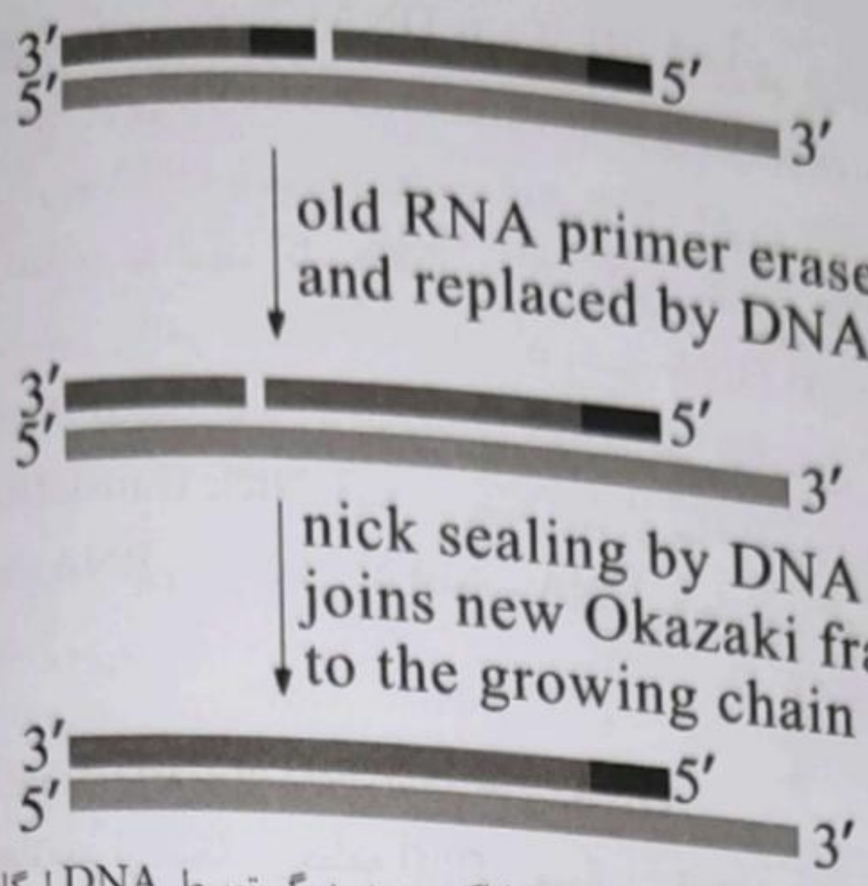
۶-۷ برداشته شدن پرایمر RNA از ابتدای رشته های DNA

برای برداشته شدن پرایمرها، بعد از اینکه دو قطعه اکازاکی متوالی ساخته‌شدن آن‌ها کامل شد آنزیم DNA پلیمراز I با استفاده از فعالیت آنزیمی '۵ اگزونوکلئازی خود یکی‌یکی ریبونوکلئوتیدها ی پرایمر را از انتهای '۵ قطعه اکازاکی دوم (سمت راست در شکل ۱۳-۶) برمی‌دارد و بجای هر ریبونوکلئوتید برداشته‌شده یک دی اکسی ریبونوکلئوتید مکمل رشته الگو به انتهای '۳ قطعه اکازاکی قبلی (سمت چپ در شکل ۱۳-۶) اضافه می‌کند. در طی این فرآیند شکاف Nick موجود بین دو قطعه اکازاکی سمت چپ و راست یکی‌یکی به سمت جلو جابجا شده و انتقال می‌یابد و نهایتاً تمام ریبونوکلئوتیدها پرایمر (RNA) برداشته و با دی اکسی ریبونوکلئوتیدها جایگزین می‌شوند و شکاف نهایی دو قطعه اکازاکی نیز توسط آنزیم DNA لیگاز پر



شکل ۱۳-۶: برداشته شدن پرایمر از انتهای '۵ توسط DNA پلیمراز I با مکانیسم جابجایی شکاف Nick translation. برای ساده شدن تنها ۵ ریبونوکلئوتید از پرایمر در انتهای '۵ نشان داده شده‌اند

Scanned by TapScanner



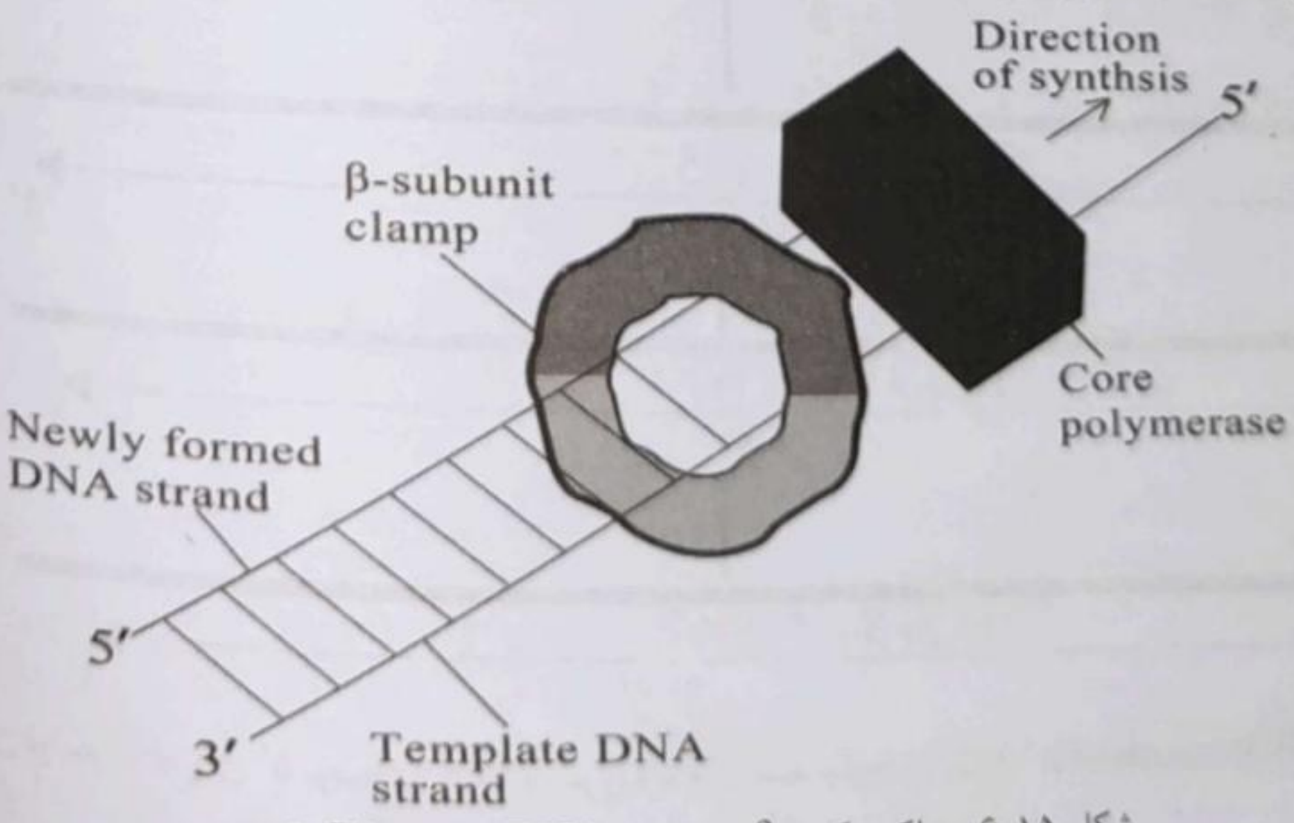
شکل ۱۴-۶: برداشته شدن پرایمر و اتصال دو قطعه اکازاکی به همدیگر توسط DNA لیگاز

می‌شود. آنزیم لیگاز پیوند استری بین OH- ′۳ از یک رشته DNA و گروه فسفات ′۵ رشته مجاور DNA ایجاد می‌کند.

DNA- لیگاز در یوکاریوت‌ها انرژی لازم برای ایجاد پیوند فسفودی استری بین دو رشته DNA را از ATP تأمین می‌کند؛ اما DNA لیگاز در باکتری‌ها از کوآنزیم NAD استفاده کرده و آن را به AMP و NMN (Nicotin mono nucleotide) می‌شکنند.

۸-۶ اتصال DNA پلیمراز به DNA توسط گیره متحرک بتا

DNA پلی مراز III یک آنزیم چند زیر واحدی multi subunit است که یکی از زیر واحدهای آن جزء β است. جزء β مانند گیره عمل می‌کند که به‌صورت دایمر مولکول DNA را می‌گیرد و در طول DNA حرکت می‌کند. جزء β باعث اتصال DNA پلیمراز به DNA می‌شود. به همین دلیل به این جزء DNA پلیمراز III گیره متحرک β (β – sliding clamp) گفته می‌شود. در عدم حضور زیر واحد β آنزیم DNA پلیمراز با پلیمریزه کردن حدود ۲۰ نوکلئوتید از DNA جدا می‌شود و کارایی آن برای ساختن DNA بسیار پایین خواهد بود.



شکل ۱۵-۶: عملکرد گیره β زیر واحد DNA پلیمراز III باکتری

Scanned by TapScanner

زیر واحد دیگر این آنزیم جزء γ است که باعث باز و بسته شدن گیره‌ی β می‌شود؛ و به همین دلیل به آن γ-Clamp loader گفته می‌شود.

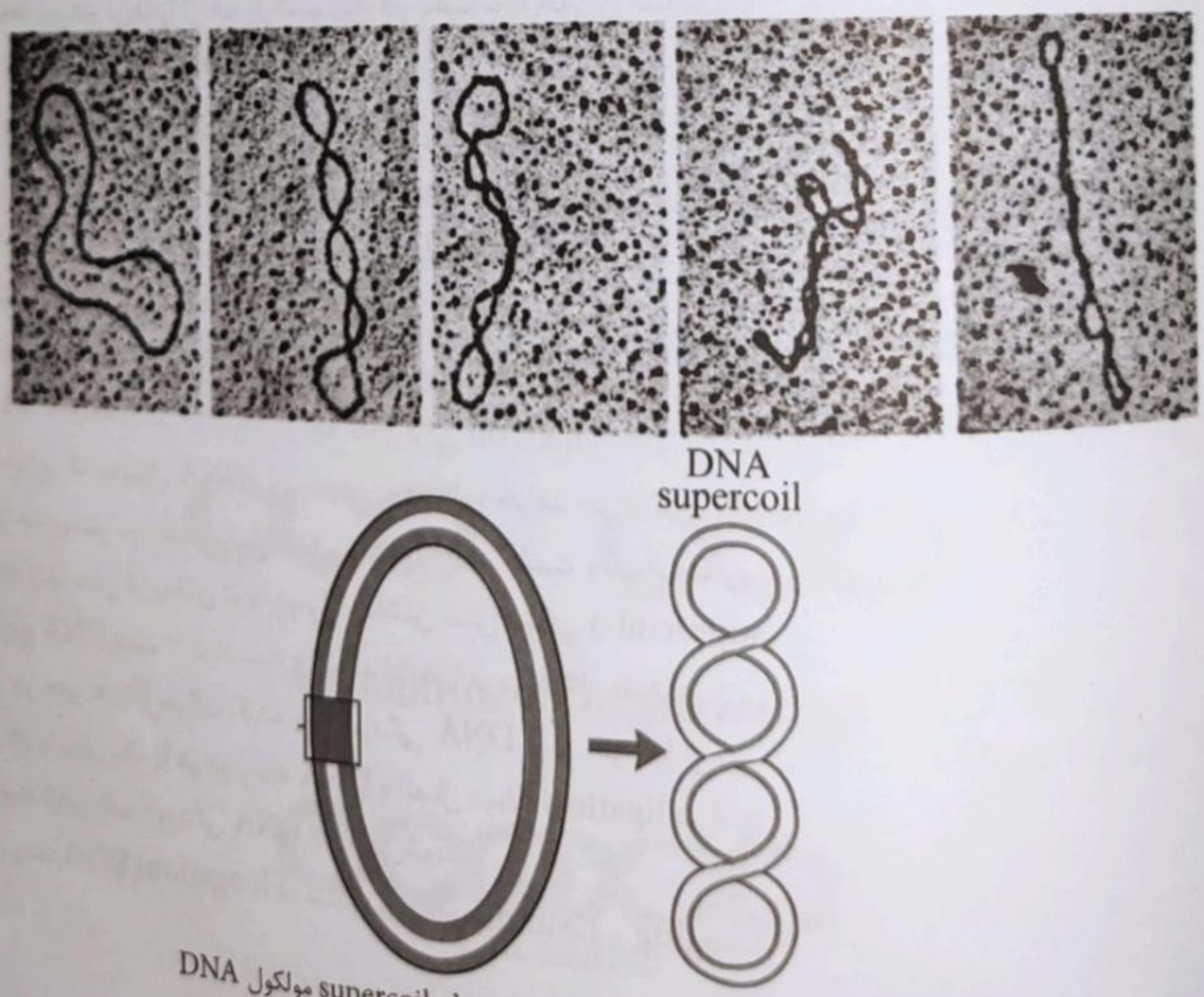
۶-۹ رپلیزوم و نقش آنزیمهای هلیکاز و توپوایزومراز در همانند سازی

برای همانندسازی DNA آنزیم‌ها و فاکتورهای پروتئینی زیادی لازم هستند. بیش از ۲۰ آنزیم و پروتئین برای همانندسازی DNA لازم است. به مجموعه این آنزیم‌ها و پروتئین‌ها که در همانندسازی DNA دخالت دارند DNA Replicase system یا رپلیزوم Replisome گفته می‌شود. جدا شدن دو رشته DNA مکمل توسط آنزیم هلیکاز انجام می‌شود که با استفاده از انرژی حاصل از هیدرولیز ATP پیوندهای هیدروژنی بین بازهای آلی مکمل از دو رشته DNA شکسته می‌شود و هر رشته به‌عنوان الگو در دسترس آنزیم DNA پلیمراز قرار می‌گیرد.

باز شدن دو رشته DNA از هم در هنگام همانندسازی ایجاد تنش فضایی روی ساختمان مارپیچ DNA می‌کند که درنتیجه عملکرد آنزیم‌های Topoisomerse (DNA gyrase در باکتری) این تنش فضایی از روی مولکول برداشته می‌شود.

مولکول DNA از لحاظ شکل فضایی به دو فرم راحت Relaxed یا فوق پیچیده Supercoiled می‌تواند وجود داشته باشند شکل ۱۶-۶.

شکل پایین عکس میکروسکوپ الکترونی DNA حلقوی پلاسمید در باکتری را نشان می‌دهد. مولکول در سمت چپ این عکس در فرم راحت Relaxed است در این فرم مولکول روی سطح می‌تواند قرار گیرد. در عکس‌های سمت راست حالت‌های فوق تاخورده Supercoil را نشان می‌دهند. درجه فوق تاخوردگی (Supercoil) در شکل ۱۶-۶ از چپ به راست بیشتر می‌شود. در حالت Supercoil مولکول DNA



شکل ۱۶-۶: فرم راحت relaxed و فوق تاخورده supercoiled مولکول DNA

Scanned by TapScanner



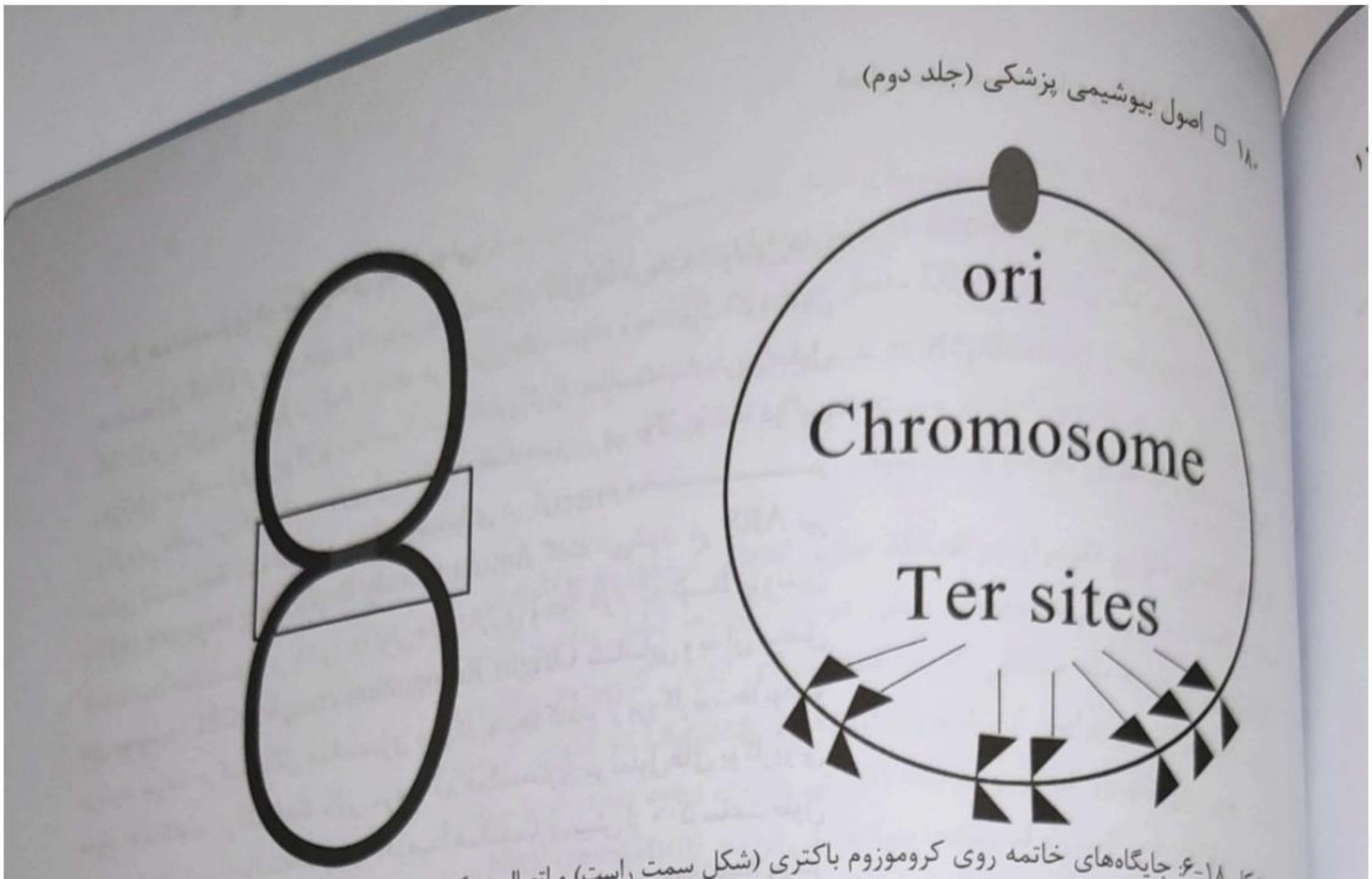
شکل ۱۷-۶: پیچیده شدن بیش‌ازاندازه دو طناب به دور همدیگر باعث سوپر کویل شدن آن‌ها می‌شود

علاوه بر مارپیچ واتسون کریک روی خود نیز تا می‌خورد. در حالت سوپرکویل-Su percoil مولکول DNA حالت سه‌بعدی دارد و روی سطح قرار نمی‌گیرد. ایده سوپر کویل Supercoil بودن مولکول DNA اولین بار از مشاهده سیم تلفن که روی خود تاخورده بود توسط ژروم ویناگراد Jerome vinagrad در سال ۱۹۶۵ میلادی پیشنهاد شد. اگر دو رشته طناب دورهم پیچیده شده باشند و یک‌طرف رشته‌ها گرفته شده باشند طوری که قابلیت چرخیدن نداشته باشند و از طرف دیگر بخواهیم بدون تابیدن رشته‌ها دورهم آن‌ها را از هم بازکنیم این کار باعث تاب خوردن طناب روی خود خواهد شد و به فرم Supercoil درمی‌آیند.

چنین وضعیتی با حرکت Fork در هنگام همانندسازی DNA نیز به وجود می‌آید. چه در مورد کروموزوم حلقوی باکتری که انتهای آزاد ندارد و چه در مورد کروموزوم یوکاریوتی که به دلیل وجود نوکلئوزوم قابلیت چرخش آزادانه دو رشته DNA وجود ندارد با حرکت Fork و باز شدن هر چه بیشتر دو رشته DNA از همدیگر، مارپیچ در جلو Fork فشرده می‌شود و این باعث تاب خوردن مولکول DNA روی خود می‌شود هر چه دو رشته DNA بیشتر باز شوند در چه تاخوردگی Supercoil شدن بیشتر خواهد شد طوری که مولکول DNA روی خود چندان تاب خواهد خورد که امکان باز شدن هر چه بیشتر دو رشته مکمل از هم وجود نخواهد داشت و همانندسازی متوقف خواهد شد. نقش آنزیم‌های توپوایزومراز برداشتن تنش فضایی (-supercoil ing) از مارپیچ DNA است تا همانندسازی بتواند ادامه یابد. در هنگام همانندسازی توپوایزومراز در جلو Fork حرکت کرده و تاخوردگی DNA روی خود را از بین می‌برد. این کار با برش یک یا هر دو رشته DNA و اتصال دوباره ligation دو انتها پس از برداشته شدن تاب خوردگی DNA انجام می‌شود.

در مرحله‌ی رشد DNA (Elongation) سنتز رشته‌های Leading و Lagging ادامه می‌یابد.

Scanned by TapScanner

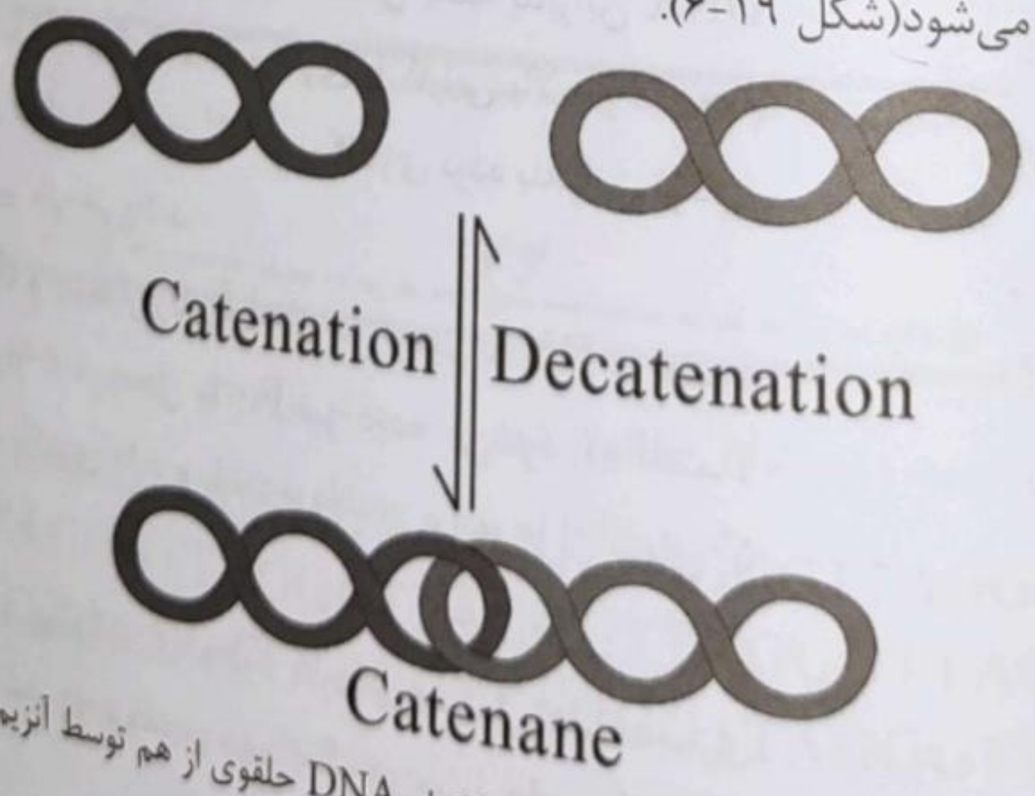


شکل ۱۸-۶: جایگاه‌های خاتمه روی کروموزوم باکتری (شکل سمت راست) و اتصال دو کروموزوم همانندسازی شده به هم در جایگاه خاتمه (شکل سمت چپ)

۶-۱۰ خاتمه همانند سازی کروموزوم باکتری

در مرحله خاتمه Termination دو چنگال همانندسازی در کروموزوم حلقوی باکتری نهایتاً به هم می‌رسند. در ناحیه خاتمه که حدود ۱۸۰ درجه مقابل ناحیه مبدأ همانندسازی قرار دارد توالی‌هایی ۲۰ جفت باز تکراری وجود دارد که به آن خاتمه Terminus (Ter) گفته می‌شود (شکل ۱۸-۶). به‌توالی‌های خاتمه Ter پروتئینی بنام پروتئین خاتمه Terminus utilization substance (Tus) متصل می‌شود. ایجاد کمپلکس پروتئین Tus با DNA در ناحیه خاتمه باعث توقف حرکت چنگال همانندسازی می‌شود.

با کامل شدن همانندسازی کروموزوم در باکتری دو مولکول DNA حلقوی که مانند دو قلاب زنجیر درگیر هستند به وجود می‌آید. به این ساختمان ایجاد شده قلاب مانند Catenan گفته می‌شود. برای اینکه دو مولکول DNA از هم جدا شوند آنزیم توپوایزومراز IV در باکتری با برش موقت هر دو رشته DNA از یک کروموزوم باعث جدا شدن دو مولکول DNA حلقوی از هم می‌شود؛ که به این واکنش جدا شدن قلاب Decatenation گفته می‌شود(شکل ۱۹-۶).



شکل ۱۹-۶: قلاب شدن و جدا شدن قلاب دو مولکول DNA حلقوی از هم توسط آنزیم توپوایزومراز

Scanned by TapScanner

۱۱-۶ همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی

همانندسازی DNA در سلول‌های یوکاریوتی پیچیده‌تر از باکتری‌ها می‌باشد. مولکول‌های DNA در یوکاریوت‌ها بسیار بزرگ‌تر از آنچه در باکتری‌هاست بوده و به صورت کروماتین وجود دارد. همانندسازی در یوکاریوت‌ها اصولاً شبیه به پروکاریوت‌ها است. ساده‌ترین سلول یوکاریوتی مخمر می‌باشد؛ که بسیاری از مطالعات همانندسازی در کروموزوم مخمر میکروارگانیسم انجام شده است. به مبدأ همانندسازی Autonomously Replicating sequence (ARS) گفته می‌شود. در ARS نیز همانند مبدأ همانندسازی در باکتری‌ها توالی‌های تکراری وجود دارد که توسط پروتئین های موسوم به Origin Recognition complex (ORC) شناسایی و به آن متصل می‌شوند. سرعت حرکت چنگال همانندسازی دریوکاریوت‌ها کندتر از پروکاریوت‌ها بوده و حدود ۵۰ نوکلئوتید در ثانیه است. با این سرعت کم همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی مانند سلول‌های انسان، با استفاده از تنها یک مبدأ همانندسازی بیش از ۵۰۰ ساعت طول خواهد کشید تا کامل شود؛ اما همان‌طور که قبلاً اشاره شد سرعت کم همانندسازی در سلول‌های یوکاریوتی با افزایش تعداد مبدأهای همانندسازی که به فاصله هر ۳۰۰/۰۰۰ – ۳۰/۰۰۰ جفت باز روی کروموزوم قرار دارند جبران شده است. در هر یک از این مبدأها، همانندسازی به‌صورت دوطرفه انجام می‌شود و به‌طور متوسط در ۸ ساعت همانندسازی کروموزوم‌ها در سلول‌های یوکاریوتی کامل می‌شود و سلول یوکاریوتی می‌تواند تقسیم شود. در سلول‌های یوکاریوتی بیش از ۵ نوع DNA پلیمراز شناسایی شده که با حروف لاتین نام‌گذاری می‌شوند.

همانندسازی DNA کروموزومی به کمک DNA پلیمراز دلتا (δ) و آلفا (α) در محل Fork انجام می‌شود. DNA پلیمراز δ آنزیم اصلی برای همانندسازی هر دو رشته‌های پیش‌رو Leading و پس‌رو Lagging می‌باشد. DNA پلیمراز α فاقد قابلیت ویراستاری است و نقش آن سنتز پرایمرهای RNA و یا DNA برای DNAپلیمراز δ است.

به DNA پلیمراز δ پروتئینی متصل می‌شود که به آن Proliferating cell nuclear antigen (PCNA) گفته می‌شود. PCNA در سلول‌های یوکاریوتی نقشی مشابه با زیر واحد β آنزیم DNA پلیمراز III باکتری‌ها دارد. این پروتئین به‌صورت گیره‌ای حلقوی به DNA اتصال یافته بنابراین DNA پلیمراز δ را متصل به DNA نگه داشته تا همانندسازی با کارایی بالا بتواند انجام گیرد. DNA پلیمراز دلتا دارای فعالیت ۵' → ۳' اگزونوکلئازی بوده بنابراین توانایی ویراستاری و تصحیح اشتباه را نیز دارا می‌باشد.

DNA پلیمراز اپسیلون (Pol ε) و پلیمراز زتا (pol ζ) در ترمیم DNA در هسته سلول نقش دارند. DNA پلیمراز ε در محل Fork نیز دیده می‌شود که احتمالاً نقشی مشابه با DNA پلیمراز I باکتری دارد و باعث برداشتن پرایمرها از انتهای ۵' قطعات اکازاکی می‌شود.

DNA پلیمراز گاما (Polγ) در میتوکندری وجود دارد و مسئول همانندسازی DNA حلقوی میتوکندری می‌باشد. دو پروتئین مهم دیگر در سلول‌های یوکاریوتی

Scanned by TapScanner

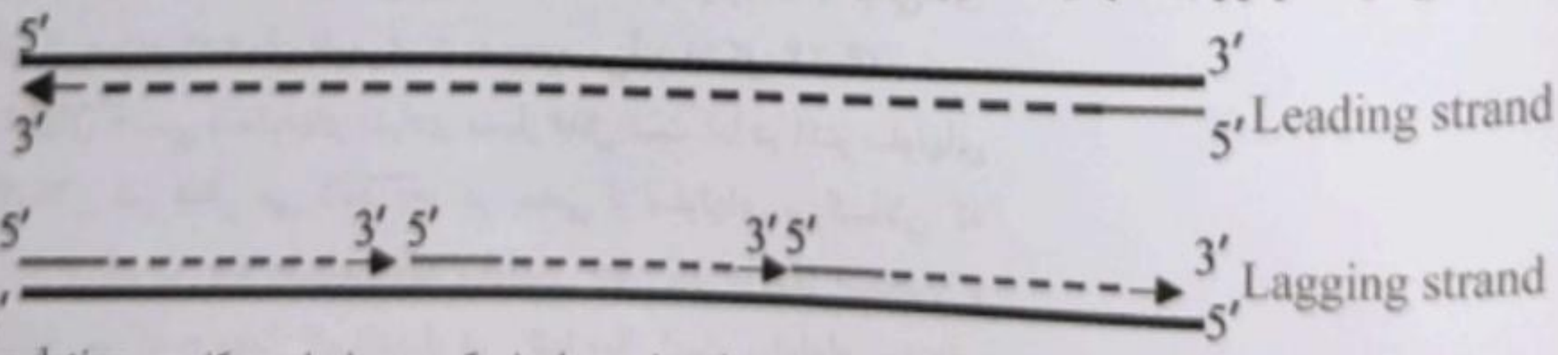
همانندسازی DNA نقش دارند. پروتئین همانندسازی-I Repication protein A (RPA) که نقشی معادل پروتئین SSB باکتری‌ها دارد و به زنجیره تک رشته‌ای DNA متصل می‌شود و فاکتور همانندسازی-C Replication Factor C (RFC) که نقشی معادل زیر واحد γ از آنزیم DNA پلیمراز III باکتری دارد و باعث باز و بسته شدن گیره PCNA می‌شود تا PCNA بتواند به DNA اتصال یافته و یا جدا شود.

۶-۱۲ نقش آنزیم تلومراز در همانند سازی انتهای کروموزوم یوکاریوتی

خاتمه همانندسازی کروموزوم‌های خطی در یوکاریوت‌ها شامل ساخت تلومر در انتهای کروموزوم است. مشکلی که در همانندسازی انتهای کروموزوم یوکاریوت‌ها وجود دارد برداشتن پرایمر از رشته Leading و Lagging در انتهای کروموزوم است. چون در انتهای کروموزوم رشته اکازاکی دیگری وجود ندارد که با برداشتن پرایمر RNA، دی اکسی نوکلئوتیدها بتوانند طی فرآیند Nick translation به آن اضافه شوند. همانندسازی متوالی در سلول‌های یوکاریوتی می‌تواند باعث کوتاه شدن انتهای کروموزوم‌ها به اندازه یک پرایمر در هر دور همانندسازی حین تقسیم سلول‌ها شود (شکل ۲۰-۶).

مکانیسمی که در سلول‌های یوکاریوتی برای حل این مشکل وجود دارد فعالیت آنزیمی بنام تلومراز است. آنزیم تلومراز توالی‌های تکراری ۶تایی را به انتهای ′۳ هر دو رشته کروموزوم اضافه می‌کند. این توالی‌های ۶ تایی چند هزار بار به دو انتهای کروموزوم اضافه می‌شوند و تلومر در انتهای کروموزوم به وجود می‌آید. توالی‌های تکراری در گونه‌های مختلف موجودات با هم متفاوت است برای مثال در انسان توالی ۶ تایی TTAGGG در انتهای کروموزوم وجود دارد (شکل ۲۱-۶).

تلومراز یک آنزیم Reverse transcriptase است یعنی برخلاف رونویسی که از روی DNA، RNA ساخته می‌شود تلومراز از روی RNA، DNA می‌سازد. آنزیم تلومراز نیاز به زنجیره الگوی خارجی ندارد زیرا در ساختمان خود دارای یک رشته RNA است که به‌عنوان الگو از آن استفاده می‌کند. این RNA الگو حدود ۱۵۰ نوکلئوتید طول دارد و توالی آن شامل توالی شش‌تایی تکراری است که مکمل آن در تلومر دیده می‌شود. تلومراز به انتهای ′۳ کروموزوم متصل می‌شود و از RNA

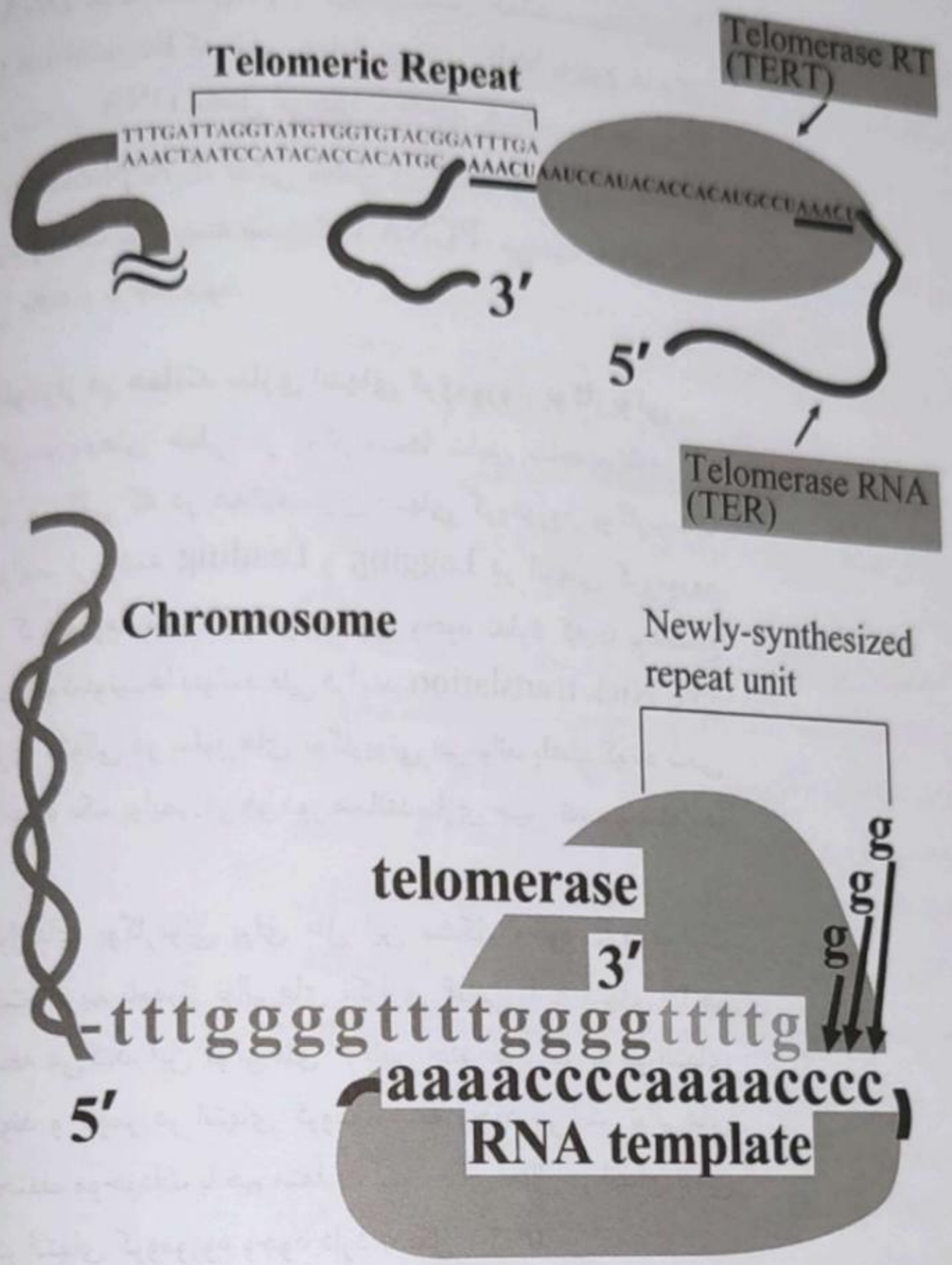


شکل ۲۰-۶: انتهای کروموزوم یوکاریوت و عدم امکان جایگزین شدن پرایمرها در دو انتهای کروموزوم از طریق مکانیسم Nick translation

...GGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTA
GGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGT
TAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTAGGGTTA...

شکل ۲۱-۶: توالی‌های تکراری تلومر در انتهای کروموزوم انسان

Scanned by TapScanner



شکل ۲۲-۶: اضافه شدن توالی‌های تکراری تلومر به انتهای کروموزوم توسط آنزیم تلومراز

خود به‌عنوان الگو استفاده کرده و دی اکسی ریبو نوکلئوتیدها را که همان توالی‌های تکراری شش‌تایی TTAGGG است به انتهای یک رشته اضافه می‌کند و پس از طویل شدن، این رشته توسط DNA پلیمراز به‌عنوان الگو استفاده می‌شود و مکمل توالی‌های تکراری آن به رشته مقابل کروموزوم اضافه شده و دو رشته با توالی‌های تکراری انتهای کروموزوم که همان تلومر است به وجود می‌آید (شکل ۲۲-۶).

تلومراز در سلولهای جنینی و سلولهای بنیادی بسیار فعال است. اما در اکثر سلولهای بافتهای بزرگسالان غیر فعال می شود بجز در بعضی از سلولهای بزرگسالان که بطور طبیعی دارای قدرت رشد هستند مانند سلولهای خون ساز در مغز استخوان و سلولهای فولیکول مو که به مقدار کم تلومراز در انها فعال است. سلولهای معمولی بافت در بزرگسالان فاقد قدرت رشد هستند برای مثال سلولهای فیبروبلاست پوست بزرگسالان در محیط کشت آزمایشگاه بعد از چند بار تقسیم شدن بدلیل کوتاه شدن طول تلومر دچار مرگ و میر می شوند. در سلولهای سرطانی بافتهای مختلف فعالیت آنزیم تلومراز افزایش می یابد که این امر موجب نا میرا شدن (قدرت رشد نا محدود)

Scanned by TapScanner

سلولهای سرطانی می شود. یکی از زمینه های مهم تحقیقات امروزه پیدا نمودن ماده
ای است که به کمک آن بتوان با غیر فعال نمودن آنزیم تلومراز در سلولهای سرطانی
این بیماری را درمان نمود.

Scanned by TapScanner

۱۳-۶ سوالات نمونه

۱- کدام آنزیم دو قطعه اکازاکی را به هم متصل می کند؟

الف- DNA ligase
ب- DNA polymerase
ج- DNA helicase
د- Topoisomerase
ه- Exonuclease

۲- کدام آنزیم تاخوردگی مضاعف DNA supercoiling را هنگام همانند سازی DNA بر می دارد؟

الف- Telomerase
ب- Primase
ج- Gyrase
د- Ligase
ه- Helicase

۳- کدام DNA پلیمراز مسئول همانند سازی کروموزوم حلقوی موجود در میتوکندری است؟

الف- پلیمراز III
ب- پلیمراز β
ج- پلیمراز I
د- پلیمراز α
ه- پلیمراز γ

۴- کدامیک از بیانات زیر در مورد همه آنزیمهای DNA پلیمراز درست است؟

الف- دارای قدرت تصحیح اشتباه هستند.
ب- نیاز به پرایمر دارند
ج- رشته الگو را در جهت ′۵→′۳ می خوانند
د- DNA جدید رابصورت دوطرفه ′۵→′۳ و ′۳→′۵ پلیمریزه می نمایند
ه- همه موارد فوق

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	الف
۲	ج
۳	ه
۴	ج

Scanned by TapScanner

۷

فصل هفتم:

رونویسی ژنی (بیان ژن)
RNA Transcription

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

هدف کلی درس: آشنایی با مکانیسم انجام رونویسی در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی

اهداف اختصاصی:

با مطالعه این فصل دانشجو بایستی مطالب زیر را بیاموزد:

- فعالیت انواع RNA پلیمرازها در باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتی
- نقش عوامل اصلی در کنترل بیان ژن‌ها شامل فاکتورهای رونویسی و المانهای عمل کننده سیس روی DNA Cis-acting elements
- دو نوع مکانیسم خاتمه رونویسی در باکتری‌ها شامل مکانیسم وابسته به پروتئین Rho و مکانیسم مستقل از Rho
- نقش فاکتورهای رونویسی عمومی و اختصاصی برای شروع رونویسی توسط RNA پلیمراز II در سلول‌های یوکاریوتی
- ویژگی و نقش ناحیه انتهای کربوکسیلی زیرواحد بزرگ RNA پلیمراز II یوکاریوتی موسوم به CTD در رونویسی
- مکانیسم عمل انواع آنتی‌بیوتیک‌هایی که رونویسی را منع می‌کنند

Scanned by TapScanner

۱-۷ مقدمه

رونویسی یا بیان ژن جریان انتقال اطلاعات ژنتیکی از DNA به فرم RNA است. به بیان ساده به ساخته‌شدن RNA از روی یک رشته الگوی DNA رونویسی (Transcription) گفته می‌شود. در طی رونویسی، RNA پلیمراز اطلاعات ژنتیکی موجود در قطعه‌ای از DNA دو رشته‌ای را به RNA تبدیل می‌کند. بازهای موجود در RNA ساخته شده مکمل یکی از رشته‌های DNA است. رونویسی از لحاظ مکانیسم اصلی واکنش شیمیایی، جهت پلیمریزاسیون نوکلئوتیدها و استفاده از الگو به همانندسازی DNA شباهت دارد. رونویسی RNA مثل همانندسازی DNA از مراحل شروع Initiation، رشد زنجیره Elongation و خاتمه Termination تشکیل می‌شود.

۲-۷ اختلاف همانندسازی و نسخه‌برداری

۱. در طی همانندسازی معمولاً از کل کروموزوم نسخه‌برداری می‌شود؛ اما در هنگام رونویسی تنها ژن خاص یا از گروهی از ژن‌ها رونویسی انجام می‌شود و از بعضی قسمت‌های DNA ژنومی هیچ‌گاه نسخه‌برداری نمی‌شود.

۲. برخلاف DNA پلیمراز؛ آنزیم RNA پلیمراز نیاز به پرایمر برای انجام سنتز ندارد.

۳. برای هر ژن تنها یکی از دو رشته ممکن DNA به‌عنوان الگو برای انجام رونویسی استفاده می‌شود.

۴. RNA پلیمراز فاقد فعالیت اگزونوکلئازی $5' \rightarrow 3'$ بوده و درنتیجه فاقد توانایی تصحیح اشتباه است بنابراین میزان وقوع اشتباه در هنگام نسخه‌برداری بیشتر از همانندسازی است. میزان وقوع اشتباه توسط RNA پلیمراز، یک اشتباه به ازای هر $10^4 - 10^5$ ریبونوکلئوتید پلیمریزه شده است.

۳-۷ مکانیسم رونویسی توسط RNA پلیمراز

RNAپلیمراز علاوه بر رشته الگوی DNA به چهار نوع ریبونوکلئوتید تری فسفات (GTP, ATP, UTP, CTP) نیاز دارد. این آنزیم همچنین نیاز به کاتیون‌های Mg^{2+} و Zn^{2+} دارد. مکانیسم شیمیایی سنتز RNA کاملاً به عملکرد DNA پلیمراز شباهت دارد.

RNA پلیمراز موجب رشد رشته RNA در جهت $5' \rightarrow 3'$ می‌شود بنابراین هر یک از نوکلئوتیدهای جدید به انتهای $3' - OH$ زنجیره‌ی RNA اضافه می‌شود (شکل ۱-۷).

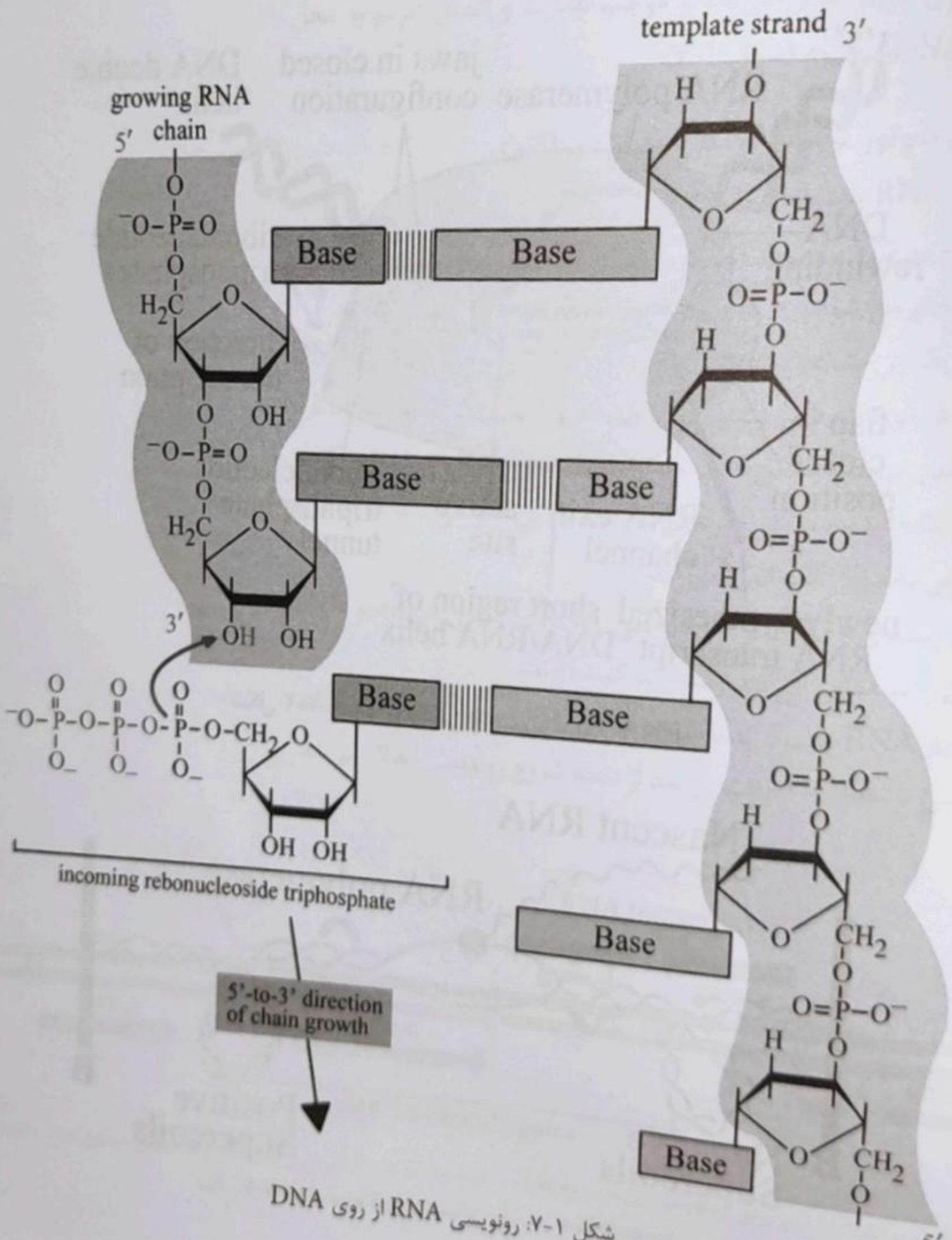
برای اینکه RNA پلیمراز بتواند رشته‌ی RNA مکمل یکی از رشته‌های DNA را بسازد. مارپیچ DNA دو رشته‌ای در طول کوتاهی باز می‌شود. در طی رونویسی، RNA پلیمراز حدود ۱۷ جفت باز از دو رشته DNA را از هم جدا کرده و حباب

Scanned by TapScanner

رونویسی به وجود می آید (شکل ۲-۷).

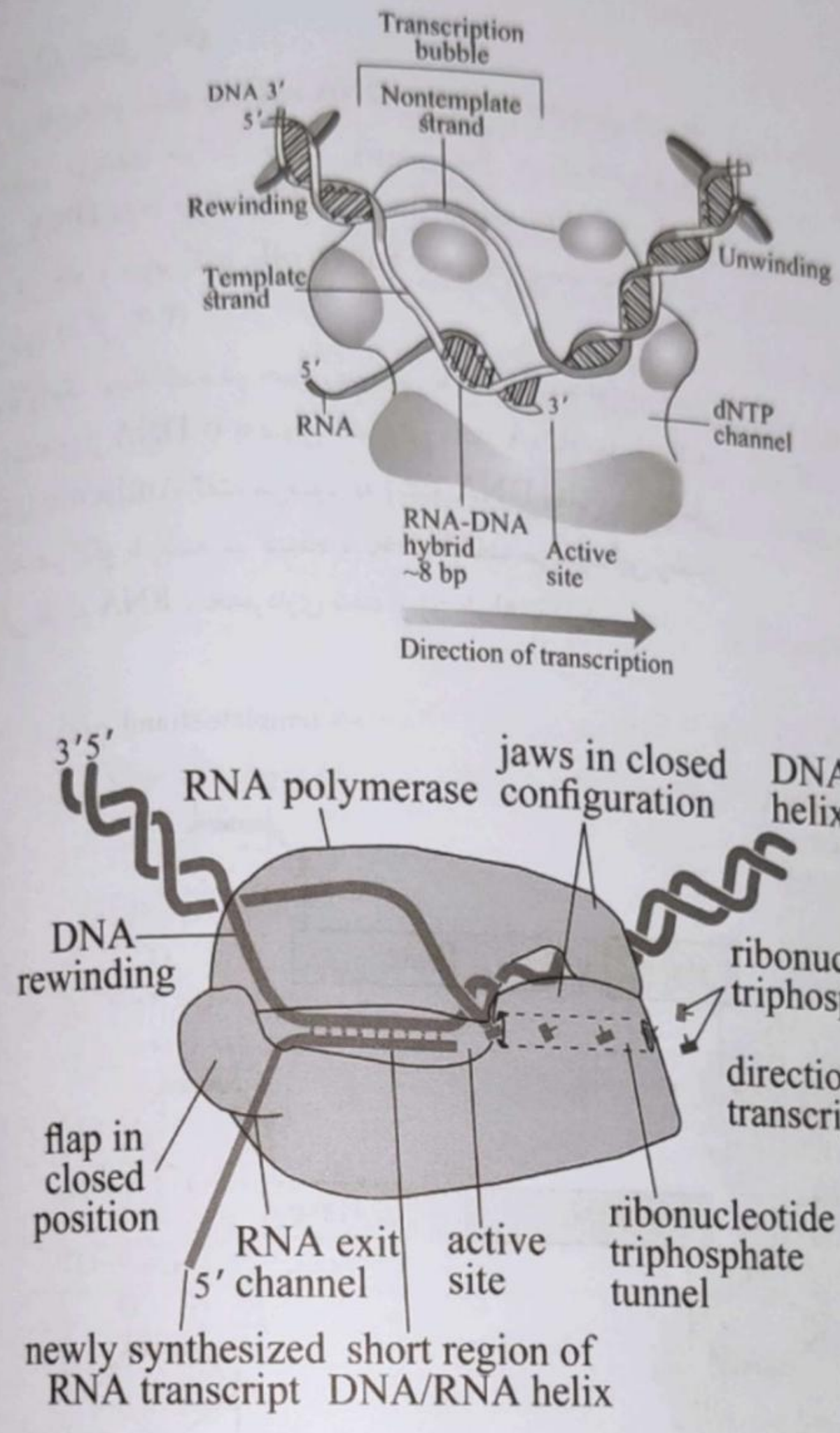
در هنگام رونویسی در ناحیه دو رشته جدا شده DNA، به‌اندازه ۸ جفت باز هیبرید RNA-DNA تشکیل می‌شود. حرکت حباب رونویسی نیاز به چرخش و باز شدن مداوم مولکول DNA دارد. حرکت RNA پلیمراز موجب ایجاد سوپرکویل Supercoil مثبت در جلو و سوپر کویل Supercoil منفی در پشت سرخود در مولکول DNA می‌شود (شکل ۳-۷).

در سلول مشکل توپولوژیک ایجاد شده در حین رونویسی با عمل آنزیم توپوایزومراز برطرف می‌شود. به رشته‌ای از DNA که به‌عنوان الگو برای سنتز RNAعمل می‌کند رشته غیر کد کننده یا Antisense گفته می‌شود. به رشته DNA مقابل که مکمل رشته الگو است رشته غیر الگو یا رشته کد کننده یا Sense گفته می‌شود این رشته DNA از لحاظ توالی باز به RNA نسخه‌برداری شده از ژن شباهت دارد.

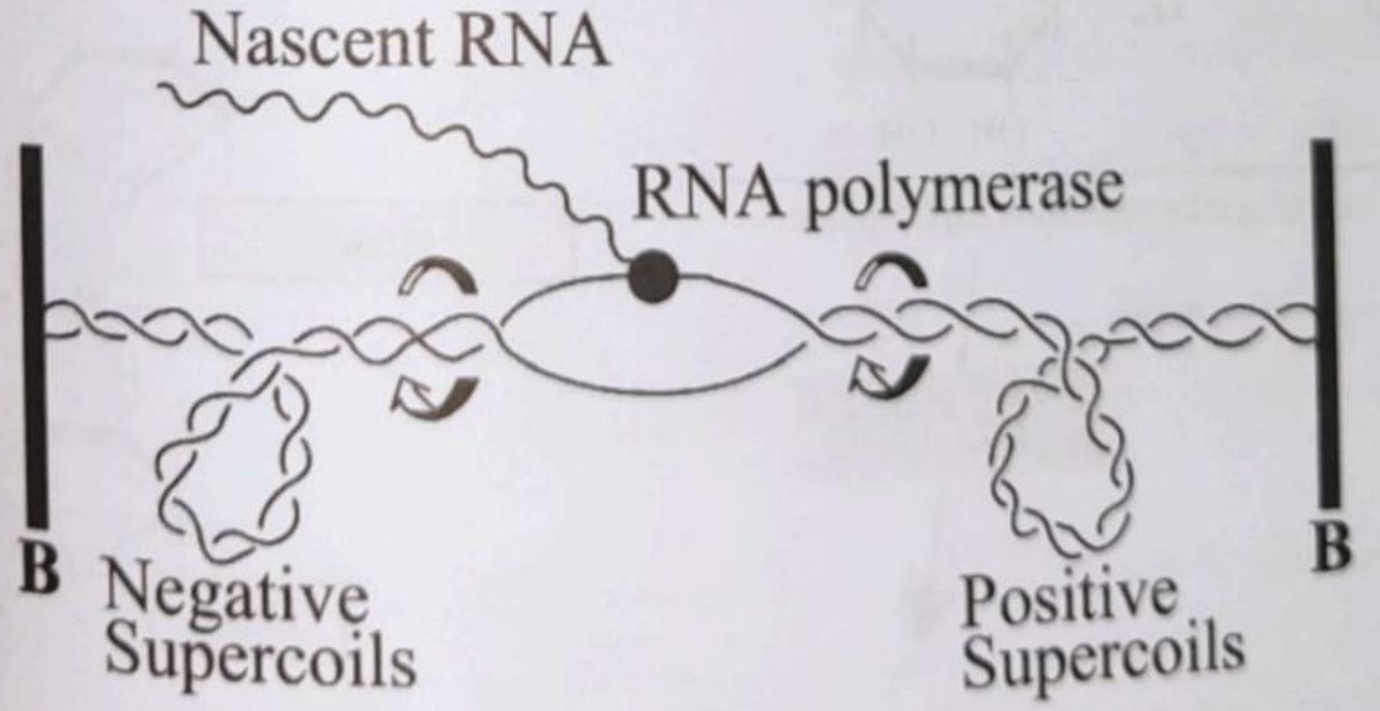


شکل ۱-۷: رونویسی RNA از روی DNA

Scanned by TapScanner

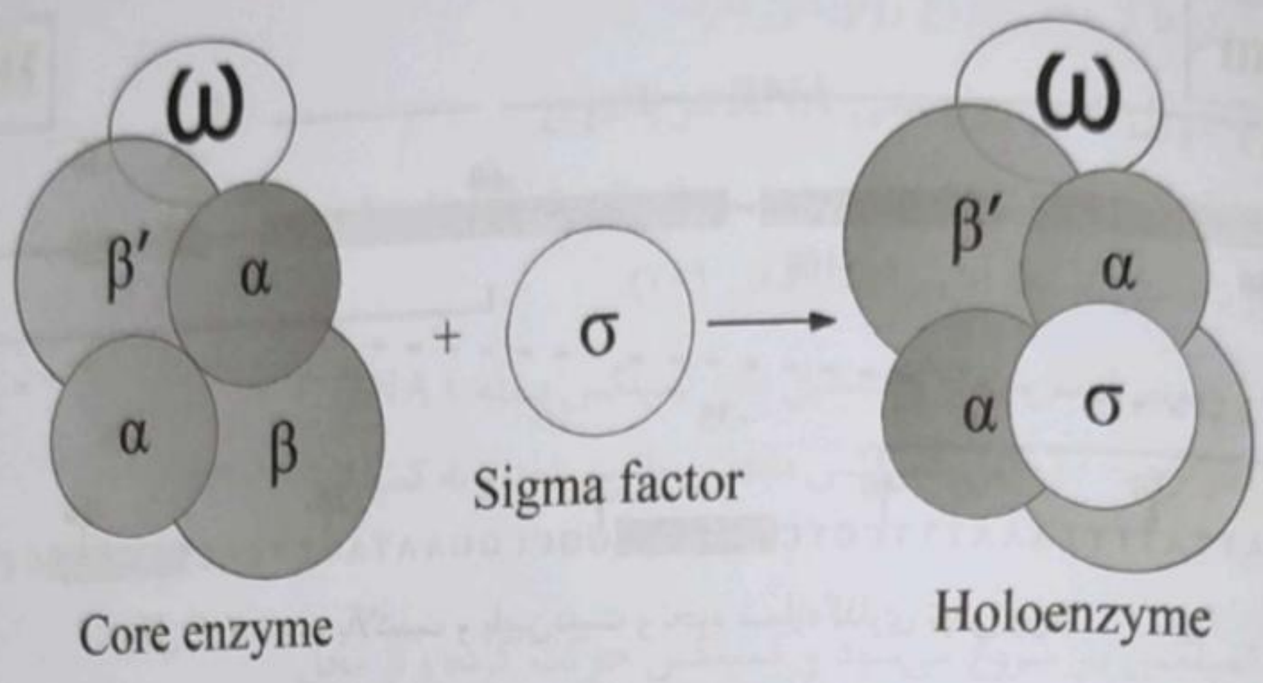


شکل ۲-۷: حباب رونویسی و پلیمریزاسیون RNA



شکل ۳-۷: ایجاد سوپرکویل مثبت و منفی در هنگام رونویسی

Scanned by TapScanner



شکل ۴-۷: زیر واحدهای RNA پلیمراز باکتری

RNA پلیمراز در باکتری E.Coli یک آنزیم بزرگ و کمپلکسی دارای ۵ زیر واحد مرکزی شامل $\alpha_2\beta\beta'\omega$ و یک زیر واحد ششم سیگما σ است. زیر واحد سیگما به‌طور موقت به جزء مرکزی آنزیم اتصال می‌یابد و موجب هدایت و اتصال آنزیم به محل پروموتورژن روی DNA می‌شود (شکل ۴-۷).

۴-۷ شناسایی پروموتور توسط RNA پلیمراز در باکتری

رونویسی با اتصال RNA پلیمراز به‌توالی مخصوص روی DNA که به آن پروموتور گفته می‌شود شروع می‌شود پروموتور موجب هدایت RNA پلیمراز برای نسخه‌برداری از قطعه DNA مجاورمی شود.

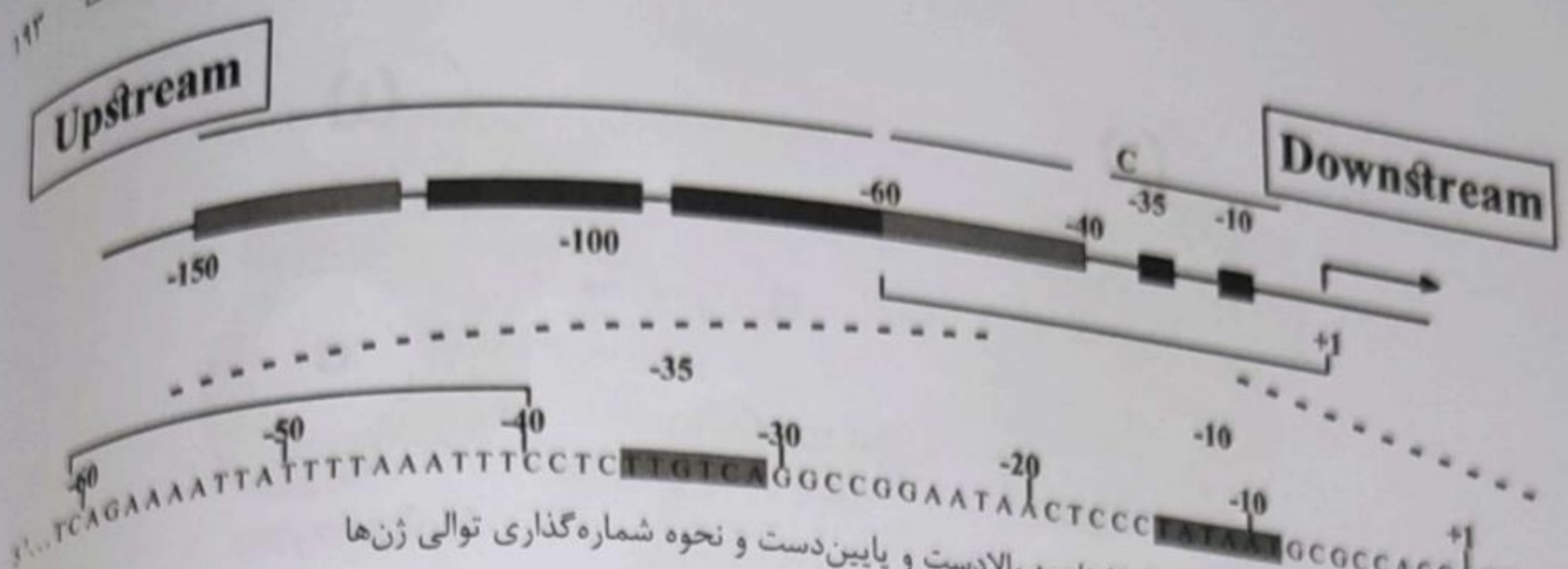
رونویسی در مورد یک ژن مشخص همیشه از روی یکی از دو زنجیره های مکمل DNA انجام می‌شود اما در مورد ژن‌های متفاوت رشته‌ای که به‌عنوان الگو مورداستفاده قرار می‌گیرد و رونویسی می‌شود ممکن است متفاوت باشد. برای مثال همان‌طور که در شکل ۵-۷ نشان داده شده است در مورد ژن a رشته بالایی الگو می‌باشد اما در مورد ژن b رشته پایینی به‌عنوان الگو عمل می‌کند.

به‌طور قراردادی رشته‌ای از DNA که رونویسی RNA را کنترل می‌کند و RNA پلیمراز توالی آن را شناسایی می‌کند رشته کد کننده است.

در E.Coli آنزیم RNA پلیمراز به ناحیه‌ای از DNA از حدود ۷۰ جفت بازمانده به شروع رونویسی تا حدود ۳۰ جفت باز بعد از نقطه شروع رونویسی اتصال می‌یابد.

شکل ۵-۷: رشته DNA الگو برای رونویسی ژن‌های مختلف متفاوت بوده و هر یک از دو رشته بالایی یا پایینی ممکن است باشد. ولی برای یک ژن مشخص رشته الگو برای رونویسی همیشه ثابت است.

Scanned by TapScanner

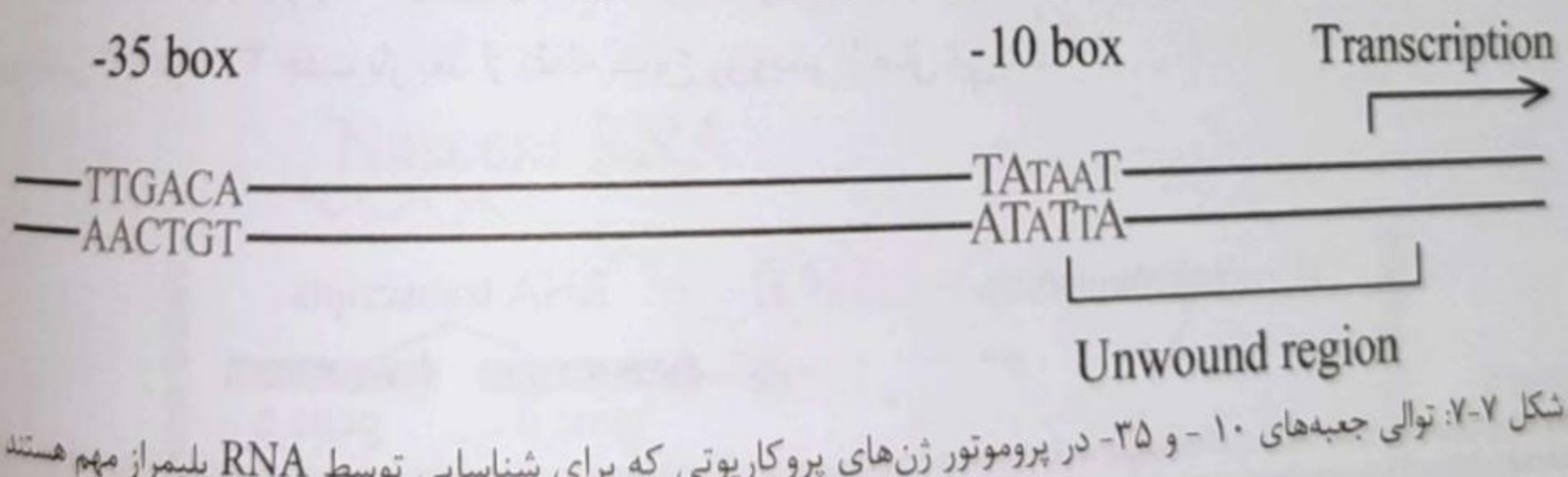


شکل ۶-۷: ناحیه بالادست و پایین‌دست و نحوه شماره‌گذاری توالی ژن‌ها

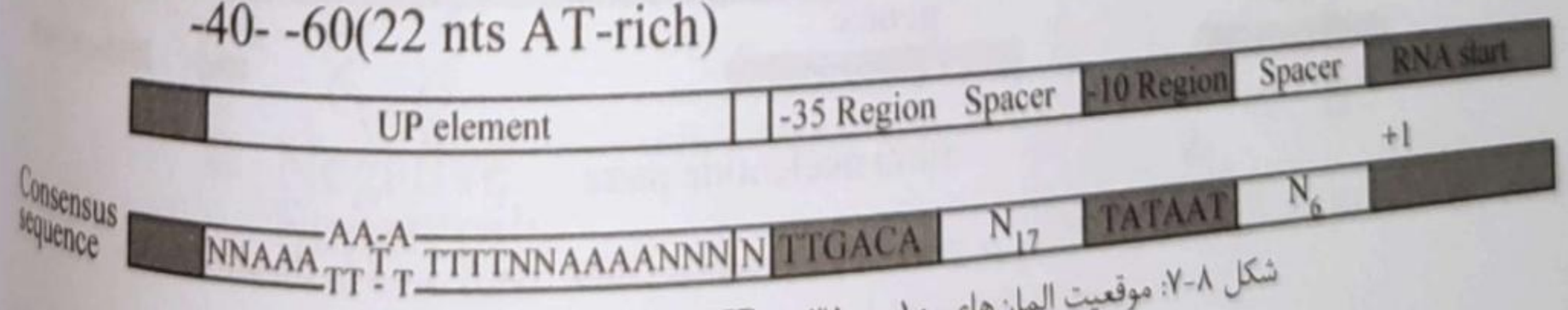
طبق قرارداد توالی بازهای DNA که شروع رونویسی RNA از آن قسمت انجام می‌شود، با اعداد مثبت نشان داده می‌شوند و بازهایی که قبل از شروع نسخه‌برداری RNA قرار دارند با علامت منفی نشان داده می‌شوند؛ بنابراین ناحیه پروموتور ژن‌های پروکاریوتی بین نوکلئوتید ۷۰ - و ۳۰+ روی DNA واقع می‌شود (شکل ۶-۷).

مقایسه توالی پروموتورهای ژن‌های مختلف در باکتری‌ها وجود دو توالی مشابه در ناحیه ۱۰- و ۳۵- در پروموتورژن‌ها را نشان می‌دهد. این توالی‌ها برای برهم‌کنش با زیر واحد سیگما σ آنزیم RNA پلیمراز مهم هستند اگرچه توالی پروموتورژن‌های مختلف باهم متفاوتند اما توالی این دو ناحیه در پروموتور ژن‌ها بسیار شبیه بوده و توالی غالب مشترک Consensus sequence را برای هر یک از این نواحی می‌توان به‌صورت زیر تشخیص داد (شکل ۷-۷).

توالی غالب در ناحیه ۱۰- توالی ۵'-TATAAT-۳' و در ناحیه ۳۵- توالی ۵'-TTGACA-۳' است. المان ۲۲ نوکلئوتیدی دیگر با مقدار زیاد جفت باز AT بین ناحیه ۴۰- و ۶۰- پروموتور بعضی از ژن‌ها که بیان آن‌ها در باکتری زیاد است وجود دارد و به آن المان بالادست پروموتور Upstream Promoter (UP) element گفته می‌شود (شکل ۸-۷). زیر واحد سیگمای آنزیم RNA پلیمراز به UP element نیز متصل می‌شود. کارایی پروموتور برای اتصال RNA پلیمراز و شروع رونویسی بستگی به‌توالی المان‌های فوق و فاصله المان‌ها از



شکل ۷-۷: توالی جعبه‌های ۱۰ - و ۳۵- در پروموتور ژن‌های پروکاریوتی که برای شناسایی توسط RNA پلیمراز مهم هستند



شکل ۸-۷: موقعیت المان‌های ۱۰- و ۳۵- و UP روی پروموتور ژن‌های پروکاریوتی

Scanned by TapScanner

همدیگر و فاصله این المان‌ها از محل شروع رونویسی دارد.

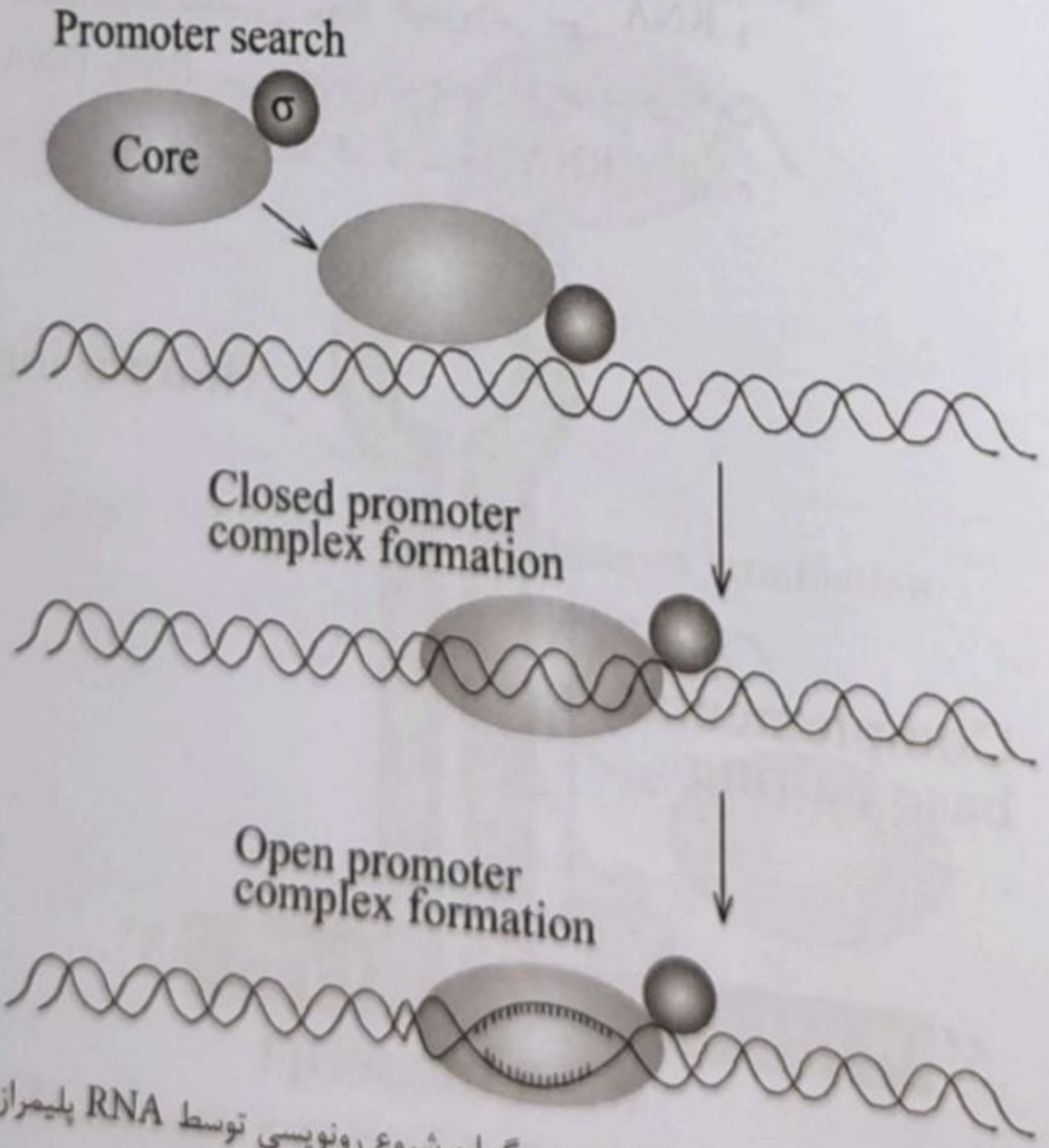
۷-۵ مرحله شروع و طویل شدن رونویسی RNA در باکتری

مرحله آغازین initiation رونویسی شامل دو فعالیت اتصال RNA پلیمراز به پروموتور و شروع پلیمریزاسیون توسط آنزیم است(شکل ۹-۷).

۱. در ابتدا پلیمراز به پروموتور اتصال یافته و تشکیل یک کمپلکس بسته با DNA را می‌دهد. سپس DNA در ناحیه ۱۰- این کمپلکس مقداری باز می‌شود و به کمپلکس باز تبدیل می‌شود.

۲. رونویسی در این کمپلکس باز شروع می‌شود و کمپلکس حرکت کرده و از محل شروع به‌تدریج دور می‌شود. زیر واحدهای مرکزی RNA پلیمراز به تنهایی قادر به شروع نسخه‌برداری در محل پروموتور نیستند. زیر واحد سیگما به RNA پلیمراز قابلیت شناسایی پروموتور را می‌دهد. RNA پلیمراز نواحی ۱۰- و ۳۵- را بدون باز کردن مارپیچ DNA می‌تواند شناسایی کند و به آن‌ها متصل شود.

وقتی ۹ تا ۱۰ نوکلئوتید اول RNA پلیمریزه شدند زیر واحد سیگما از RNA پلیمراز جدا می‌شود و به زیر واحدهای مرکزی RNA پلیمراز دیگر چسبیده و در شروع نسخه‌برداری به RNA پلیمرازهای دیگر کمک کند. با جدا شدن فاکتور سیگما رونویسی وارد مرحله طویل سازی زنجیره elongation می‌شود. زیر واحدهای مرکزی RNA پلیمراز بدون زیر واحد سیگما به DNA الگو محکم‌تر می‌چسبند. RNA پلیمراز متصل به الگو باقی می‌ماند و در جهت '۳ به '۵ رشته DNA الگو حرکت می‌کند و به نسخه‌برداری از کل ژن ادامه می‌دهد تا به سیگنال خاتمه برسد. در باکتری E.Coli دسته‌ای دیگر از ژن‌ها وجود دارند که پروموتور آن‌ها به RNA پلیمراز با زیر واحد متفاوت متصل می‌شود. سیگما ۳۲



شکل ۹-۷: شناسایی پروموتور توسط فاکتور سیگما و شروع رونویسی توسط RNA پلیمراز باکتری

Scanned by TapScanner

Heat-Shock genes می‌باشند. با استفاده از زیر واحدهای متفاوت سیگما سلول می‌تواند بیان ژن‌هایی را که باعث تغییرات عمده در فیزیولوژی سلول می‌گردند را کنترل کند.

(σ^{32}) مختص شناسایی پروموتور ژن‌های موسوم به شوک حرارتی

۶-۷ مرحله خاتمه Termination نسخه‌برداری

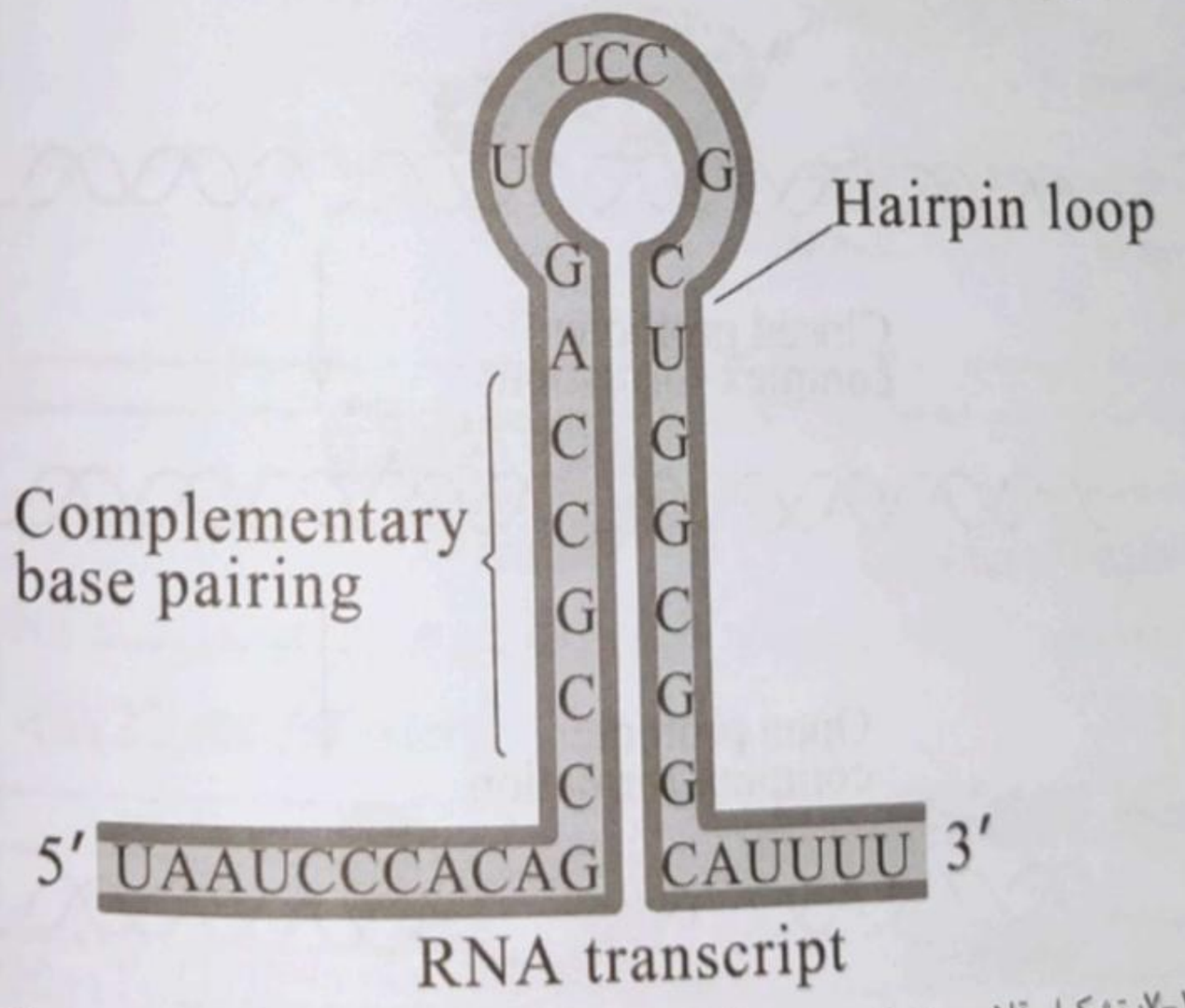
وقتی RNA پلیمراز با توالی خاصی روی DNA موسوم به سیگنال خاتمه مواجه می‌شود متوقف می‌شود و عمل رونویسی خاتمه می‌یابد. در باکتری E. Coli حداقل دودسته سیگنال خاتمه وجود دارد یک دسته از این مکانیسم خاتمه وابسته به پروتئینی بنام Rho (ρ) بوده و دسته دیگر بدون نیاز و مستقل از پروتئین Rho می‌باشد.

سیگنال‌های خاتمه مستقل از Rho (شکل ۱۰-۷) دارای دو ویژگی بارز هستند:

۱. ناحیه‌ای از DNA که سنتز RNA در آنجا خاتمه می‌یابد دارای توالی خود مکمل Self complementary بوده و بازهای رونویسی شده از این قسمت در زنجیره RNA با خود تشکیل پیوند هیدروژنی داده که درنتیجه رشته RNA رونویسی‌شده تشکیل ساختمانی مانند سنجاق مو Hairpin structure می‌دهد. این ساختمان سنجاق مو ۱۵ تا ۲۰ نوکلئوتید قبل از انتهای '۳ رشته RNA تازه ساخته شده به وجود می‌آید.

۲. توالی ۳ تایی نوکلئوتید A در DNA الگو که به‌صورت ۳ نوکلئوتید U در انتهای '۳ سنجاق مو در RNA، رونویسی می‌شود.

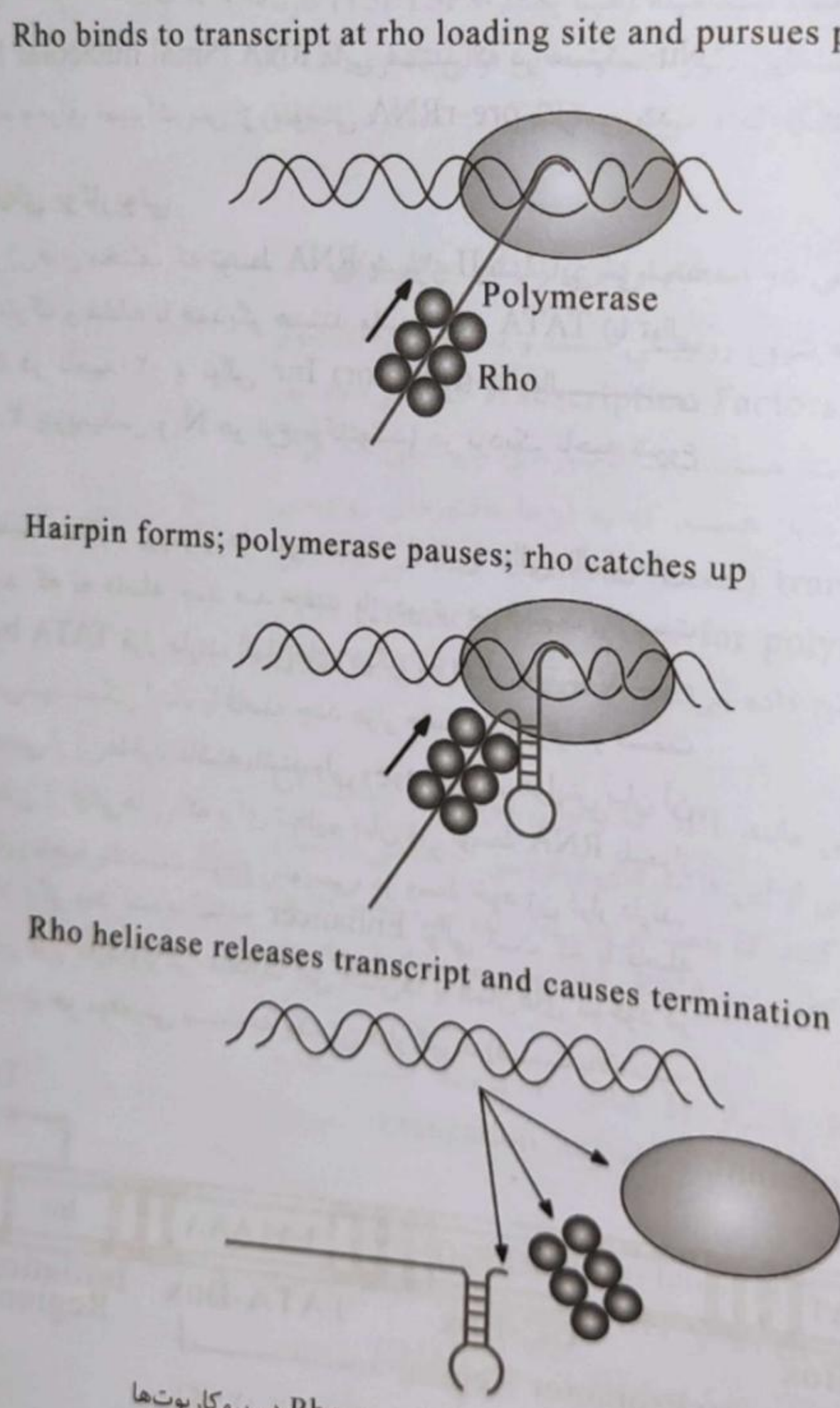
وقتی RNA پلیمراز با چنین ساختمانی مواجه می‌شود متوقف می‌شود. تشکیل ساختمان سنجاق مو در RNA باعث شکستن پیوند هیدروژنی بین RNA و DNA الگو در هیبرید RNA-DNA می‌شود و همچنین برهم‌کنش بین RNA و آنزیم RNA پلیمراز را مختل می‌کند که درنتیجه RNA از آنزیم



شکل ۱۰-۷: تشکیل قلاب سنجاق مو به‌عنوان سیگنال خاتمه رونویسی مستقل از پروتئین Rho در باکتری

Scanned by TapScanner

پلیمراز جدا می‌شود. مکانیسم خاتمه وابسته به پروتئین Rho فاقد توالی تکراری A در رشته DNA الگو می‌باشد؛ اما معمولاً دارای توالی غنی از CA که به آن rho utilization (rut) گفته می‌شود است. Rho پروتئینی با زیر واحدهای ۴۶ کیلو دالتون است که به‌طور اختصاصی به‌توالی به طول ۷۲ نوکلئوتید در RNA تک‌رشته‌ای متصل می‌شود. پروتئین Rho معمولاً به‌صورت هگزامر به‌توالی rut روی زنجیره RNA متصل می‌شود و در جهت ۳′ ⟶ ۵′ رشته RNA حرکت می‌کند تا به کمپلکس نسخه‌برداری شامل RNA پلیمراز-DNA مواجه می‌شود. پروتئین Rho دارای فعالیت RNA-DNA هلیکازی است که با هیدرولیز ATP باعث جدا شدن RNA از DNA و خاتمه رونویسی می‌شود (شکل ۱۱-۷).



شکل ۱۱-۷: مکانیسم خاتمه رونویسی وابسته به Rho در پروکاریوت‌ها

Scanned by TapScanner

۷-۷ نسخه‌برداری در یوکاریوت‌ها

رونویسی در هسته سلول‌های یوکاریوتی بسیار پیچیده‌تر از آن چیزی است که در باکتری‌ها دیده می‌شود. سلول‌های یوکاریوتی دارای ۳ نوع RNA پلیمراز هستند که با اعداد لاتین III, II, I نشان داده می‌شوند. RNA پلیمراز I مسئول سنتز انواع rRNA موجود در ریبوزوم به‌جز 5S rRNA است.

RNA پلیمراز II مسئول سنتز mRNA و SnoRNA و بعضی از SnRNAها است.

RNA پلیمراز III مسئول سنتز 5SrRNA و بعضی از ژن‌های SnRNA و بعضی از سایر RNAهای کوچک دیگر است.

SnRNA (Small nuclear RNA) RNA هایی کوچک هستند که در هسته سلول‌های یوکاریوتی هستند که برای پردازش pre-mRNA موردنیاز هستند.

SnoRNA (Smal nucleolar RNA) RNA هایی هستند که در هستک Nu-cleolus وجود دارند و برای تغییرات پس از رونویسی pre-rRNA بکار می‌روند.

۷-۸ پروموتور ژنهای یوکاریوتی

بسیاری از پروموتور ژن‌های مختلف که توسط RNA پلیمراز II شناسایی می‌شوند دارای المان‌های مشترک و مشابه با همدیگر هستند مانند جعبه TATA (با توالی غالب TATAAA) در ناحیه۳۰- و توالی Inr (Initiator) با توالی YYANT/AYY (Y پیریمیدین و N هر نوع نوکلئوتید) در نزدیک ناحیه شروع رونویسی(+۱).

این توالی‌ها در تنظیم عملکرد پروموتورها مهم هستند. بعضی توالی (المان‌های) دیگر نیز وجود دارند که به فاصله چند صد جفت باز دورتر در قسمت بالادست سمت ′۵ جعبه TATA box قرار دارند. المان‌های دیگر که به آن‌ها تشدیدکننده Enhancerگفته می‌شود ممکن است با فاصله چند هزار جفت باز دورتر در قسمت بالادست پروموتور بعضی از ژن‌ها قرار داشته باشند ولی وجود آن‌ها در افزایش بیان آن ژن‌ها مؤثر است. بعضی از توالی‌هایی که برای تنظیم بیان ژن توسط RNA پلیمراز III لازم هستند بجای ناحیه بالادست شروع رونویسی، در وسط خود ژن قرار دارند. همان‌طور که در بالا ذکر شد تشدیدکننده Enhancer توالی است که با فاصله زیاد از شروع یک ژن قرار دارد ویژگی متفاوت این المان‌ها با المان‌های موجود در پروموتور این است که در هر موقعیتی نسبت به یک ژن قرار گیرند (قسمت بالادست-



شکل ۱۲-۷: المان‌های موجود در پروموتور ژن‌های یوکاریوتی

Scanned by TapScanner

پایین‌دست و یا در وسط ژن و حتی در وسط انترون) اثر خود را در افزایش بیان آن ژن اعمال می‌کنند و همچنین اثر تنظیمی این المان‌ها به جهت توالی آن‌ها بستگی ندارد و با تغییر جهت توالی آن‌ها باز اثر افزایش بیان ژن این المان‌ها از بین نمی‌رود. این ویژگی‌های (Enhancer) با سایر المان‌هایی که در پروموتور یک ژن وجود دارند و فقط در موقعیت و با جهت خاص توالی می‌توانند در بیان یک ژن اثر داشته باشند بسیار متفاوت است.

۹-۷ اهمیت انتهای کربوکسیلی RNA پلیمراز II (CTD domain) در رونویسی

RNA پلیمراز II که مسئول رونویسی mRNA است آنزیمی بزرگ با ۱۲ زیر واحد است. بزرگ‌ترین زیر واحد RNA پلیمراز II (زیر واحد 'l) در انتهای کربوکسیلی خود تعدادی زیاد توالی تکراری شامل هفت اسیدآمینه (هپتا پپتید YSPTSPS) دارد. در آنزیم انسان ۵۲ بار این توالی هفت‌تایی تکرار شده و به این توالی تکراری CTD (Carboxyl terminal Domain) گفته می‌شود. CTD در عملکرد RNA پلیمراز II نقش‌های مهمی دارد.

۱۰-۷ نقش فاکتورهای رونویسی در نسخه برداری ژنهای یوکاریوتی

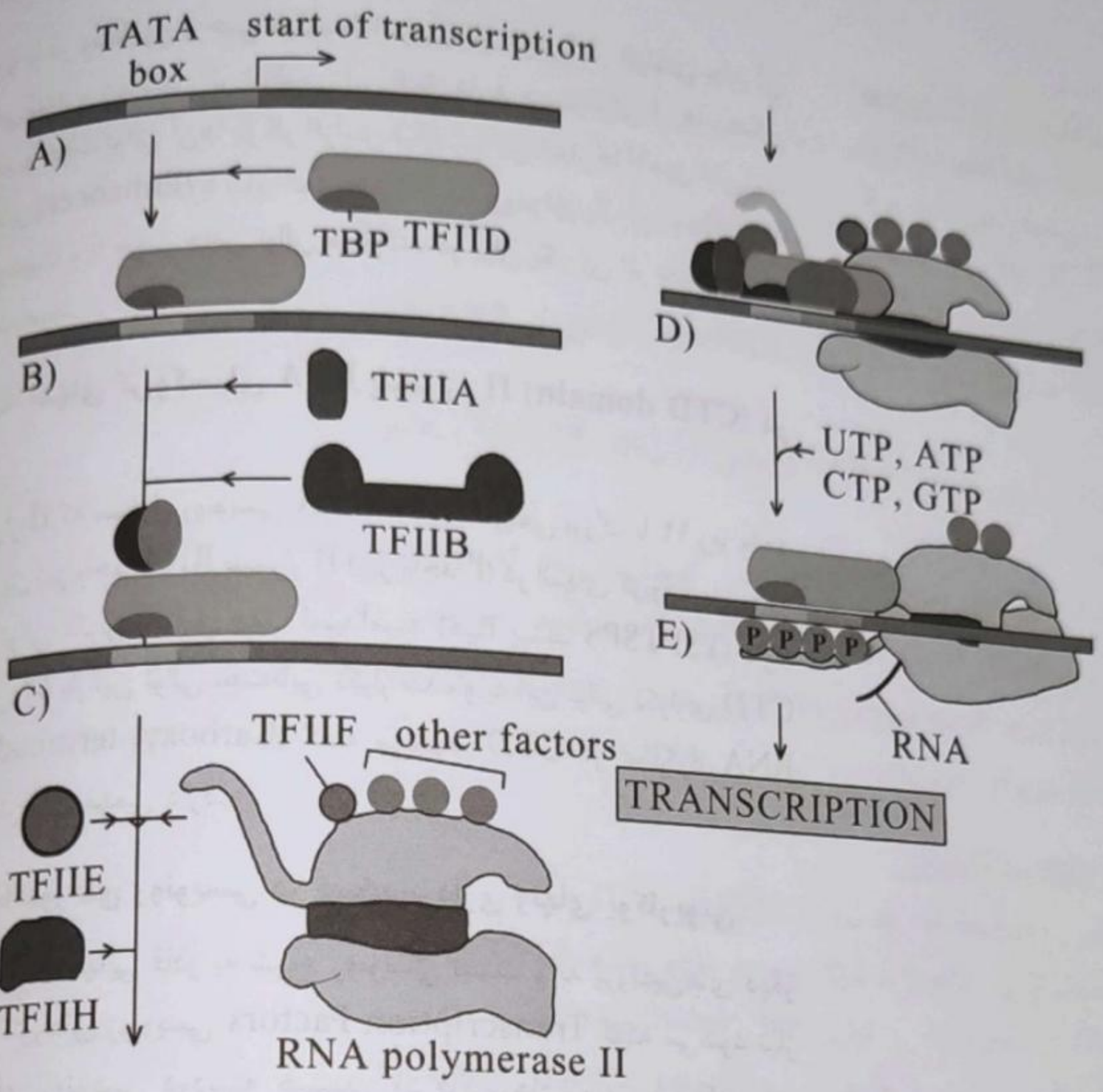
RNAپلیمراز II به‌تنهایی قادر به شروع رونویسی نیست و به پروتئین‌های دیگر که به آن‌ها فاکتورهای رونویسی Transcription Factors گفته می‌شود نیاز دارد. فاکتورهای رونویسی دودسته هستند. ۱ـ فاکتورهای پروتئینی که برای شناسایی همه پروموتور ژنها موردنیاز هستند که به آن‌ها فاکتورهای رونویسی عمومی General (basal) transcription factors گفته می‌شود. این فاکتورها به‌صورت TFII (Transcription factor for polymerase II) همراه با حروف الفبای لاتین نشان داده می‌شوند (TFIIA, TFIID, TFIIE, ...).

۲ـ فاکتورهای رونویسی اختصاصی مانند SP1 که به‌توالی موسوم به GC Box در پروموتور متصل می‌شوند. بعضی از این فاکتورهای رونویسی اختصاصی به‌عنوان فعال‌کننده Activator عمل می‌کنند که باعث افزایش بیان ژن می‌شوند و بعضی به‌عنوان منع‌کننده repressor که سنتز RNA را از روی بعضی از ژن‌ها منع می‌کنند.

فرآیند رونویسی توسط RNA پلیمراز II شامل ۴ مرحله است: تجمع Assembly - مرحله شروع Initiation، مرحله رشد Elongation و مرحله خاتمه Termination.

در مرحله تجمع ابتدا پروتئین TBP (TATA Binging Protein) همراه با TFIIAو TFIIBو TFIIF,TFIIE و TFIIH و پلیمراز II در ناحیه TATA Box به DNA متصل شده و تشکیل کمپلکس بسته با DNA می‌دهند. TBP جزئی از کمپلکس بزرگ‌تر TFIID می‌باشد. DNA در ناحیه Inr توسط

Scanned by TapScanner



شکل ۱۳-۷: اتصال فاکتورهای رونویسی عمومی و RNA پلیمراز به جعبه TATA روی پروموتور و تشکیل کمپلکس رونویسی در ابتدای رونویسی ژن‌های یوکاریوتی

فعالیت هلیکازی TFIIH باز می‌شود و کمپلکس باز را به وجود می‌آورد (شکل ۱۳-۷).

TFIIH دارای دو فعالیت آنزیمی است فعالیت هلیکازی که موجب باز شدن دو زنجیره مکمل DNA از هم در محل شروع رونویسی شده و کمپلکس باز را به وجود می‌آورد. این فرآیند نیاز به هیدرولیز ATP توسط TFIIH دارد. فعالیت آنزیمی دیگر TFIIH فعالیت کینازی آن است که موجب فسفریله شدن ناحیه CTD در RNA پلیمراز II می‌شود. به‌جز TFIIA حداقل ۳۰ پلی پپتید دیگر در تشکیل کمپلکس آغازگر Initiation complex در ناحیه پروموتور شرکت دارند. با فسفریله شدن ناحیه CTD آنزیم RNA پلیمراز II توسط TFIIH ، پلیمراز از پروموتور فاصله گرفته و رونویسی را شروع می‌کند. در طی سنتز ۶۰ تا ۷۰ نوکلئوتید اول mRNA ابتدا TFIIE و سپس TFIIH جدا می‌شوند و پلیمراز وارد فاز طویل شدن Elongation می‌شود. در مرحله طویل شدن زنجیره Elongation همه فاکتورهای رونویسی به‌جز TFIIF از آنزیم جدا می‌شوند و سرعت رونویسی توسط پروتئین‌هایی بنام فاکتورهای طویل کننده Elongation Factor افزایش می‌یابد.

مکانیسم و سیگنال خاتمه رونویسی در سلول‌های یوکاریوتی شناخته شده نیست؛ اما در

Scanned by TapScanner

مرحله خاتمه TFIIF نیز از RNA پلیمراز جدا می‌شود و CTD دوباره غیر فسفریله می‌شود و آنزیم از DNA جدا شده و آماده برای شروع مجدد رونویسی از ابتدای ژن می‌شود.

۱۱-۷ پردازش RNA

بسیاری از مولکول‌های RNA در باکتری‌ها و همه مولکول‌های RNA در یوکاریوت‌ها بعد از سنتز تغییرمی یابند. چندین آنزیم که تغییر RNA را کاتالیز می‌کنند خود RNA هستند. به این مولکول‌های RNA کاتالیز کننده ریبوزیم Ribozyme گفته می‌شود.

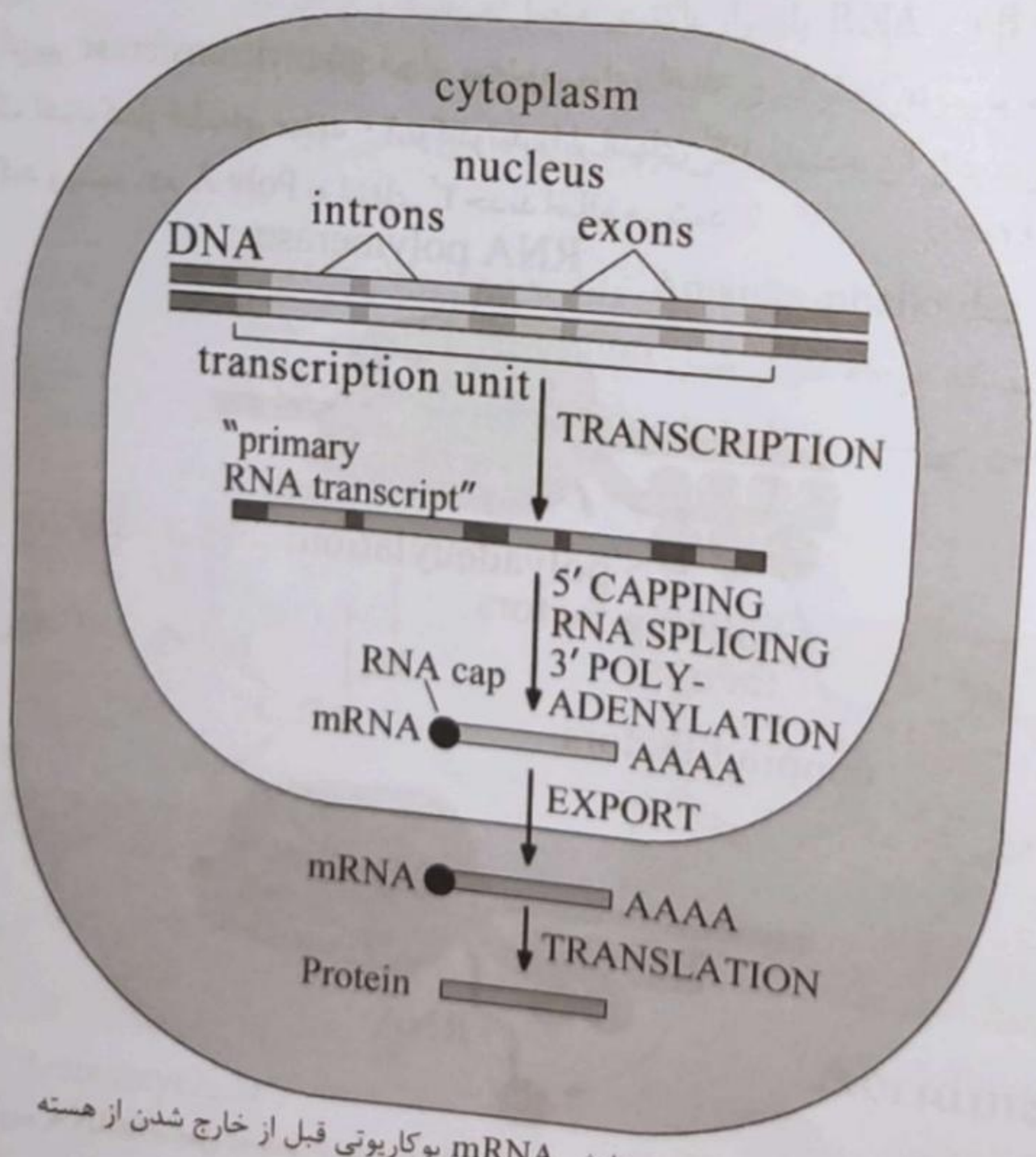
به مولکول RNA سنتز شده بلافاصله پس از رونویسی، رونوشت اولیه Pri-mary transcript گفته می‌شود. بیشترین میزان تغییرات در رونوشت اولیه mRNA یوکاریوتی انجام می‌گیرد و همچنین tRNA هم در باکتری‌ها و هم دریوکاریوت‌ها تغییر می‌یابند.

تغییرات روی mRNA یوکاریوتی شامل:

۱. اضافه شدن کلاه 7-methylguanosin triphosphate cap به انتهای '۵ زنجیره mRNA

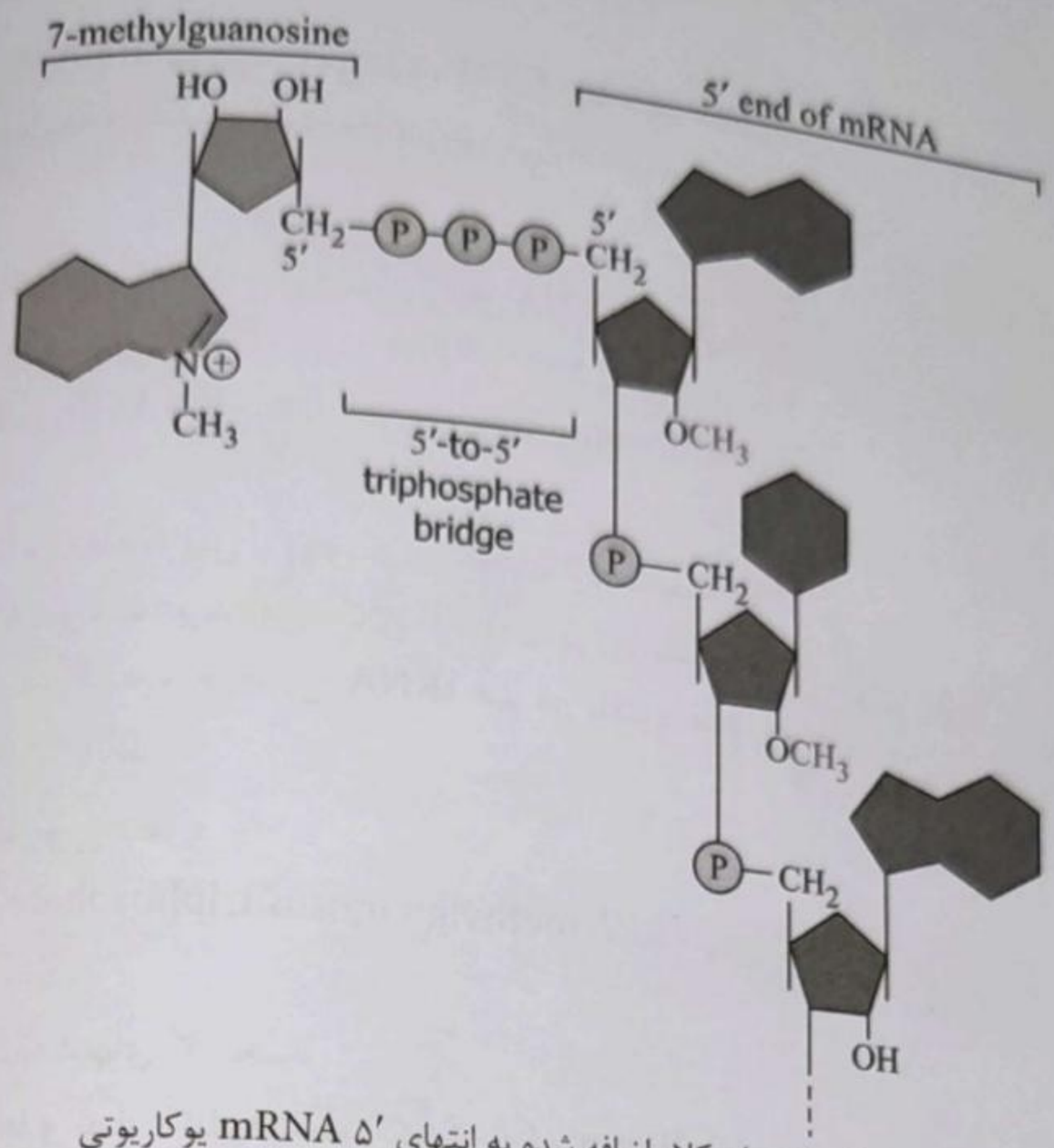
۲. اضافه شدن دم Poly A به انتهای '۳ زنجیره

۳. برداشته شدن Intron ها و اتصال اگزانها به همدیگر که به آن Splicing گفته می‌شود (شکل ۱۴-۷).



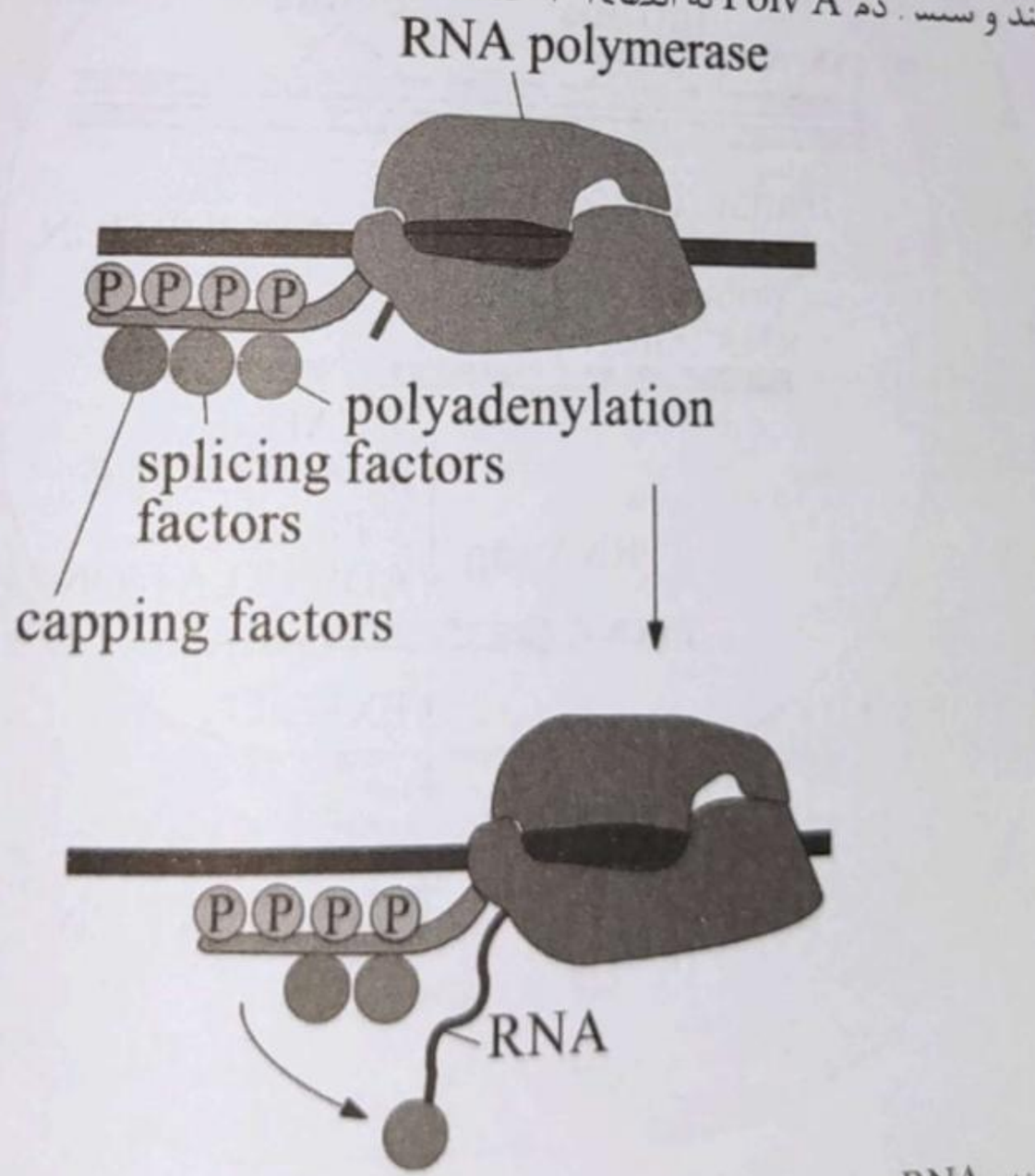
شکل ۱۴-۷: سه نوع پردازش mRNA یوکاریوتی قبل از خارج شدن از هسته

Scanned by TapScanner



شکل ۱۵-۷: ساختمان کلاه اضافه شده به انتهای ′۵ mRNA یوکاریوتی

اضافه شدن کلاه توسط آنزیم guanyltransferase انجام می‌شود. برای اضافه شدن دم Poly A ابتدا یک اندونوکلئاز قطعه‌ای حدود ۲۰ نوکلئوتید را از انتهای ′۳ زنجیره mRN را جدا می‌کند و سپس دم Polv A به انتهای ′۳ جدید اضافه می‌شود



شکل ۱۶-۷: عوامل پردازش کننده mRNA متصل به پلیمراز بوده و ضمن رونویسی تغییرات لازم را روی نسخه اولیه RNA به وجود می‌آورند

Scanned by TapScanner

(شکل ۱۵-۷).

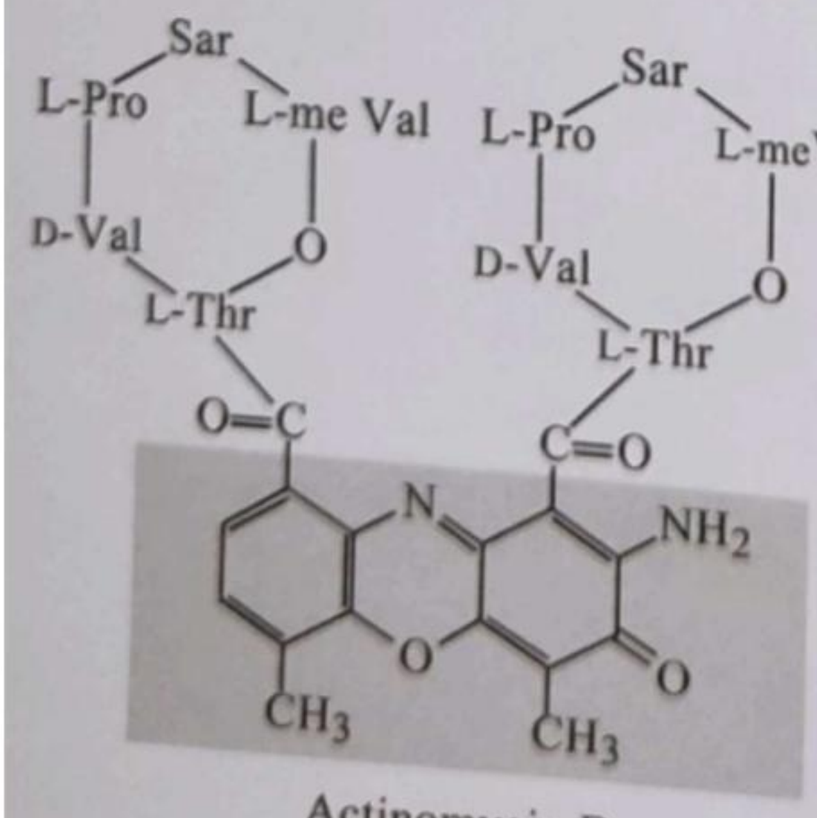
عوامل پردازش گر mRNA به CTD فسفریله آنزیم RNA پلیمراز II متصل می‌شوند و فرآیند تغییر گاهی در حین رونویسی روی mRNA انجام می‌گیرد (شکل ۱۶-۷).

۱۲-۷ ممانعت کننده‌های رونویسی

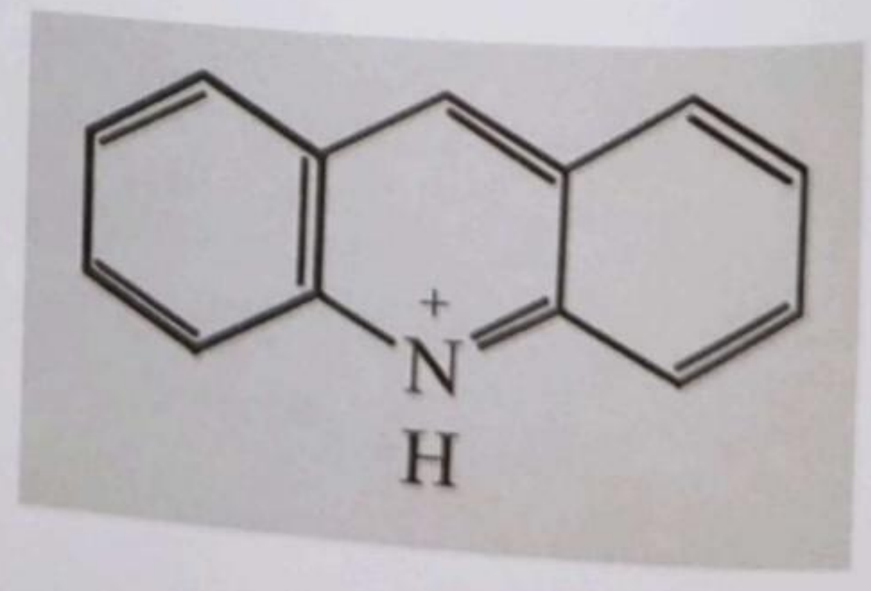
تعدادی از ترکیبات شیمیایی سمی باعث منع رونویسی می‌شوند. Actinomycin D (شکل ۱۷-۷) موجب منع رونویسی در مرحله طویل شدن زنجیره Elongation توسط RNA پلیمراز II می‌شود. مولکول این ماده شیمیایی دارای قسمتی سه حلقه‌ای بنام حلقه فنوکسازون است که در محل جفت بازهای متوالی GC وارد دو رشته DNA می‌شود و قسمت پپتید حلقوی آن تشکیل چندین پیوند هیدروژنی و واندروالس با گوانین موجود در دو رشته مقابل DNA می‌دهد. اتصال اکتینومایسین D با دو رشته مقابل DNA باعث می‌شود که دو رشته DNA نتوانند از هم باز شوند. در حقیقت این آنتی‌بیوتیک مانند زیپی بسته مانع از باز شدن دو رشته DNA شده و موجب منع رونویسی در سلول می‌شوند. اکتینومایسین D هم در پروکاریوت‌ها و هم دریوکاریوت‌ها مانع انجام رونویسی می‌شود. اکریدین نیز به طریق مشابه مانع سنتز RNA می‌شود (شکل ۱۷-۷).

ریفامپسین یک مشتق نیمه سنتزی ریفامایسین است. ریفامایسین توسط کفک استرپتومایسیس ترشح می‌شود و سنتز RNA را در باکتری‌ها منع می‌کند. ریفامایسین به زیر واحد β از RNA پلیمراز باکتری متصل می‌شود و از حرکت RNA پلیمراز به ناحیه پروموتور جلوگیری می‌کند. چون مانع سنتز RNA در سلول‌های یوکاریوتی نمی‌شود از آن به‌عنوان آنتی‌بیوتیک برای درمان بعضی عفونت‌ها استفاده می‌شود (شکل ۱۸-۷).

قارچ سمی بنام آمانیتا Amanita phalloides تولید یک اکتاپپتید حلقوی به نام آلفا- آمانیتین می‌کند که مرحله طویل شدن Elongation , رونویسی توسط RNA پلیمراز II را منع می‌کند. در غلظت‌های بالا آمانیتین از عملکرد RNA



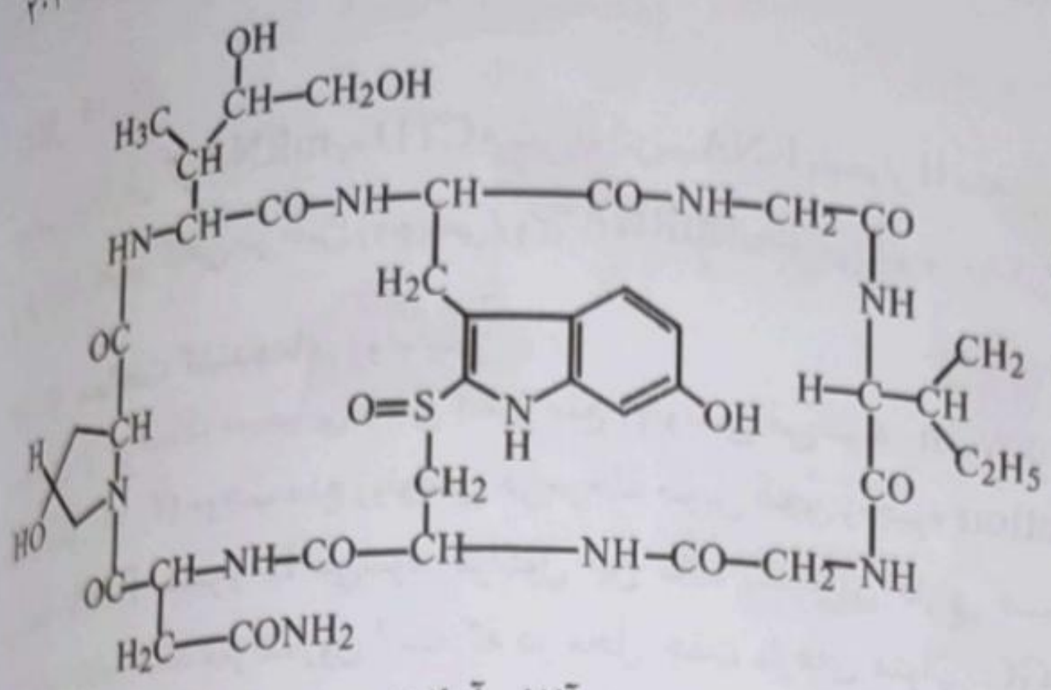
Actinomycin D



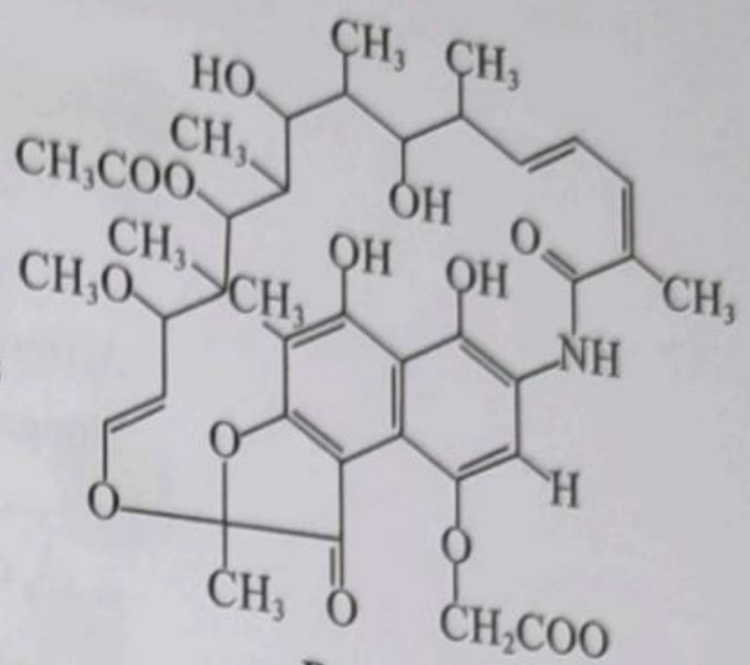
Acridine

شکل ۱۷-۷: ساختمان شیمیایی اکتینومایسین D و اکریدین دو ممانعت کننده رونویسی در پروکاریوت و یوکاریوت

Scanned by TapScanner



آلفا- آمانیتین



ریفامایسین B

شکل ۱۸-۷: ترکیبات منع‌کننده رونویسی در پروکاریوت‌ها (شکل سمت راست) و یوکاریوت‌ها (شکل سمت چپ)

پلیمراز III نیز جلوگیری می‌کند. آلفا-آمانیتین RNA پلیمراز I و RNA پلیمراز باکتری‌ها را منع نمی‌کند و همچنین RNA پلیمراز II خود قارچ توسط این ماده سمی منع نمی‌شود (شکل ۱۸-۷).

Scanned by TapScanner

۱۴-۷ سوالات نمونه

۱- فاکتورهای رونویسی به کدام قسمت از ژن متصل می شوند؟

الف- TATA Box
ب- پروموتور
ج- Enhancer
د- Cis-acting elements
ه- تمام موارد فوق

۲- کدام پلیمراز مسئول سنتز rRNA یوکاریوتی است؟

الف- RNA pol. I
ب- RNA pol. II
ج- RNA pol III
د- الف و ج

۳- کدام ماده شیمیایی رونویسی mRNA را فقط در باکتریها منع میکند؟

الف- ریفامپسین
ب- اکتینومایسین
ج- اکریدین
د- آلفا-آمانیتین

۴- کدامیک از عوامل زیر برای شناسایی پروموتور ژنهای باکتری توسط RNA پلیمراز ضروری است؟

الف- Ter
ب- TUS
ج- سیگما فاکتور
د- پروتئین Rho

۵- تغییر موقعیت کدامیک از المانهای زیر تاثیری در عملکرد آن ندارد؟

الف- TATA Box
ب- GC Box
ج- CAAT Box
د- Enhacer
ه- تمام موارد فوق

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	ه
۲	د
۳	الف
۴	ج
۵	د

Scanned by TapScanner

۸

فصل هشتم:

ترجمه و سنتز پروتئین

Translation

دکتر فخرالدین نقیب الحسینی

هدف کلی درس: آشنایی با مکانیسم انجام سنتز پروتئین در سلول‌های پروکاریوتی و یوکاریوتی

اهداف اختصاصی:

با مطالعه این فصل دانشجو بایستی مطالب زیر را بیاموزد:

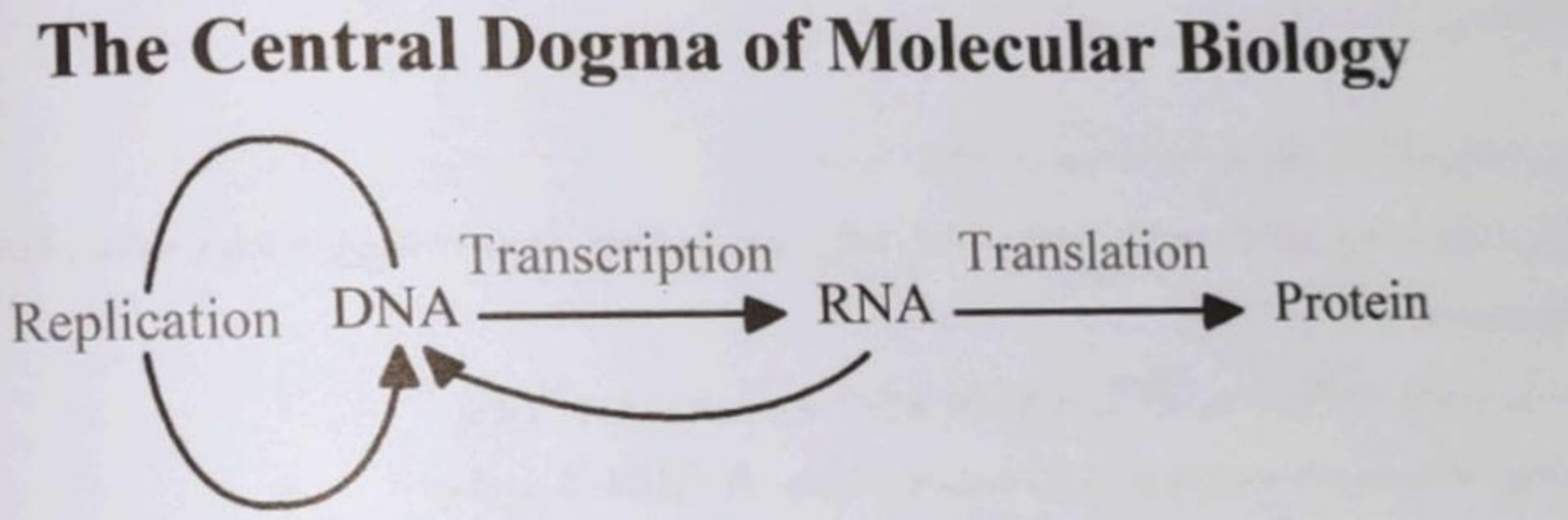
- فرآیندهای مراحل مختلف سنتز پروتئین شامل فعال شدن اسیدهای آمینه – شروع – تداوم خواندن کدها - رشد زنجیره پلی پپتیدی و خاتمه ترجمه
- اجزای سازنده در کمپلکس آغازگر در فرآیند ترجمه پروکاریوتی و یوکاریوتی
- عواملی که موجب هدایت ریبوزوم برای شناسایی انتهای ۵'-mRNA می‌شود
- فاکتورهای دخالت کننده در مراحل شروع و تداوم و خاتمه ترجمه و عملکرد آن‌ها
- سموم و آنتی‌بیوتیک‌های مختلف که موجب منع سنتز پروتئین در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها می‌شوند و مکانیسم عمل آن‌ها

Scanned by TapScanner

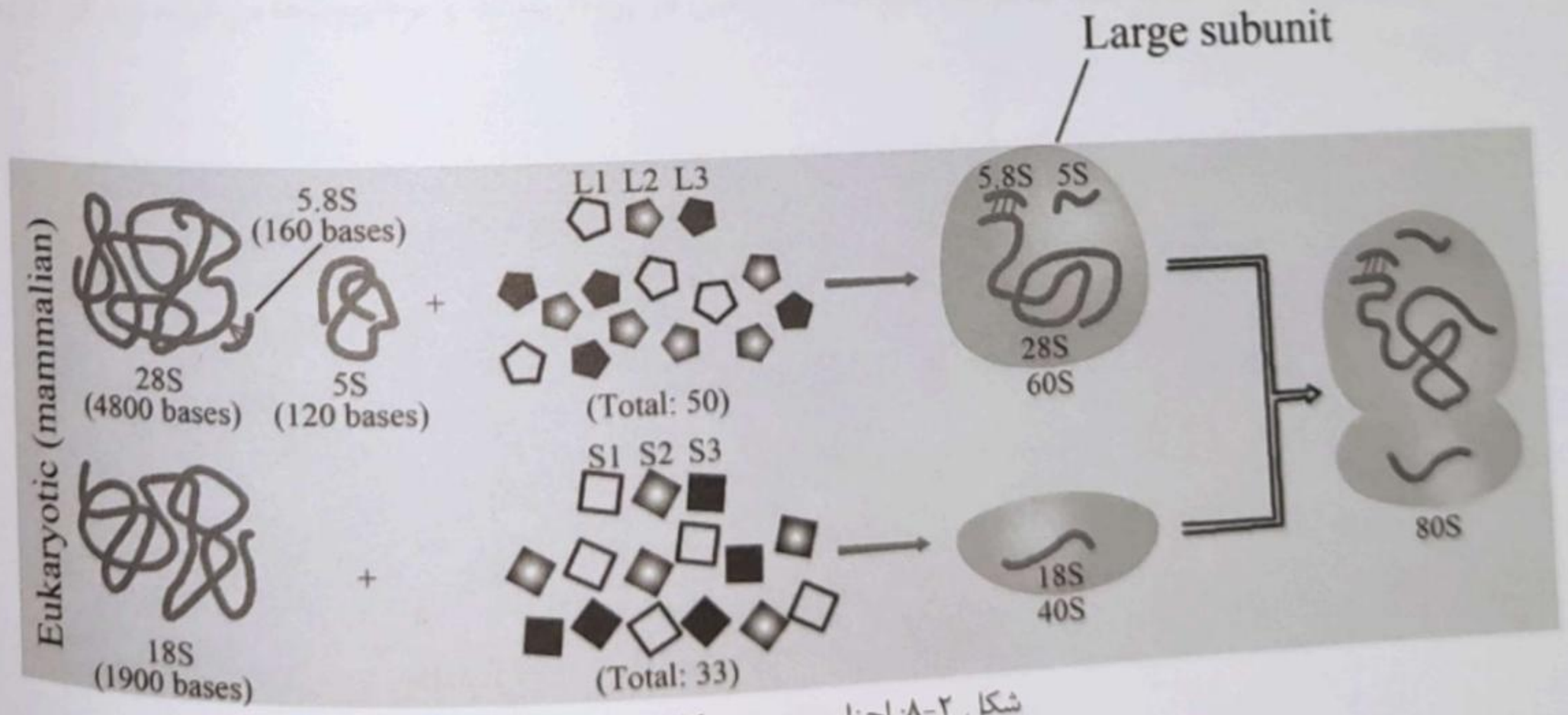
۱-۸ مقدمه

به فرآیند سنتز پروتئین از روی mRNA توسط ریبوزوم، ترجمه Translation گفته می‌شود. جریان انتقال اطلاعات ژنتیکی با همانندسازی DNA شروع می‌شود. اطلاعات ژنتیکی سپس به‌صورت RNA رونویسی می‌شود و سپس به‌صورت پروتئین ترجمه می‌شود؛ بنابراین جهت جریان اطلاعات از DNA به RNA و از RNA به پروتئین است. آنزیم‌هایی که به آن Reverse transcriptase گفته می‌شود، (مانند تلومراز و آنزیم موجود در بعضی از رترو ویروس‌ها) اطلاعات در جهت عکس رونویسی Transcription از RNA می‌تواند به‌صورت DNA درآید. تاکنون آنزیمی که بتواند از روی پروتئین RNA یا DNA بسازد شناخته نشده است؛ بنابراین جهت انتقال اطلاعات ژنتیکی کماکان به‌صورت یک‌طرفه از DNA به RNA به پروتئین می‌باشد. به این نحوه انتقال اطلاعات ژنتیکی از فرم DNA به RNA به پروتئین، عقیده مرکزی Centeral dogma بیولوژی مولکولی گفته می‌شود (شکل ۱-۸).

ترجمه پیچیده‌ترین فرآیند بیوسنتز در سلول می‌باشد. تقریباً ۳۰۰ ماکرومولکول مختلف برای سنتز یک زنجیره پلی پپتید دخالت دارند. بسیاری از این ماکروملکول‌ها جزء ساختمان پیچیده سه‌بعدی ریبوزوم هستند. ریبوزوم‌ها اندامک‌هایی هستند که از پروتئین و rRNA تشکیل‌شده‌اند (ریبونوکلئوپروتئین).



شکل ۱-۸: عقیده مرکزی بیولوژی مولکولی در خصوص نحوه انتقال اطلاعات ژنتیکی



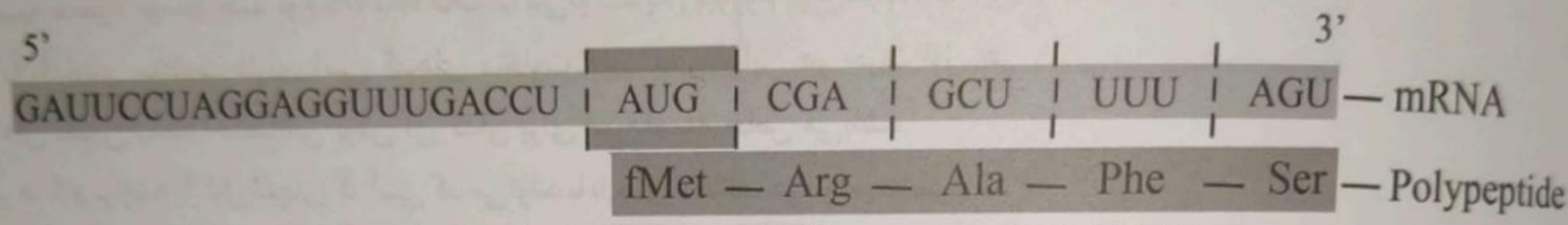
شکل ۲-۸: اجزاء ریبوزوم یوکاریوت‌ها

Scanned by TapScanner

۲-۸ کد ژنتیکی

هر سه نوکلئوتید متوالی روی mRNA یک کد ژنتیکی را تشکیل می‌دهد که برای یک آمینواسید خاص کد می‌کند. از ترکیب چهار نوع نوکلئوتید ۶۴ = ۴³ کد برای ۲۰ نوع اسیدآمینه مختلف می‌تواند وجود داشته باشد (شکل ۳-۸). کدان شروع‌کننده AUG می‌باشد که سنتز پروتئین با آن شروع می‌شود و به سه کدان UAG, UAA و UGA کدان‌های خاتمه گفته می‌شود که برای هیچ اسیدآمینه خاصی کد نمی‌کنند و علامت خاتمه سنتز زنجیرهٔ پلی پپتیدی هستند.

توالی موجود در هر تک رشته DNA یا mRNA به سه فرم (قالب) می‌تواند خوانده شود؛ و هر قالب توالی متفاوتی از کدان‌ها خواهد داشت و درنتیجه ترجمه پپتیدهای متفاوتی می‌توانند داشته باشند (شکل ۴-۸)؛ اما از سه نوع قالب تنها یک قالب است



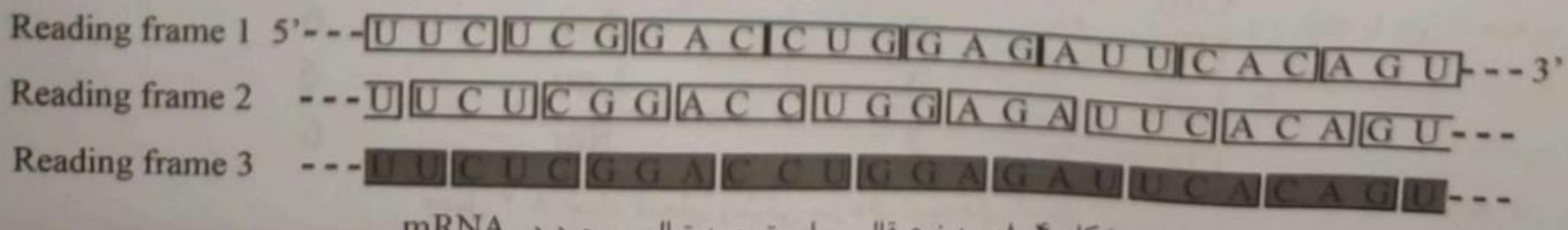
شکل ۳-۸: کدهای ژنتیکی روی mRNA و ترجمه آن‌ها به اسیدهای آمینه

SECOND POSITION

FIRST POSITION	U	C	A	G	THIRD POSITION
U	phenyl-alanine	serine	tyrosine	cysteine	U
					C
	leucine		stop	stop	A
			stop	tryptophan	G
C	leucine	proline	histidine	arginine	U
					C
			glutamine		A
					G
A	isoleucine	threonine	asparagine	serine	U
					C
	* methionine		lysine	arginine	A
					G
G	valine	alanine	aspartic acid	glycine	U
					C
			glutamic acid		A
					G

* and start

جدول ۱-۸: کدان‌های سه‌حرفی روی mRNA و جدول کدهای ژنتیکی



شکل ۴-۸: سه نوع قالب برای ترجمه توالی موجود در mRNA

Scanned by TapScanner

که عملا انتخاب می‌شود و ریبوزوم از روی آن پروتئین خاصی را سنتز می‌نماید که به آن قالب بازخوانی open reading frame گفته می‌شود. به عبارت دیگر به‌توالی کدها که از یک کدان شروع‌کننده خاص آغاز و به یک کدان خاتمه ادامه می‌یابد قالب بازخوانی Open Reading Frame گفته می‌شود.

بعضی از اسیدهای آمینه دارای بیش از یک نوع کدان هستند. مثلاً اسیدهای آمینه سرین، لوسین و آرژنین هر یک دارای ۶ کدان هستند.

اگرچه یک اسیدآمینه ممکن است دارای ۲ یا تعداد بیشتری کدان باشد اما عکس آن درست نیست یعنی هر کدان تنها یک اسیدآمینه را کد می‌کند و نه بیشتر. وقتی چندین کدان برای یک اسیدآمینه کد می‌کنند اختلاف این کدان‌ها معمولاً در موقعیت (نوکلئوتید) سوم این کدان‌ها است (در انتهای '۳ کدان). این اسیدهای آمینه معمولاً توسط چند نوع tRNA مختلف می‌توانند به ریبوزوم وارد شوند؛ که این tRNAهای متفاوت دارای آنتی کدهای متفاوت هستند؛ بنابراین دو حرف اول هر کدان تعیین‌کننده اختصاصی بودن آن کدان برای اسیدآمینه خاص می‌باشد.

در هنگام ترجمه باز اول انتهای '۵ آنتی کد می‌تواند با بازهای مختلف در موقعیت سوم کد جفت شود (باز اول آنتی کد با باز سوم کدان در mRNA جفت می‌شود). به این پدیده لرزان بودن (wobble) کدهای ژنتیکی گفته می‌شود (شکل ۵-۸).

به دلیل اینکه موقعیت اول آنتی کدان در بعضی از tRNAها دارای نوکلئوتید Inosinate (IMP) است که این نوکلئوتید دارای باز غیرمعمول هیپوزانتین است، Inosinate قادر به تشکیل پیوند هیدروژنی با هر سه نوع نوکلئوتید(دارای بازهای C, U و A) در موقعیت سوم کدان می‌باشد.

به کدان‌های متفاوتی که برای یک نوع اسیدآمینه کد می‌کنند کدان‌های مترادف Synonymous codons گفته می‌شود و به کدان‌هایی که برای اسیدهای آمینه

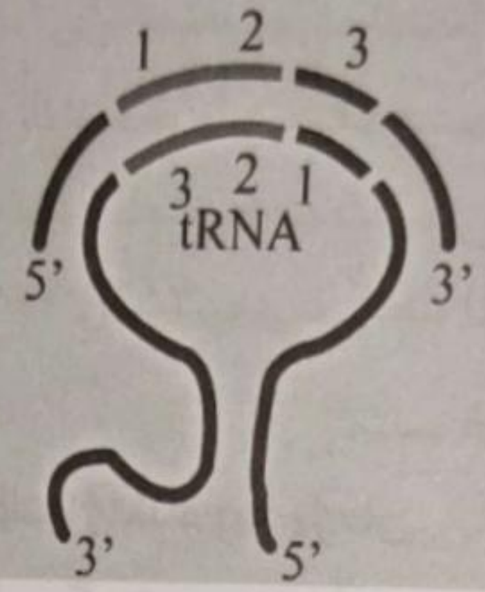
Degeneracy of the Genetic Code

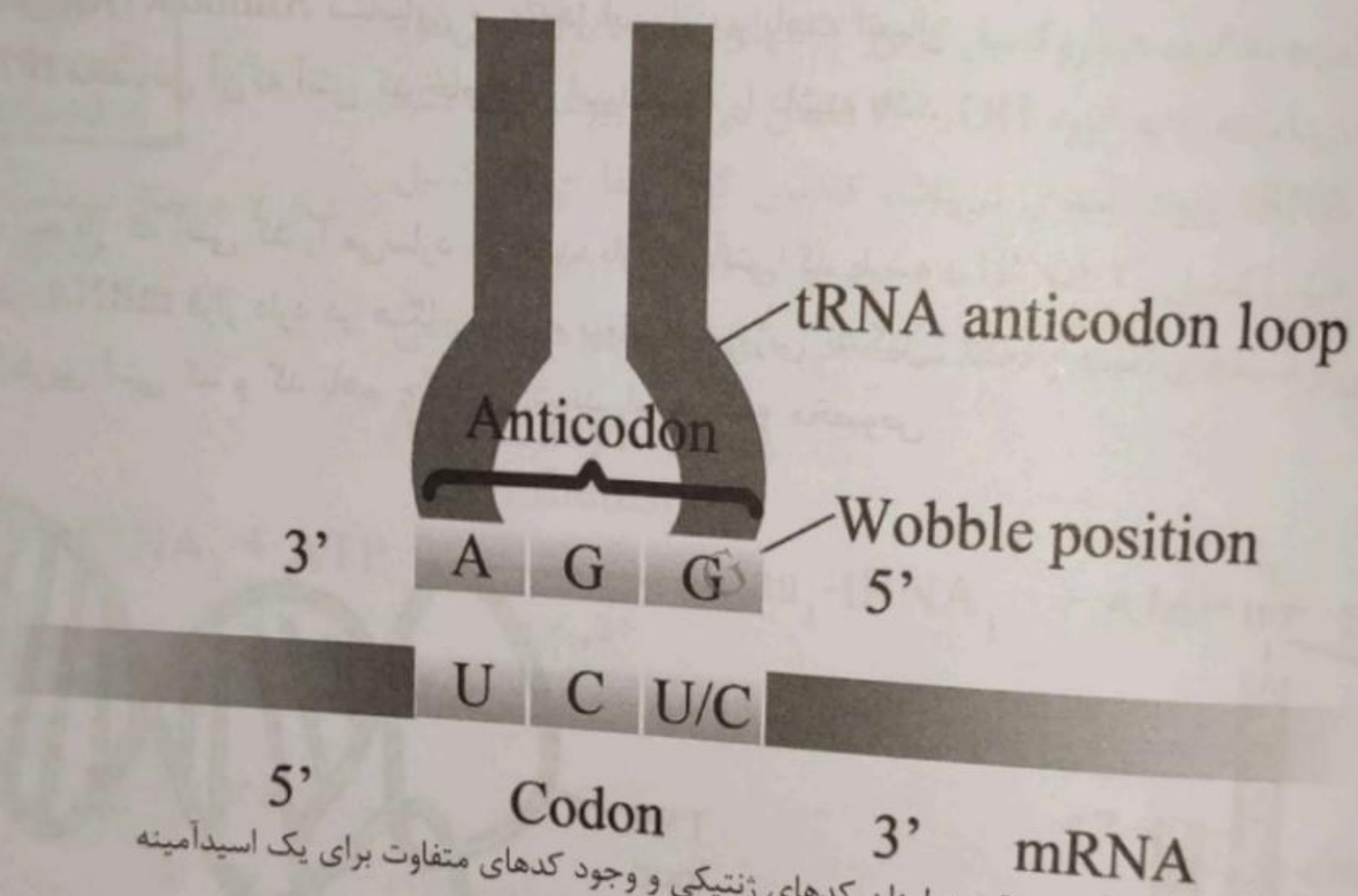
Amino acid	Number of codons	Amino acid	Number of codons
Met	1	Tyr	2
Trp	1	Ile	3
Asn	2	Ala	4
Asp	2	Gly	4
Cys	2	Pro	4
Gln	2	Thr	4
Glu	2	Val	4
His	2	Arg	6
Lys	2	Leu	6
Phe	2	Ser	6

جدول ۲-۸: تعداد کدهای ژنتیکی مترادف اسیدهای آمینه

Scanned by TapScanner

Ser Codons	Base at 1st position (5'-end) of tRNA	Base at 3rd position (3'-end) of mRNA
UCU	A	U
UCC	C	G
UCA	G	C or U
UCG	U	A or G
AGU	I	A, U or C
AGC		





شکل ۵-۸: موقعیت لرزان کدهای ژنتیکی و وجود کدهای متفاوت برای یک اسیدآمینه

متفاوت کد می‌کنند کدان‌های غیر مترادف Non-synonymous codons گفته می‌شود.

۸-۳ مراحل پنجگانه سنتز پروتئین

فرآیند بیوسنتز پروتئین در طی ۵ مرحله انجام می‌شود:

۱. فعال شدن اسیدهای آمینه Activation of Amino Acids
۲. مرحله شروع ترجمه Initiation
۳. مرحله رشد زنجیره پلی پپتیدی و طویل شدن آن Elongation
۴. مرحله خاتمه ترجمه و آزاد شدن زنجیره پلی پپتیدی از ریبوزوم Termination
۵. تا خوردن زنجیرهٔ پپتیدی و تغییرات بعد از ترجمه Folding & Posttranslational Processing

Scanned by TapScanner

۸-۴ مرحله فعال سازی اسیدهای آمینه

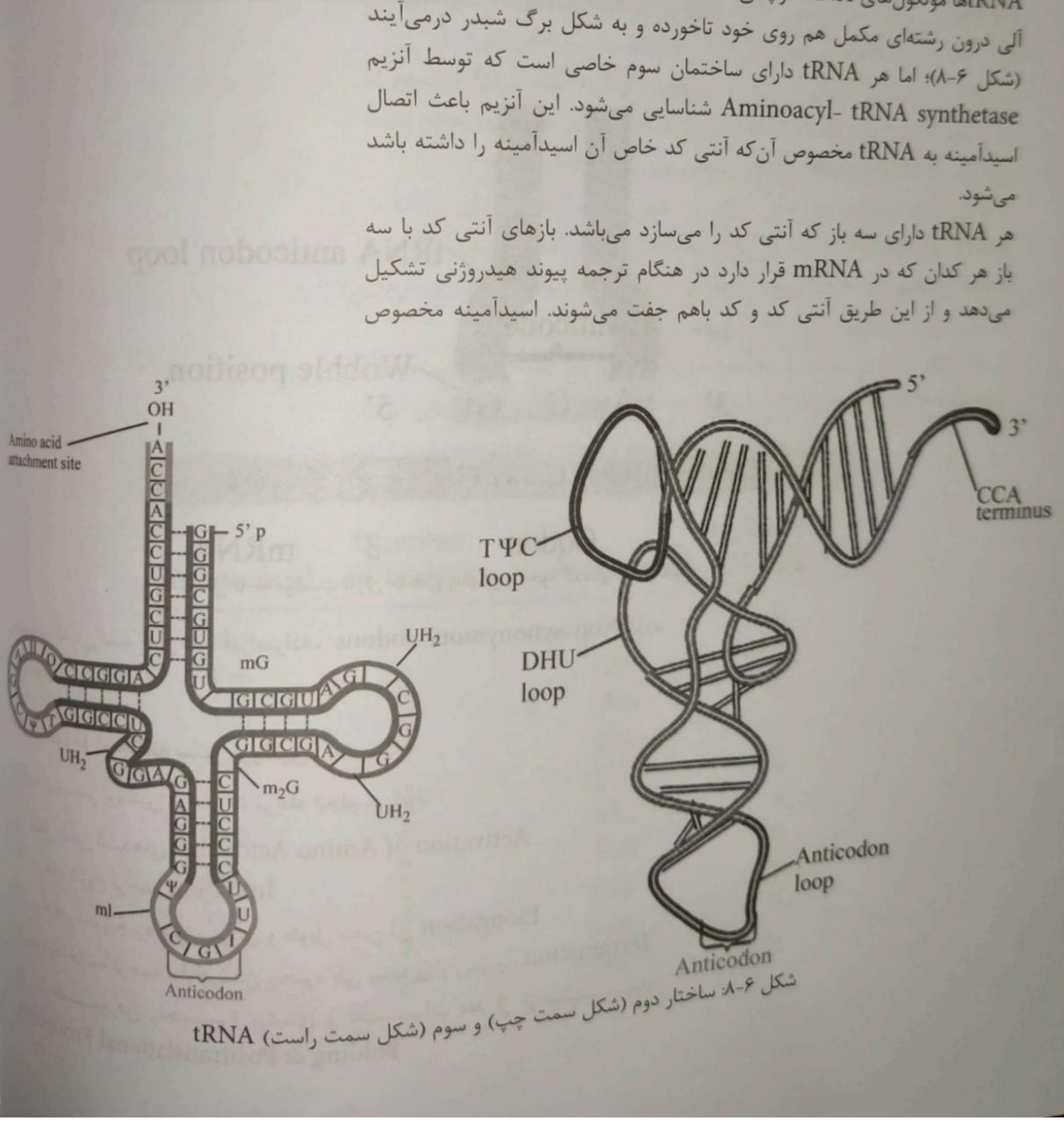
عواملی که برای فعال شدن اسیدهای آمینه در باکتری E.Coli لازم هستند شامل:

۱. ۲۰ نوع اسیدهای آمینه
۲. ۲۰ نوع آنزیم Aminoacyl-tRNA synthetase
۳. بیش از ۳۲ نوع tRNA مختلف
۴. ATP
۵. کاتیون Mg^{2+}

۸-۴-۱ Transfer RNA (tRNA):

tRNAها مولکول‌های RNA کوچکی هستند که به دلیل داشتن تعداد زیاد بازهای آلی درون رشته‌ای مکمل هم روی خود تاخورده و به شکل برگ شبدر درمی‌آیند (شکل ۶-۸)؛ اما هر tRNA دارای ساختمان سوم خاصی است که توسط آنزیم Aminoacyl- tRNA synthetase شناسایی می‌شود. این آنزیم باعث اتصال اسیدآمینه به tRNA مخصوص آن‌که آنتی کد خاص آن اسیدآمینه را داشته باشد می‌شود.

هر tRNA دارای سه باز که آنتی کد را می‌سازد می‌باشد. بازهای آنتی کد با سه باز هر کدان که در mRNA قرار دارد در هنگام ترجمه پیوند هیدروژنی تشکیل می‌دهد و از این طریق آنتی کد و کد باهم جفت می‌شوند. اسیدآمینه مخصوص

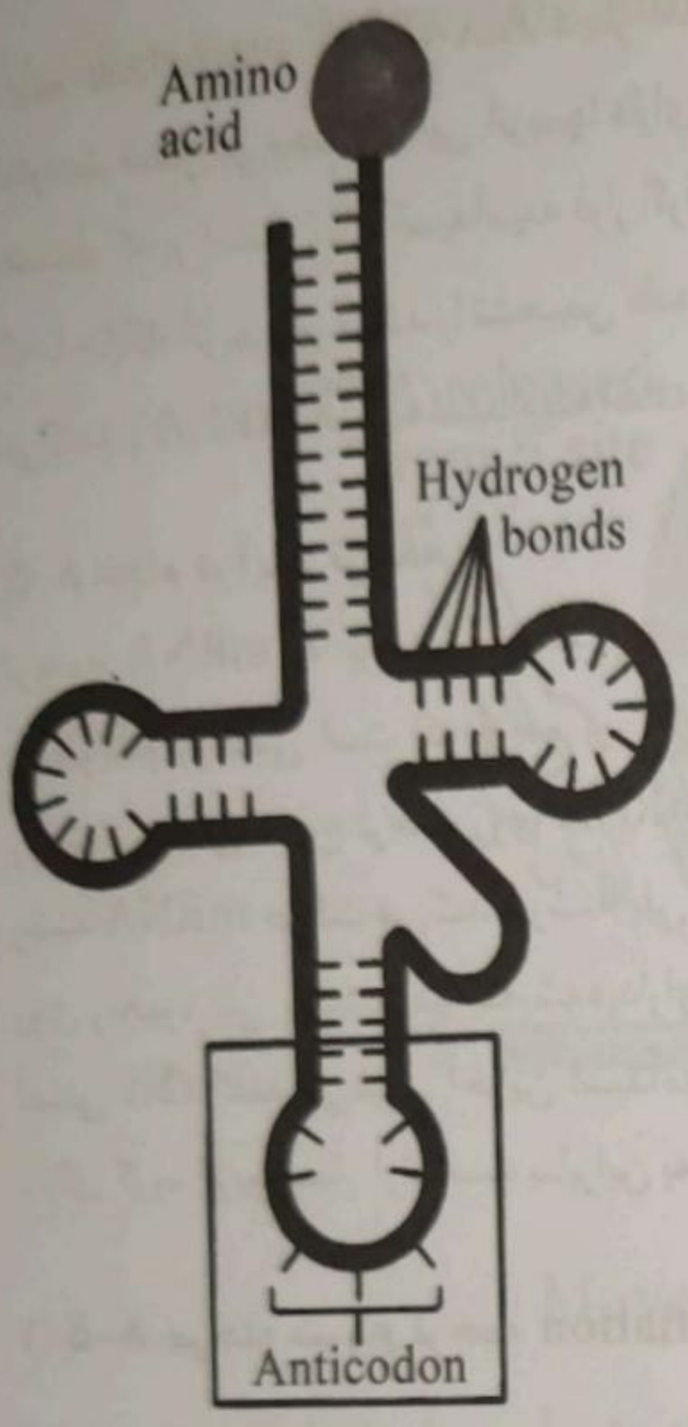


شکل ۶-۸: ساختار دوم (شکل سمت چپ) و سوم (شکل سمت راست) tRNA

Scanned by TapScanner

هر tRNA به انتهای ′۳ آن متصل می‌شود. همان‌طور که قبلاً اشاره شد بعضی از tRNAها با بیش از یک نوع کدان می‌توانند جفت شوند. به موقعیت اول این آنتی کدان‌ها موقعیت لرزان Wobble Position گفته می‌شود که می‌تواند با چندین نوع نوکلئوتید مختلف جفت شود.

هر آنزیم Aminoacyl-tRNA synthetase برای یک نوع اسیدآمینه و یک یا تعداد بیشتری از tRNA مربوط به آن اسیدآمینه اختصاصی می‌باشد. برای اسیدآمینه‌هایی که دارای ۲ نوع یا تعداد بیشتری tRNA هستند یک نوع آنزیم سنتتاز موجب انتقال اسیدآمینه به همه انواع tRNA مربوط به آن اسیدآمینه می‌شود. اسیدآمینه به بازوی گیرنده acceptor arm مربوط به tRNA متصل می‌شود (شکل ۷-۸).



شکل ۷-۸: اتصال اسیدآمینه به بازوی گیرنده tRNA

۲-۴-۸ آنزیمهای Aminoacyl-tRNA سنتتاز

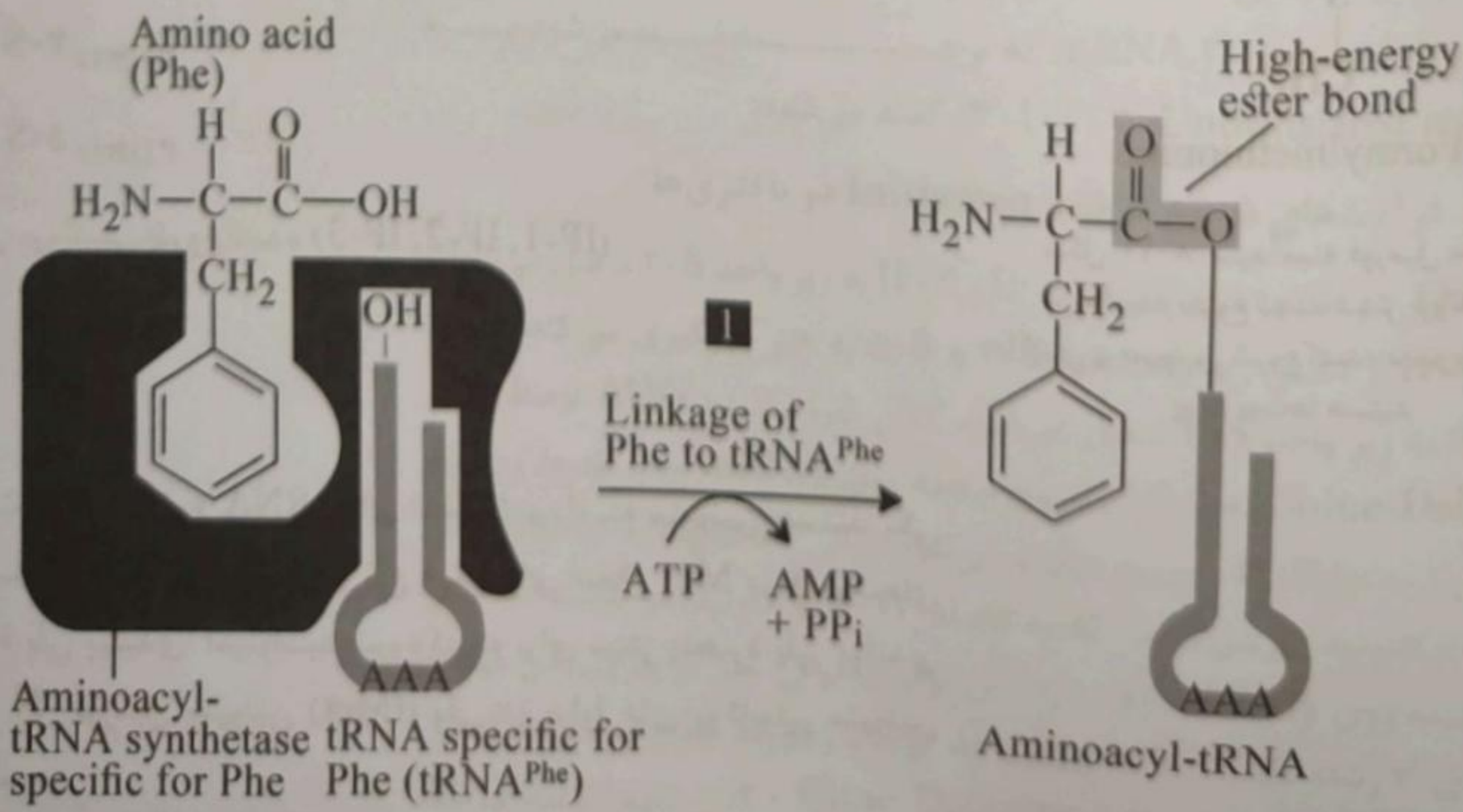
واکنش اتصال اسیدآمینه به tRNA توسط آنزیم Aminoacyl-tRNA synthetase کاتالیز می‌شود (شکل ۸-۸ و ۹-۸).

در باکتریها دو دسته از آنزیم‌های A.A-tRNA syntetase وجود دارند. دسته I موجب اتصال اسیدآمینه به گروه هیدروکسیل کربن ′۲ انتهای رشته tRNA می‌شود و دسته II آنزیم، اسیدآمینه را به گروه OH – ′۳ متصل می‌کند. پیوند ایجاد شده بین اسیدآمینه و tRNA پیوند استری می‌باشد که بین گروه آلفا – کربوکسیل اسیدآمینه و عامل هیدروکسیل ′۳ tRNA به وجود می‌آید (شکل ۹-۸).

به دلیل اینکه بعضی از اسیدهای آمینه از لحاظ ساختمانی بسیار شبیه هم هستند گاهی

$$aa_1 + tRNA_1 + ATP \xrightarrow[Mg^{2+}]{\text{Aminoacyl-tRNA synthetase}_1} aa_1\text{-}tRNA_1 + AMP + ppi$$

شکل ۸-۸: واکنش اتصال اسیدآمینه به tRNA



شکل ۹-۸: ایجاد پیوند استری بین اسیدآمینه و انتهای ′۳ ترانسفر RNA

Scanned by TapScanner

آنزیم A.A-tRNA synthetase دچار اشتباه می‌شود و اسیدآمینه را به tRNA نادرست انتقال می‌دهند؛ اما این آنزیمها دارای توانایی تصحیح اشتباه Proofreading هستند که بر اساس اندازه اسیدآمینه قرار گرفته در جایگاه فعال، اسیدآمینه اشتباهی که با جایگاه آنزیم جور نباشد را تشخیص داده و با هیدرولیز پیوند استری از tRNA جدا می‌کنند و tRNA صحیح به اسیدآمینه اضافه می‌شود.

۸-۵ انجام فرآیند ترجمه

ترجمه mRNA به پروتئین توسط ریبوزوم انجام می‌شود. ریبوزوم یک ساختار ریبونوکلئوپروتئینی است که از دو زیر واحد کوچک و بزرگ تشکیل شده است. ریبوزوم به‌توالی شروع ترجمه روی mRNA متصل می‌شود و از طرف '۵ به طرف '۳ رشته mRNA حرکت می‌کند و رشته پلی پپتید جدید را می‌سازد. اولین اسیدآمینه روی زنجیرهٔ پلی پپتیدی ساخته شده دارای انتهای آزاد آمینی است و به آن انتهای آمینی (N) گفته می‌شود. آخرین اسیدآمینه در زنجیرهٔ پلی پپتیدی ساخته شده دارای گروه کربوکسیل آزاد است بنابراین به آن انتهای کربوکسیل (C) گفته می‌شود.

۸-۵-۱ مرحله شروع ترجمه Initiation

سنتز پروتئین از انتهای آمینی آن شروع می‌شود و اسیدهای آمینه یکی پس از دیگری به انتهای کربوکسیلی زنجیرهٔ پلی پپتیدی در حال رشد اضافه می‌شود.

عواملی که در مرحله شروع Initiation سنتز پروتئین در باکتری لازم هستند عبارتند از:

۱. mRNA

۲. N-Formylmethionyl - tRNA

۳. کدان شروع‌کننده AUG

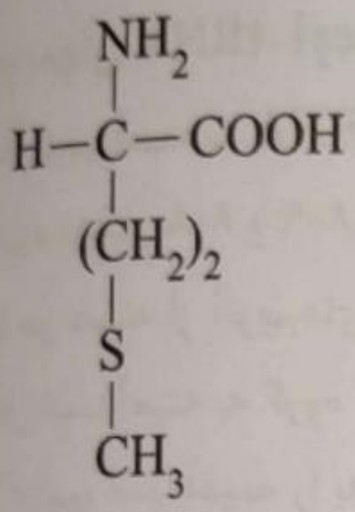
۴. زیر واحد ۳۰S ریبوزوم

۵. زیر واحد ۵۰S ریبوزوم

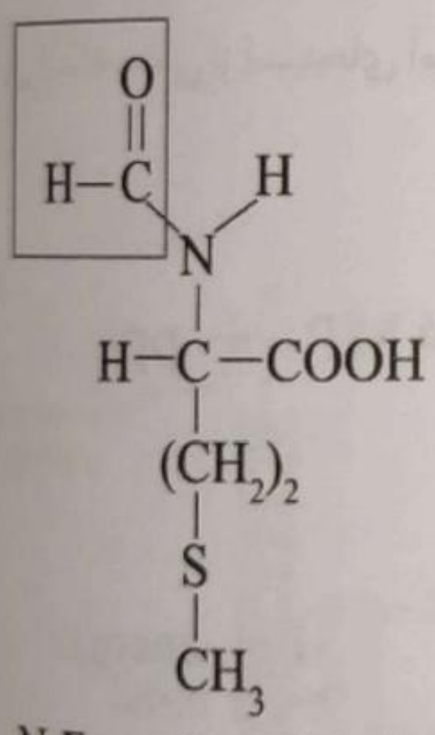
۶. سه فاکتور پروتئینی شروع‌کننده (IF-1, IF-2, IF-3)

۷. GTP

۸. Mg^{2+}



Methionine



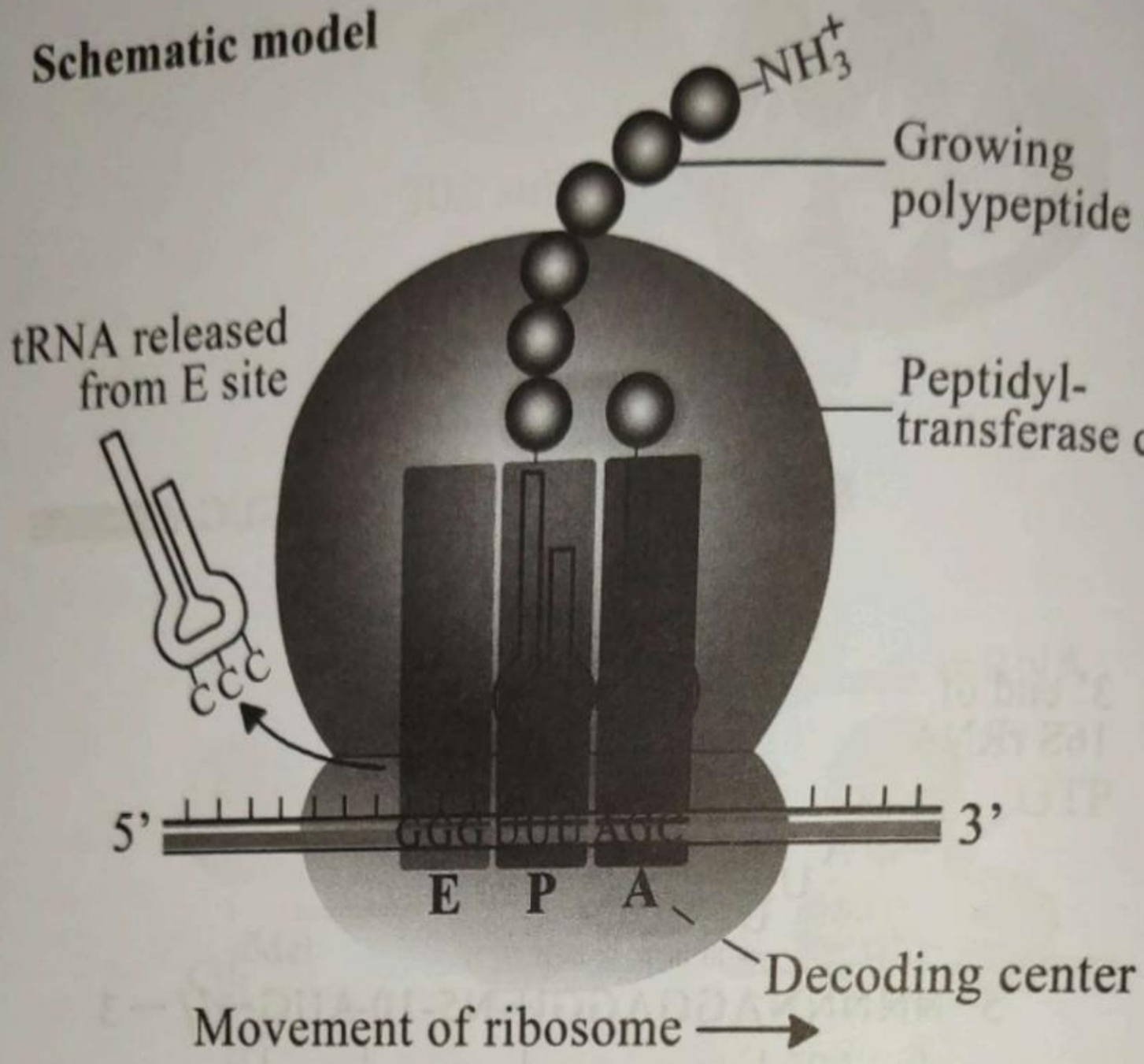
N-Formylmethionine

شکل ۸-۱۰: اسیدآمینه فورمیل متیونین اسیدآمینه شروع‌کننده سنتز پروتئین در باکتری و متیونین شروع‌کننده سنتزپروتئین در یوکاریوت‌ها هستند

همه موجودات دارای دو نوع tRNA برای انتقال اسیدآمینه متیونین هستند یکی برای شروع سنتز زنجیرهٔ پلی پپتیدی و نوع دیگر برای انتقال Met در قسمت‌های داخلی زنجیرهٔ پلی پپتیدی. آمینواسید شروع‌کننده برای سنتز زنجیرهٔ پلی پپتیدی در باکتری‌ها N- فورمیل متیونین (fMet) ولی در سلول‌های یوکایوتی متیونین Met می‌باشد.

۸-۵-۲ نقش جایگاههای مختلف موجود در ریبوزوم در ترجمه

Scanned by TapScanner



شکل ۱۱-۸: ریبوزوم باکتری در حال سنتز پروتئین

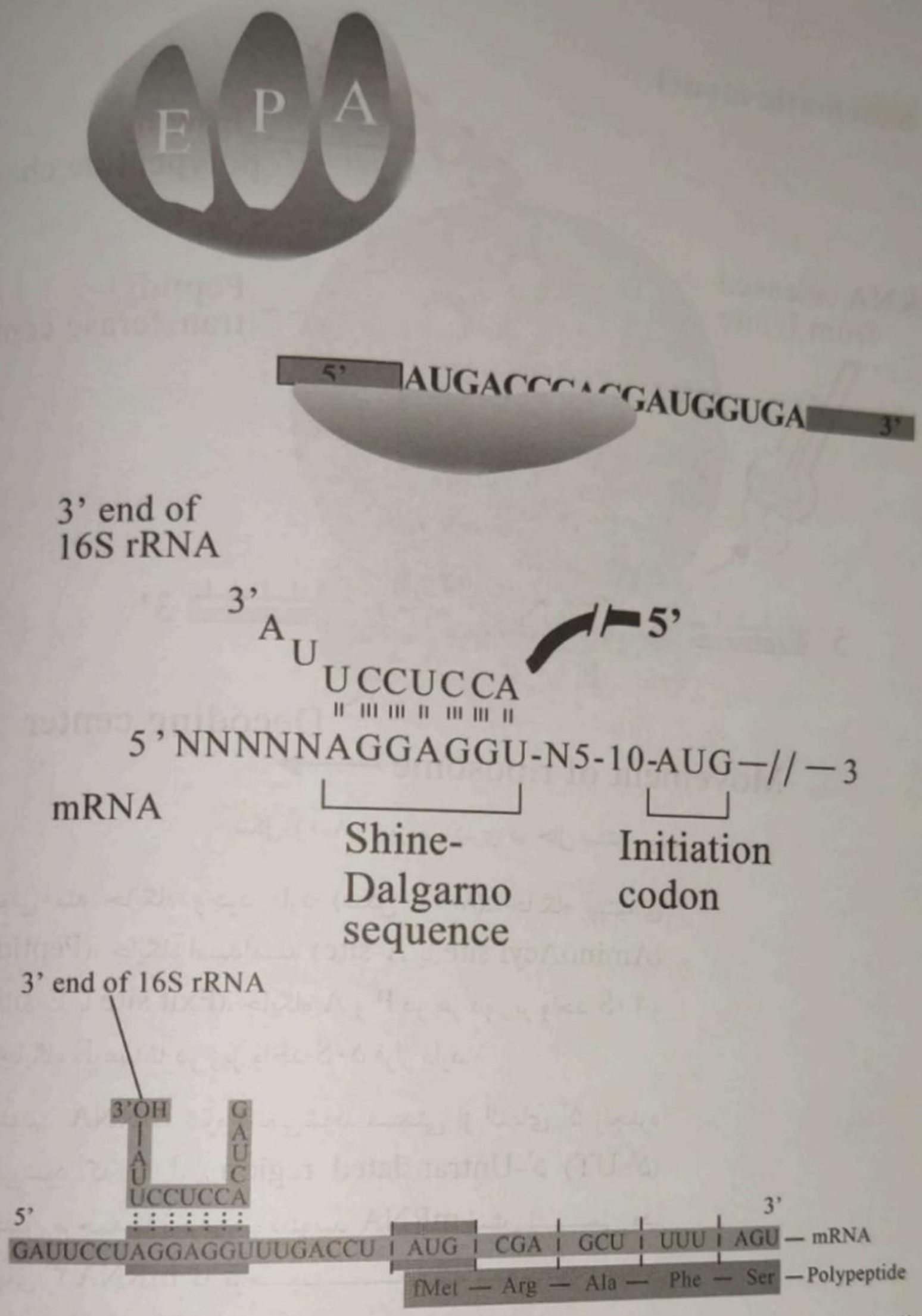
در ریبوزوم پروکاریوتی سه جایگاه وجود دارد (شکل ۱۱-۸). جایگاه پپتیدی (P-site یا Peptidyl site)، جایگاه اسیدآمینه (A-site یا AminoAcyl site) و جایگاه خروج E (E-site یا Exit site). جایگاه A و P در هر دو زیر واحد ۳۰S و ۵۰S وجود دارد؛ اما جایگاه E عمدتاً در زیر واحد ۵۰S قرار دارد.

ترجمه از اولین نوکلئوتید mRNA شروع نمی‌شود. قسمتی از انتهای '۵ زنجیره mRNA ترجمه نمی‌شود که به آن ۵'-Untranslated region (۵'-UT) گفته می‌شود؛ و همچنین ترجمه تا آخرین نوکلئوتید mRNA پیش نمی‌رود. قسمتی از انتهای '۳ mRNA که ترجمه نمی‌شود به آن ۳'-Untranslated region (۳'-UT) گفته می‌شود.

۸-۵-۳ فرآیندهای شروع ترجمه Initiation در باکتری‌ها

در مرحله اول دو فاکتور شروع‌کننده IF-۱ و IF-۳ به زیر واحد ۳۰S متصل می‌شوند. فاکتور IF-۳ از اتصال زیر واحدهای ۳۰S و ۵۰S به هم جلوگیری می‌کند. سپس mRNA به زیر واحد ۳۰S متصل می‌شود. کدان شروع‌کننده AUG توسط توالی Shine-Dalgarno که سیگنال شروع ترجمه روی mRNA است توسط ریبوزوم شناسایی و به جایگاه P ریبوزوم هدایت می‌شود. توالی Shine-Dalgarno شامل ۴ تا ۹ نوکلئوتید پورینی است که به فاصله ۱۳-۸ نوکلئوتید در سمت '۵ کدان شروع‌کننده روی mRNA وجود دارد. این توالی با توالی غنی از پیریمیدین موجود در انتهای '۳ رشته ۱۶S rRNA از زیر واحد کوچک ریبوزوم جفت می‌شود. با اتصال زیر واحد کوچک ریبوزوم به‌توالی Shine-Dalgarno ، کدان شروع‌کننده AUG

Scanned by TapScanner



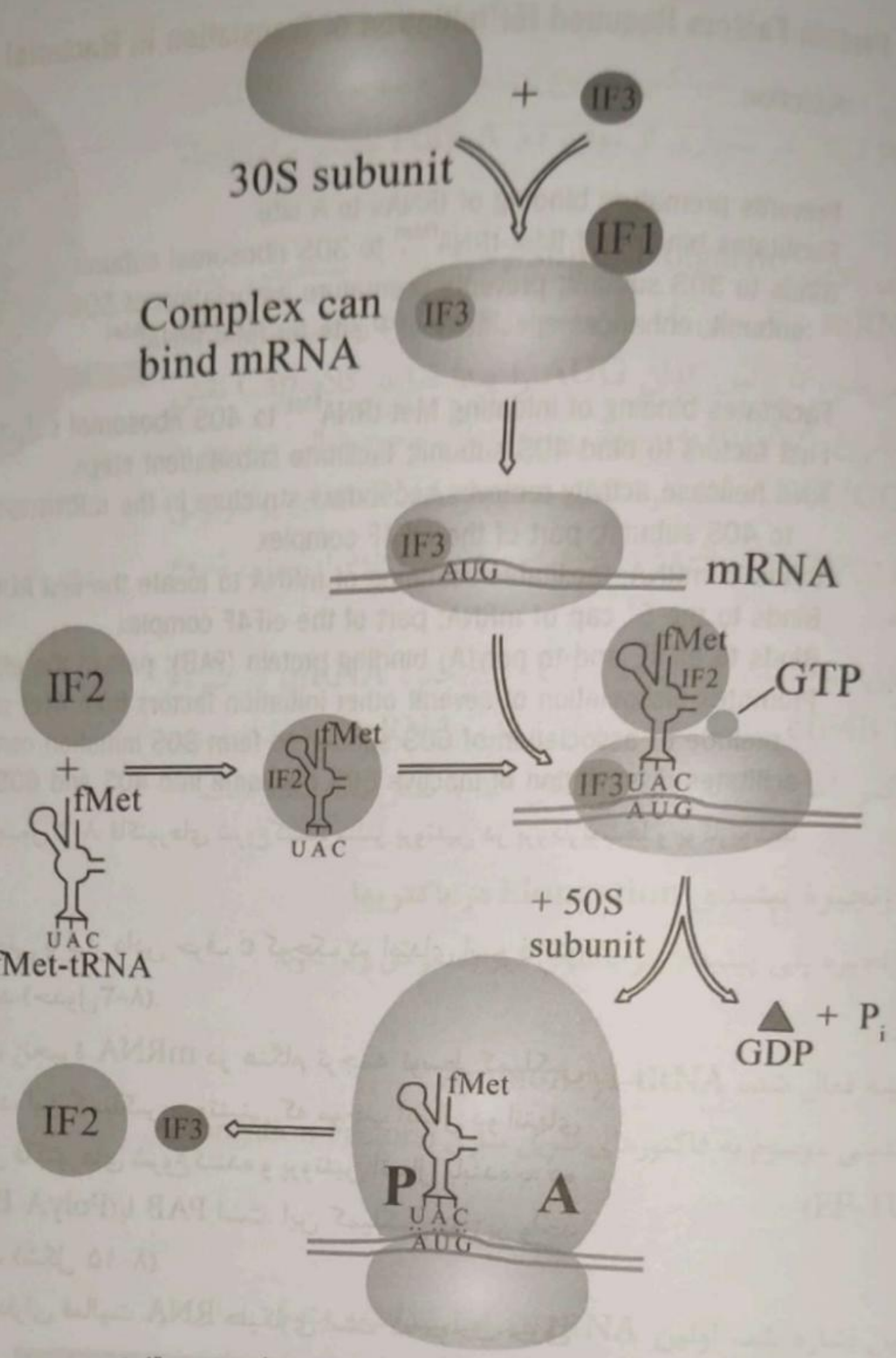
شکل ۱۲-۸: شناسایی توالی Shine-Dalgarno توسط زیر واحد کوچک ریبوزوم. به توضیحات متن مراجعه کنید.

در جایگاه P زیر واحد کوچک ریبوزوم قرار می‌گیرد (شکل ۱۲-۸).

پروسه شروع ترجمه شامل اتصال mRNA و fMet-tRNA به زیر واحد کوچک ریبوزوم است. IF-1 به جایگاه A متصل می‌شود و مانع از قرار گرفتن fMet-tRNA به این جایگاه می‌شود؛ بنابراین fMet-tRNA تنها به جایگاه P می‌تواند وارد شود. fMet-tRNA تنها اسیدآمینه فعال است که در مرحله شروع به جایگاه P متصل می‌شود. در مراحل بعدی از Elongation تمام اسیدهای آمینه فعال به جایگاه A وارد می‌شوند.

در مرحله بعد از شروع ترجمه به کمپلکس زیر واحد ۳۰S ریبوزومی، mRNA و IF-3 و فاکتور شروع‌کننده IF۲ متصل به GTP و fMet-tRNA اضافه می‌شود. در حقیقت نقش IF-۲ آوردن fmet-tRNA و قرار دادن آن در جایگاه P ریبوزوم

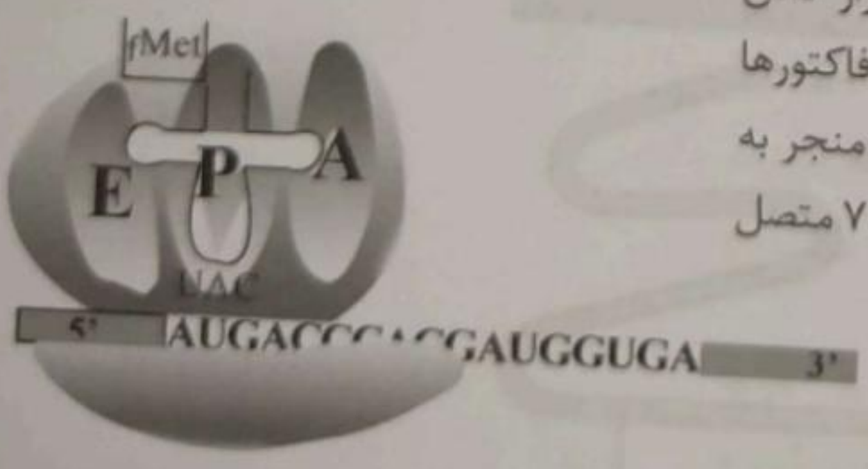
Scanned by TapScanner



شکل ۱۳-۸: ریبوزوم و مرحله شروع از سنتز پروتئین

است آنتی کد این tRNA با کدان شروع‌کننده AUG روی زنجیره mRNA جفت می‌شود (شکل ۱۳-۸).

در مرحله سوم به این کمپلکس بزرگ زیر واحد ۵۰S اضافه می‌شود با قرار دادن fmet-tRNA در جایگاهp، GTP متصل به LF-2 هیدرولیز می‌شود و همه فاکتورها شروع کننده از جمله IF-3 از ریبوزوم جدا می‌شوند. مجموع فرآیندهای فوق منجر به تشکیل کمپلکس شروع Initiation complex می‌شود که شامل ریبوزوم ۷۰S متصل به mRNA و fMet-tRNA در جایگاه P است (شکل ۱۴-۸).



شکل ۱۴-۸: کمپلکس آغازگر در باکتری‌ها

۸-۵-۴ شروع ترجمه در یوکاریوت‌ها

فرآیند ترجمه در یوکاریوت‌ها و باکتری‌ها عموماً شبیه هستند. سلول‌های یوکاریوتی دارای فاکتورهای شروع‌کننده بیشتر و حداقل دارای ۹ فاکتور شروع‌کننده هستند (جدول ۳-۸).

Scanned by TapScanner

Protein Factors Required for Initiation of Translation in Bacterial and Eukaryotic Cells

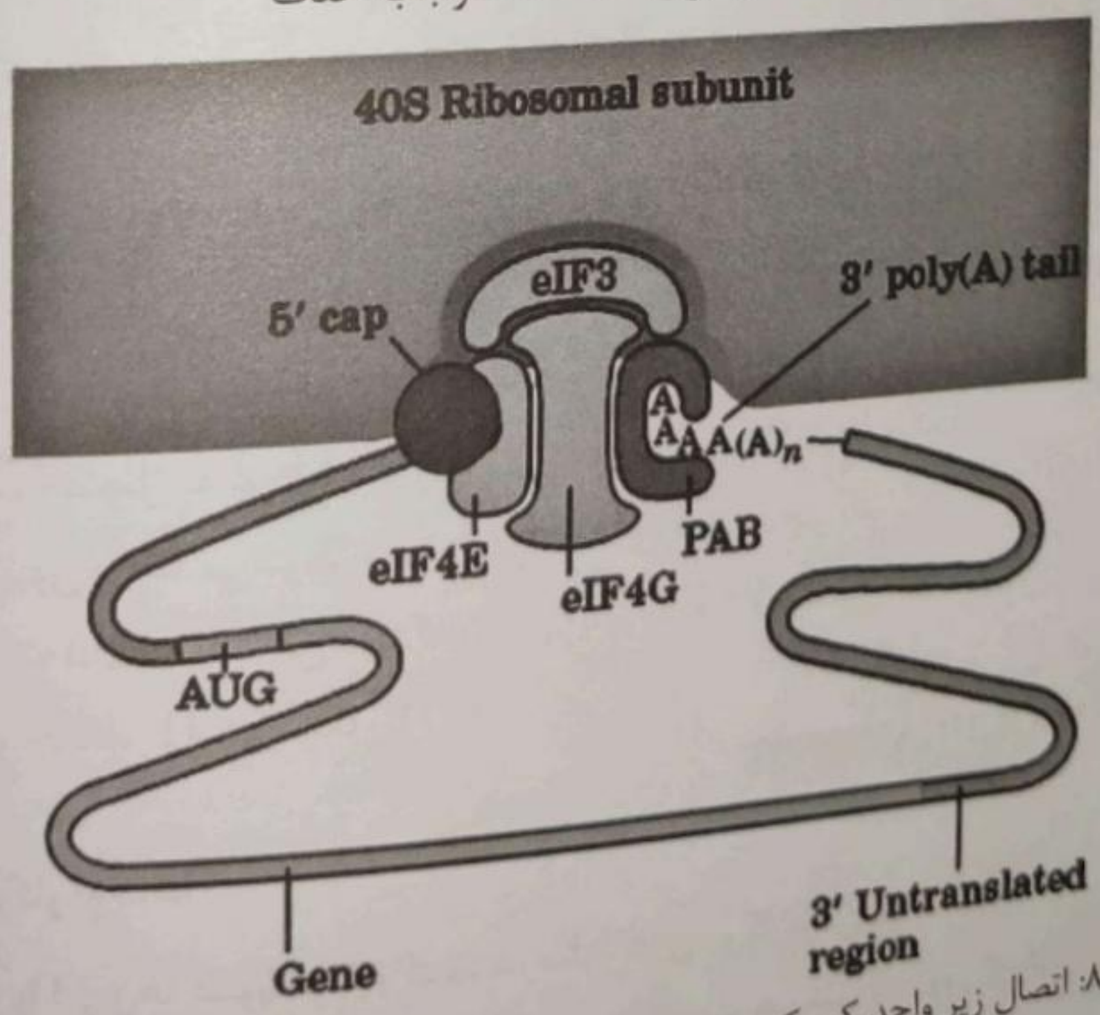
Factor	*Function*
Bacterial	
IF-1	Prevents premature binding of tRNAs to A site
IF-2	Facilitates binding of fMet-tRNA^{fMet} to 30S ribosomal subunit
IF-3	Binds to 30S subunit; prevents premature association of 50S subunit; enhances specificity of P site for fMet-tRNA^{fMet}
Eukaryotic*	
eIF2	Facilitates binding of initiating Met-tRNA^{Met} to 40S ribosomal subunit
eIF2B, eIF3	First factors to bind 40S subunit; facilitate subsequent steps
eIF4A	RNA helicase activity removes secondary structure in the mRNA to permit binding to 40S subunit; part of the eIF4F complex
eIF4B	Binds to mRNA; facilitates scanning of mRNA to locate the first AUG
eIF4E	Binds to the 5′ cap of mRNA; part of the eIF4F complex
eIF4G	Binds to eIF4E and to poly(A) binding protein (PAB); part of the eIF4F complex
eIF5	Promotes dissociation of several other initiation factors from 40S subunit as a prelude to association of 60S subunit to form 80S initiation complex
eIF6	Facilitates dissociation of inactive 80S ribosome into 40S and 60S subunits

جدول ۳-۸: فاکتورهای شروع‌کننده سنتز پروتئین در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها

فاکتورهای شروع‌کننده یوکاریوتی با قرار دادن حرف e کوچک در ابتدای اسم فاکتور شروع‌کننده نشان داده می‌شوند (جدول ۳-۸).

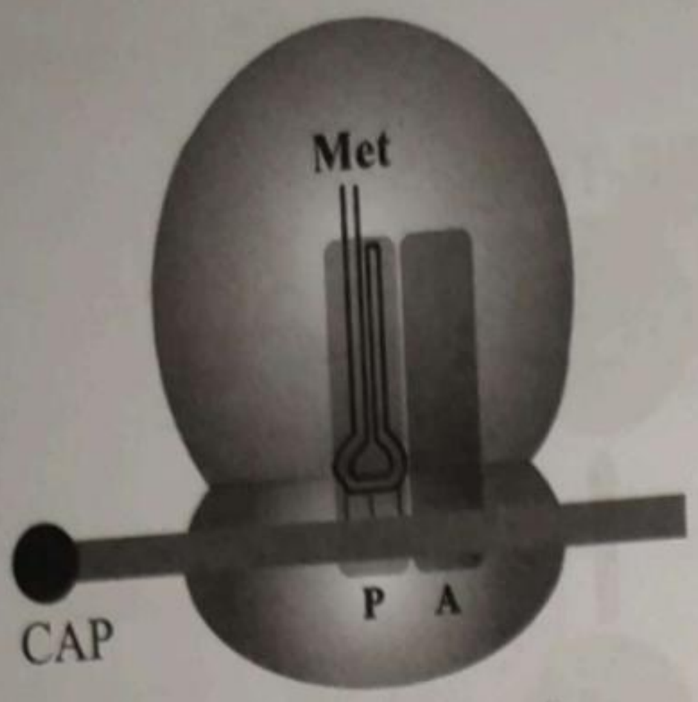
در یوکاریوت‌ها انتهای ′۳ و ′۵ زنجیرهٔ mRNA در هنگام ترجمه توسط کمپلکس پروتئینی به هم متصل می‌شوند. این کمپلکس پروتئینی که موجب اتصال دو انتهای mRNA به هم می‌شوند شامل فاکتورهای شروع‌کننده و پروتئین اتصال یابنده به دم PolyA (PolyA Binding Protein)یا PAB است. این کمپلکس به زیر واحد ۴۰S ریبوزومی متصل می‌شوند (شکل ۱۵-۸).

پروتئین شروع‌کننده eIF۴A دارای فعالیت RNA هلیکازی است که موجب حذف



شکل ۱۵-۸: اتصال زیر واحد کوچک ریبوزوم به mRNA برای شروع سنتز پروتئین در یوکاریوت‌ها

Scanned by TapScanner



80S initiation complex

شکل ۱۶-۸: کمپلکس آغازگر یوکاریوتی

و برداشتن تاخوردگی و سایر ساختمان‌های دوم در mRNA می‌شود. کارایی ترجمه تحت تأثیر پروتئین‌های موجود در کمپلکس شروع‌کننده و خصوصیات mRNA مانند طول دم Poly A است. در بسیاری از موارد دم Poly A بلندتر برای انجام ترجمه بهتر است.

در mRNA یوکاریوتی توالی Shine-Dolgarno وجود ندارد. تشخیص کدان شروع AUG روی mRNA یوکاریوتی با اسکن نمودن انتهای ۵′ زنجیرهٔ mRNA توسط ریبوزوم انجام می‌شود تا اولین کدان AUG را پیدا نماید. کلاه Cap نقش مهمی برای شناسایی شروع mRNA به‌وسیله ریبوزوم دارد. وجود توالی موسوم به کوزاک Kozak (۵′-ACCUGG-۳′) در ابتدای بعضی از mRNAهای یوکاریوتی موجب افزایش کارایی ریبوزوم برای شروع ترجمه می‌شود اما وجود آن برای شروع ترجمه ضروری نیست.

eIF4F با از بین بردن ساختمان دوم ناحیه ۵′-UT زنجیرهٔ mRNA در شروع ترجمه دخالت دارد. eIF4B نیز باعث تسهیل اسکن mRNA توسط ریبوزوم می‌شود. اجزای کمپلکس آغازگر یوکاریوتی در شکل ۱۶-۸ نشان داده شده است.

۶-۸ مرحله رشد زنجیرهٔ پپتیدی Elongation در باکتریها

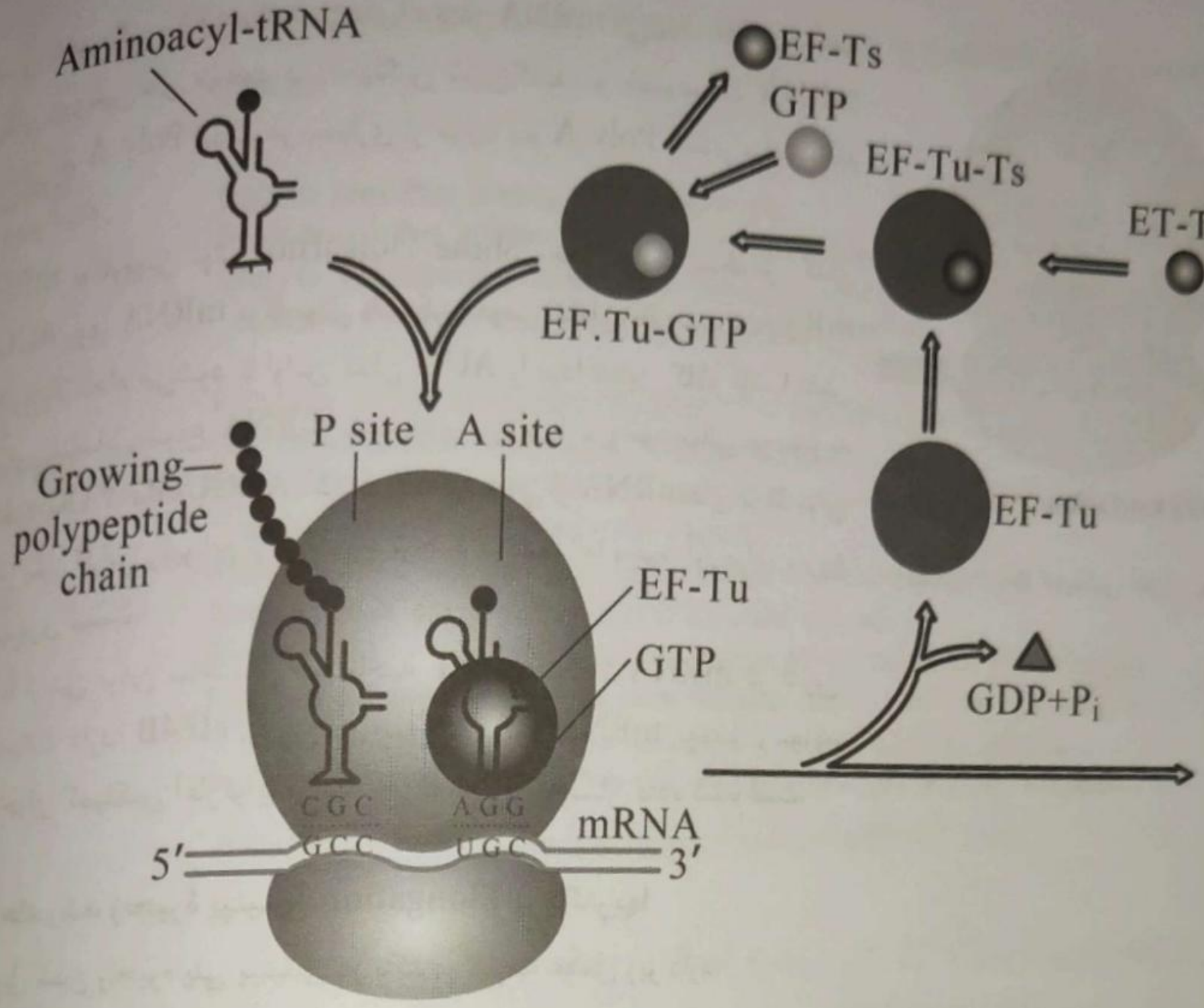
مرحله طویل شدن زنجیره پلی پپتیدی در باکتری نیاز به عوامل زیر دارد.

۱. کمپلکس آغازگر
۲. ۲۰ نوع اسیدآمینه فعال شده AminoAcyl-tRNA
۳. سه فاکتور پروتئینی موسوم به فاکتورهای طویل سازی (Elongation Factors) (EF-TU, EF-TS, EF-G)
۴. GTP

همانطور که در قبل اشاره شد، اولین tRNA همراه اسیدآمینه متصل به آن در جایگاه P کمپلکس آغازگر قرار دارند. tRNA- اسیدآمینه دوم مطابق با کدان بعدی mRNA وارد جایگاه A ریبوزوم می‌شوند. ریبوزوم با ایجاد پیوند پپتیدی باعث انتقال اسیدآمینه اول از جایگاه P به روی اسیدآمینه دوم موجود در جایگاه A می‌شود و دی پپتید حاصله متصل به tRNA دوم در جایگاه A قرار می‌گیرد. آنزیمی که پیوند پپتیدی را ایجاد می‌کند پپتیدیل ترانسفراز Peptidyl trans-ferase نامیده می‌شود. این آنزیم پروتئینی نیست بلکه ۲۳S rRNA (RNA ریبوزومی) می‌باشد به مولکول‌های RNA که خاصیت آنزیمی دارند ریبوزیم Ribozyme گفته می‌شود.آوردن اسیدهای آمینه متصل به tRNA به ریبوزوم توسط فاکتور EF-TU انجام می‌گردد.

فاکتور طویل کننده EF – TU که GTP به آن متصل است به A – tRNA . A ها متصل می‌شود و آن‌ها را به جایگاه A هدایت می‌کند. در ضمن انتقال اسیدهای آمینه به جایگاه A، GTP متصل به فاکتور EF-TU هیدرولیز می‌شود و به GDP تبدیل می‌شود. نقش فاکتور طویل کننده EF-TS جایگزین کردن GTP بجای GDP روی

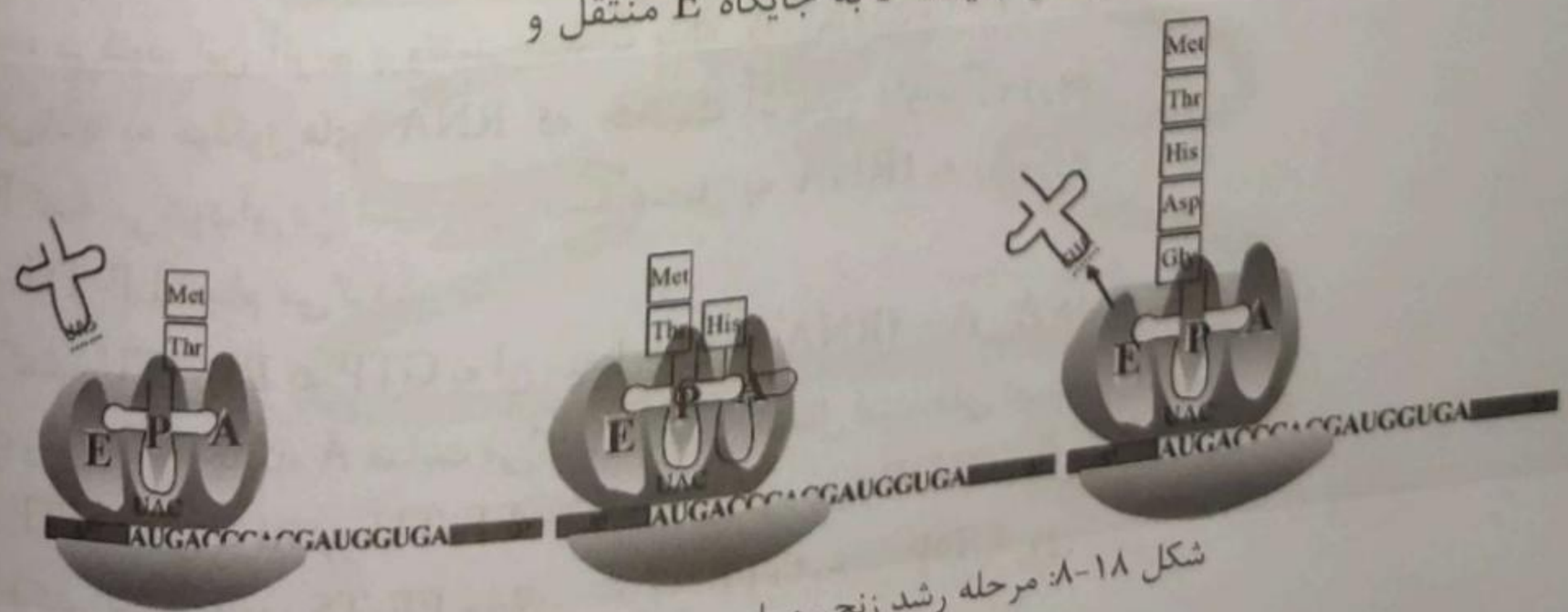
Scanned by TapScanner



شکل ۱۷-۸: مرحله تشکیل و رشد زنجیره پپتیدی در سلول‌های پروکاریوتی

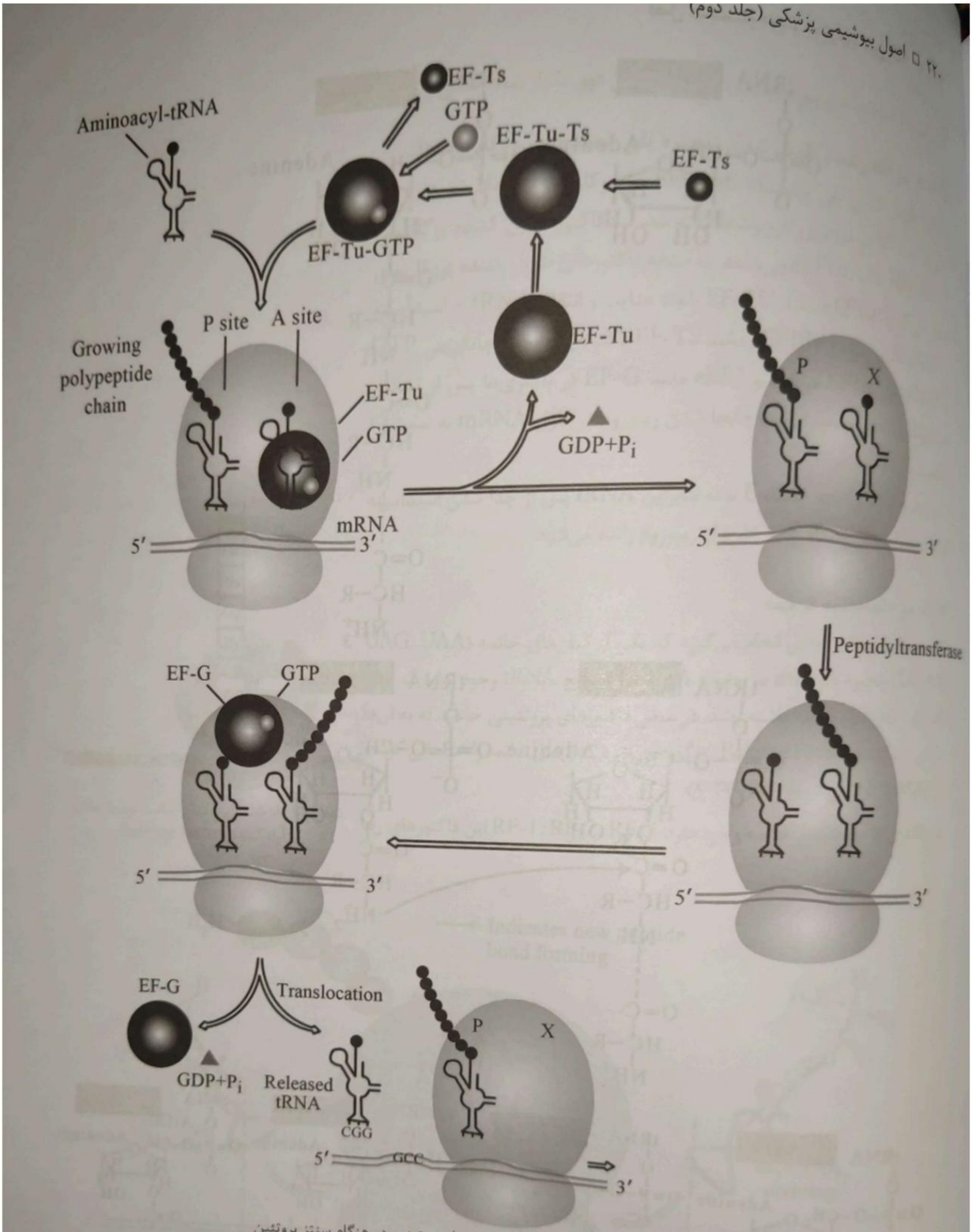
EF-TU است (شکل ۱۷-۸).

زنجیرهٔ پلی پپتیدی از انتهای آمینی به سمت انتهای کربوکسیلی طویل می‌شود یعنی هر آمینواسید جدید که به زنجیره اضافه می‌شود همیشه به انتهای کربوکسیل زنجیره اضافه می‌شود و پروتئین در جهت انتهای کربوکسیل رشد می‌یابد. پس از تشکیل هر پیوند پپتیدی جدید رشته پپتیدی به tRNA موجود در سایت A انتقال و اتصال می‌یابد. ریبوزوم پس از تشکیل پیوند پپتیدی به‌اندازه یک کدان به سمت انتهای ′۳ زنجیرهٔ mRNA جابجا می‌شود. این جابجایی توسط فاکتور EF-G که به آن Translocase نیز گفته می‌شود انجام می‌گیرد. یک مولکول GTP به EF-G متصل است که در حین جابجا شدن ریبوزوم هیدرولیز و به GDP تبدیل می‌شود. درنتیجه جابجا شدن ریبوزوم، پپتید همراه با tRNA متصل به آن از جایگاهA به جایگاه P منتقل می‌شود و tRNA آزاد موجود در جایگاه P به جایگاه E منتقل و



شکل ۱۸-۸: مرحله رشد زنجیره پلی پتیدی در فرآیند ترجمه

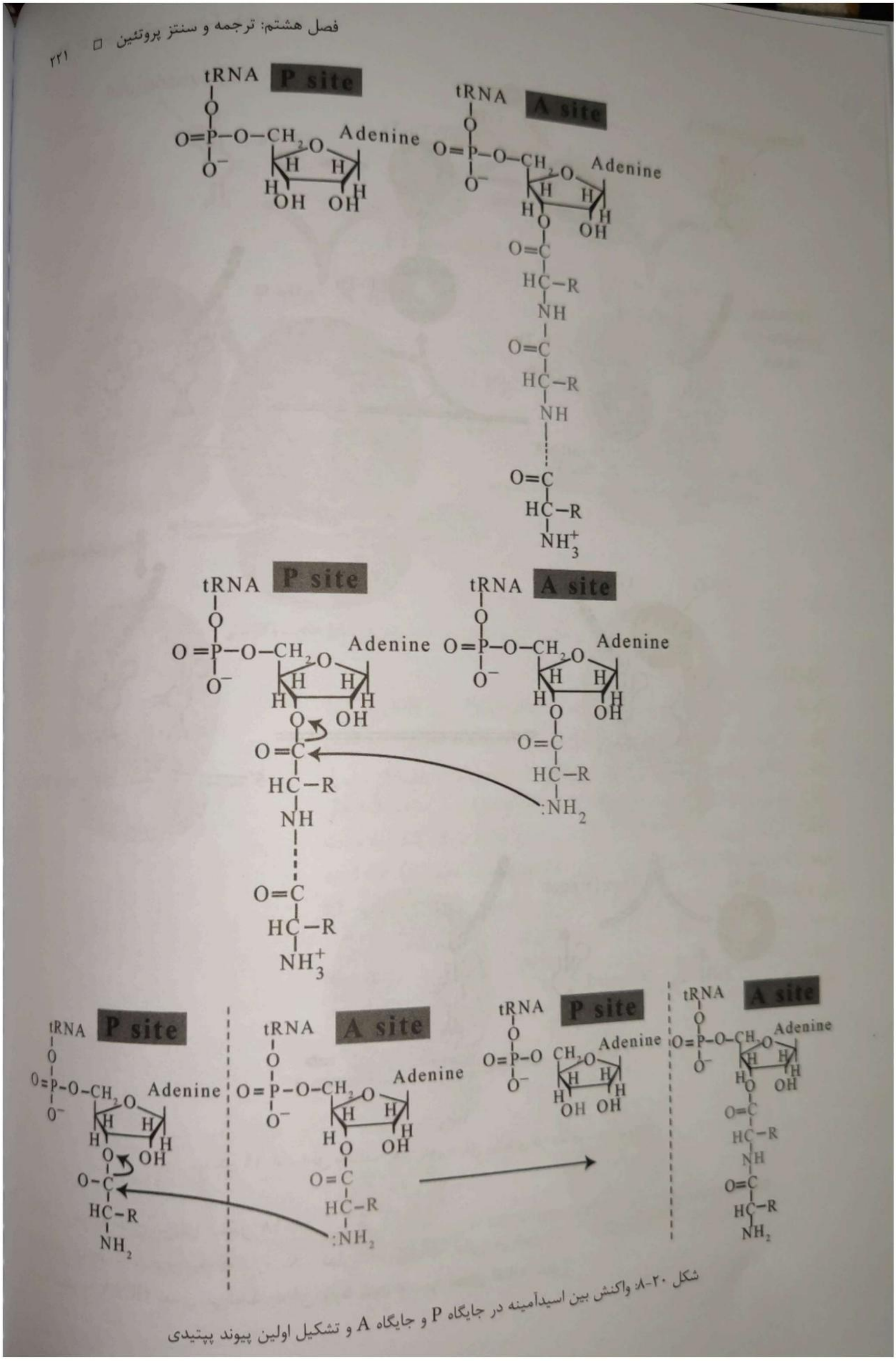
Scanned by TapScanner



شکل ۱۹-۸: مراحل مختلف رشد زنجیره پلی پپتیدی در هنگام سنتز پروتئین

نهایتاً از ریبوزوم خارج می‌شود (شکل ۱۸-۸).
درنتیجه جابجا شدن ریبوزوم به‌اندازه یک کدان، جایگاه A خالی می‌شود که آمینواسید - tRNA بعدی می‌تواند به آن وارد شود و دور بعدی اضافه شدن

Scanned by TapScanner



شکل ۲۰-۸: واکنش بین اسیدآمینه در جایگاه P و جایگاه A و تشکیل اولین پیوند پپتیدی

آمینواسید و ساخته‌شدن پیوند پپتیدی جدید به طریق فوق تکرار شود (شکل ۲۰-۸).

۸-۶-۱ مرحله رشد و طویل شدن زنجیره پلی پپتیدی در یوکاریوت‌ها

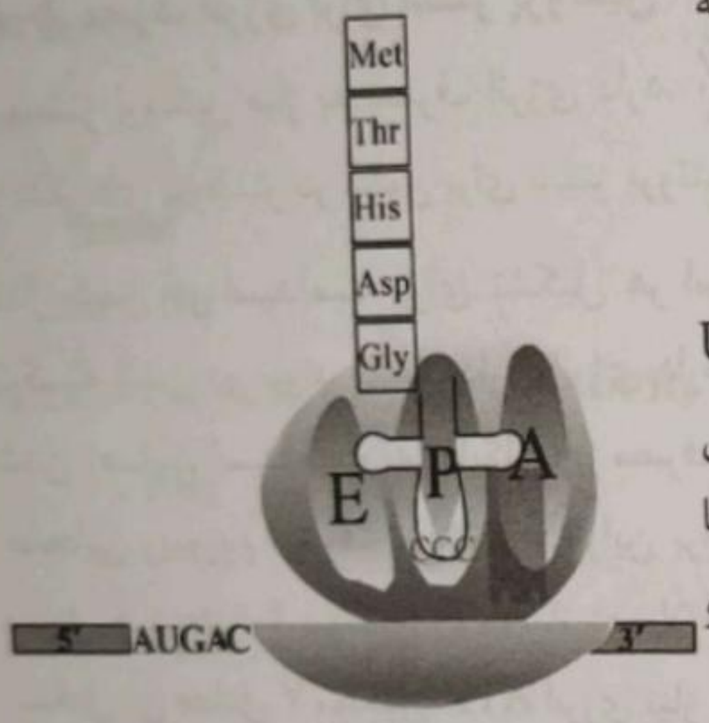
سیکل طویل شدن پلی پپتید Elongation در یوکاریوت‌ها کاملاً شبیه به آن چیزی است که در مورد پروکارویوت‌ها گفته شد. سه فاکتور طویل کننده یوکاریوتی eEF1α, eEF1βγ, eEF2 می‌باشند که مشابه فاکتورهای طویل کننده پروکاریوتی عمل می‌کنند. eEF1α مانند EF-TU باعث هدایت و انتقال tRNA - اسیدآمینه به جایگاه A می‌شود و eEF1βγ مانند EF-TS باکتریایی موجب جایگزینی GTP با GDP روی EF1α می‌شود و eEF2 مانند EF-G در باکتری‌ها پس از تشکیل هر پیوند پپتیدی جدید، موجب جابجا شدن ریبوزوم در طول mRNA به سمت ۳′ زنجیره می‌شود.

ریبوزوم یوکاریوتی فاقد جایگاه E بوده بنابراین tRNA پس از جدا شدن اسیدآمینه از آن مستقیماً از جایگاه P به خارج از ریبوزوم رانده می‌شود.

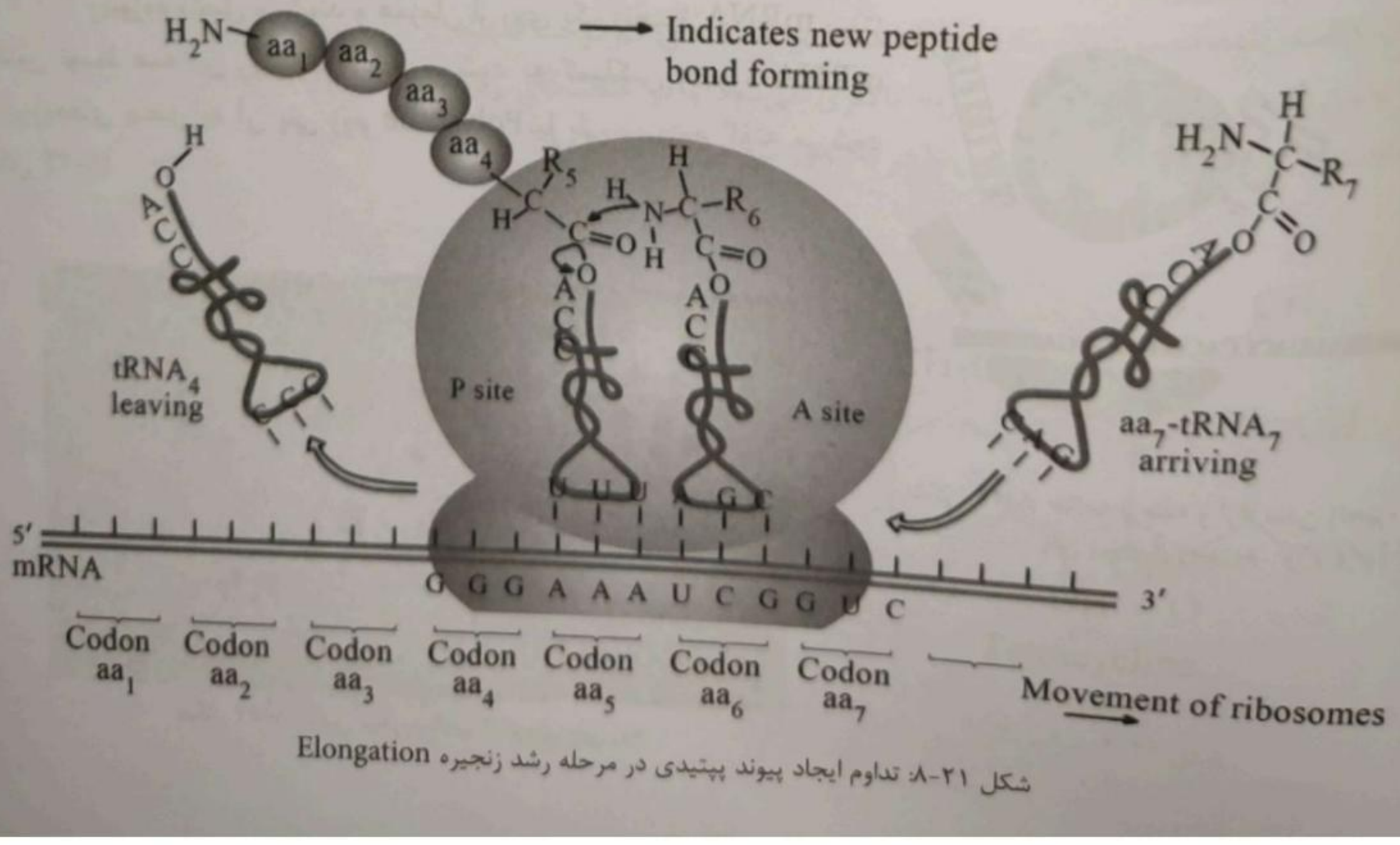
۸-۷ مرحله خاتمه ترجمه

خاتمه سنتز پروتئین وقتی انجام می‌گیرد که یکی از کدان‌های خاتمه (UAG, UAA یا UGA) زنجیرهٔ mRNA در جایگاه A قرار گیرد. هیچ tRNA وجود ندارد که آنتی کد برای کدان‌های خاتمه داشته باشد. در عوض فاکتورهای پروتئینی خاتمه که به آن‌ها فاکتور آزادکننده Release Factor نیز گفته می‌شود کدان‌های خاتمه را شناسایی کرده و در جایگاه A قرار می‌گیرند (شکل ۲۲-۸).

در باکتری‌ها سه فاکتور خاتمه وجود دارد RF-1, RF-2, RF-3 این فاکتورهای رها



شکل ۲۲-۸: شناسایی کدان خاتمه توسط فاکتور آزادکننده Release factor

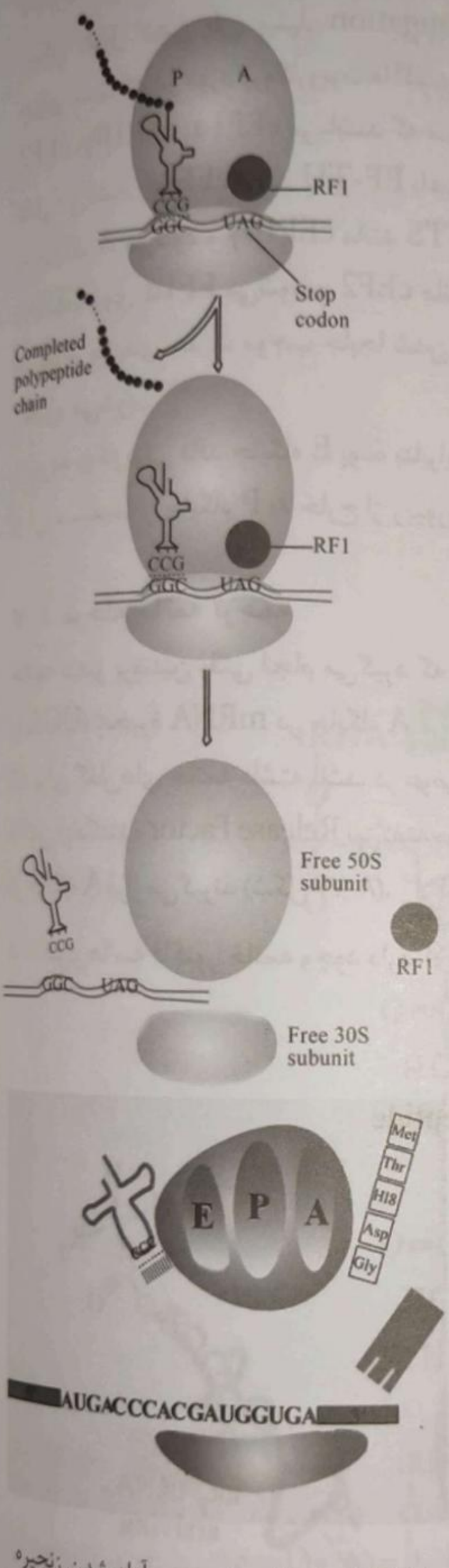


شکل ۲۱-۸: تداوم ایجاد پیوند پپتیدی در مرحله رشد زنجیره Elongation

Scanned by TapScanner

کننده زنجیره پپتیدی موجب تغییر فعالیت آنزیمی پپتیدیل ترانسفراز شده طوری که آنزیم با اضافه کردن یک مولکول آب موجب هیدرولیز پیوند استری میان رشته پلی پپتیدی و آخرین tRNA موجود در جایگاه P می‌شود و بدین ترتیب زنجیرهٔ پلی پپتیدی از ریبوزوم جدا شده و فاکتورهای آزادکننده و همچنین دو زیر واحد ریبوزوم از هم جدا گردیده و mRNA نیز از ریبوزوم جدا می‌شود (شکل ۲۳-۸).

RF-1 کدان‌های خاتمه UAG و UAA را شناسایی می‌کنند. RF-2 کدان‌های UGA و UAA را می‌شناسند. نقش RF-3 دقیقاً معلوم نیست. ممکن است در جدا شدن و آزاد کردن زیر واحدهای ریبوزومی از هم نقش داشته باشند. در سلول‌های یوکاریوتی تنها یک نوع فاکتور رها کننده eRF وجود دارد که هر سه نوع کدان خاتمه را شناسایی می‌کند.



شکل ۲۳-۸: خاتمه ترجمه و آزاد شدن زنجیره پلی پپتید از ریبوزوم

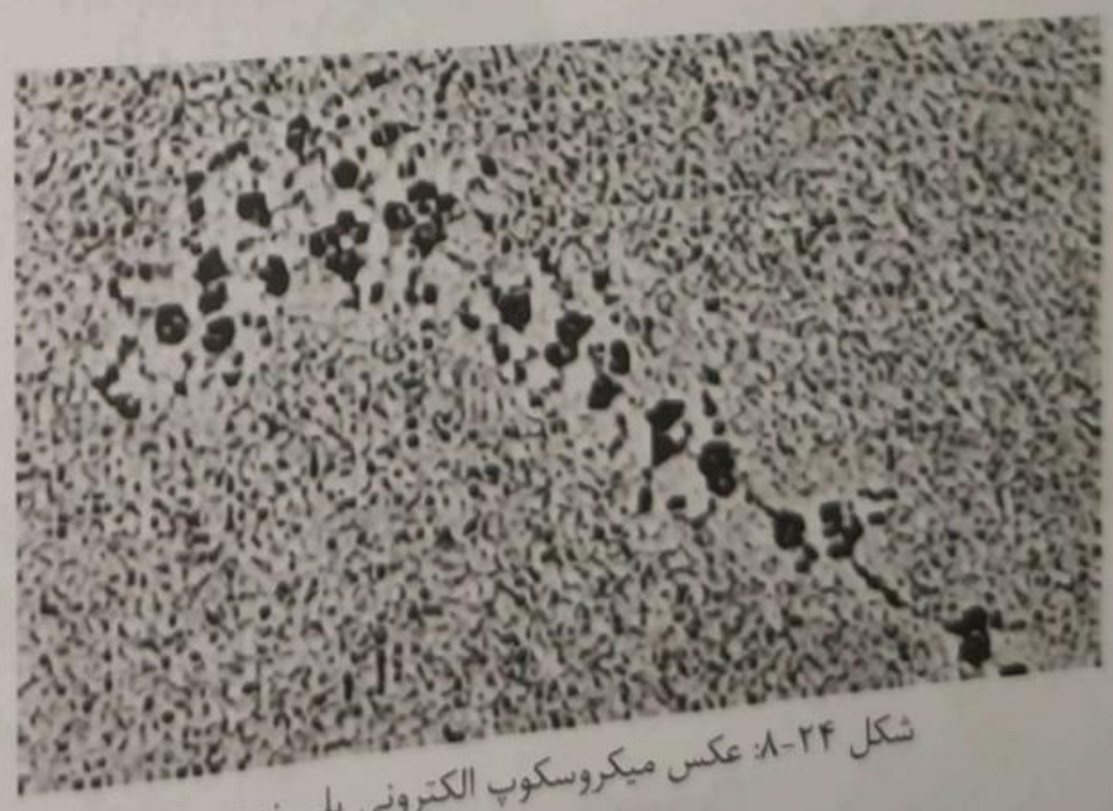
۸-۸ مصرف انرژی برای سنتز پروتئین

بیوسنتز پروتئین نیاز به مصرف انرژی دارد. ۹۰٪ انرژی شیمیایی مصرف شده در واکنش‌های بیوسنتز در سلول برای سنتز پروتئین مورداستفاده قرار می‌گیرد.

فعال شدن هر اسیدآمینه برای تشکیل هر اسید آمینه متصل به tRNA نیاز به شکسته شدن دو پیوند فسفات‌دار پرانرژی دارد. یک GTP در مرحله اول از طویل شدن (هدایت اسیدآمینه به جایگاه A) مصرف می‌شود و یک GTP نیز در مرحله جابجایی ریبوزوم مصرف می‌شود؛ بنابراین برای تشکیل هر پیوند پپتیدی حداقل معادل هیدرولیز ۴ مولکول ATP انرژی لازم است. به‌جز پیوند پپتیدی اول که تشکیل آن معادل ۷ مولکول ATP انرژی نیاز دارد.

۸-۹ تشکیل پلی زوم

موقعی که سنتز پروتئین به‌طور فعال در حال انجام است به هر مولکول mRNA ۱۰ تا ۱۰۰ ریبوزوم متصل می‌شوند و همزمان از روی یک زنجیرهٔ mRNA سنتز پروتئین توسط همه این ریبوزوم‌ها انجام می‌شود. به کمپلکس زنجیره mRNA و ریبوزوم‌های متصل به آن پلی زوم Polysome یا پلی ریبوزوم گفته می‌شود (شکل ۲۴-۸).



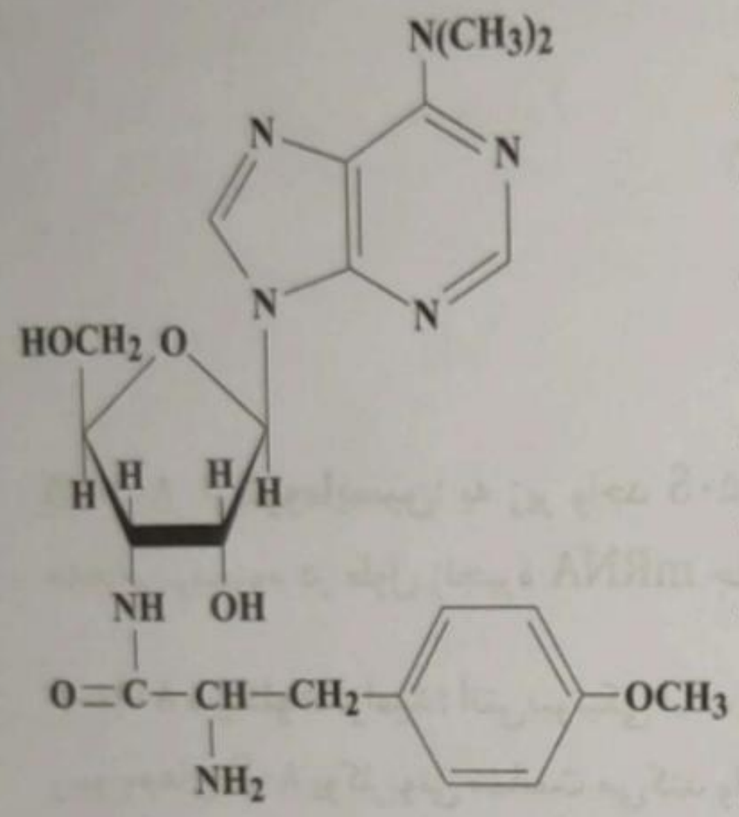
شکل ۲۴-۸: عکس میکروسکوپ الکترونی پلی زوم

Scanned by TapScanner

۸-۱۰ سموم و آنتی‌بیوتیک‌های ممانعت کننده سنتز پروتئین

اختلاف در بیوسنتز پروتئین در باکتری‌ها و سلول‌های یوکاریوتی اساس استفاده از تعدادی آنتی‌بیوتیک‌ها به‌عنوان دارو برای از بین بردن و درمان عفونت‌های باکتریایی می‌باشد. آنتی‌بیوتیک‌هایی که روی سلول‌های یوکاریوتی اثر نداشته و تنها موجب منع سنتز پروتئین در باکتری‌ها می‌شوند را می‌توان به‌عنوان دارو استفاده کرد. تعدادی از داروها و سمومی که مکانیسم اثر آن‌ها از طریق منع ترجمه و سنتز پروتئین می‌باشد در زیر توضیح داده می‌شوند.

۸-۱۰-۱ پورومایسین Puromycin: این ماده شیمیایی توسط کفک استرپتومایسس Streptomyces alboniger ساخته و ترشح می‌شود. ساختمان شیمیایی آن شبیه به انتهای ۳′ مولکول tRNA متصل به اسید آمینه می‌باشد (شکل ۲۵-۸) و به دلیل همین شباهت ساختمانی پورومایسین به جایگاه A ریبوزوم متصل می‌شود و به انتهای کربوکسیلی زنجیرهٔ پلی پپتیدی در حال سنتز اضافه شده و با آن پیوند پپتیدی به وجود می‌آورد؛ اما پپتید - پورومایسین ایجاد شده نمی‌تواند وارد مرحله ی جابجایی ریبوزوم شود و از ریبوزوم جدا می‌شود که این باعث رها شدن زنجیرهٔ ناقص پپتیدی از ریبوزوم می‌شود. پورومایسین موجب منع سنتز پروتئین هم در پروکاریوت و هم یوکاریوت می‌شود.

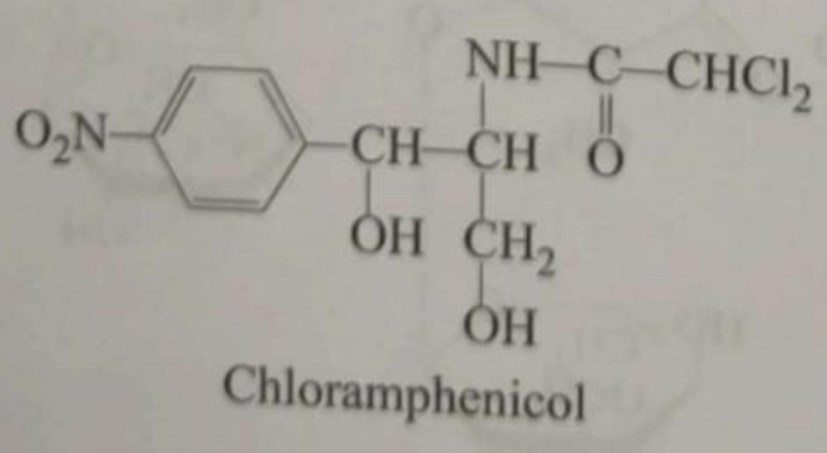


شکل ۲۵-۸: پورومایسین

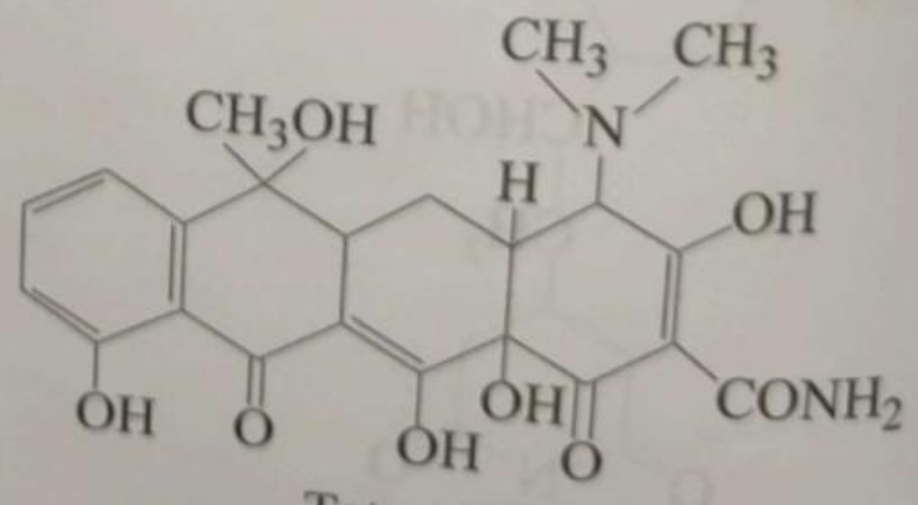
۸-۱۰-۲ تتراسایکلین: در ساختمان آن ۴ حلقه وجود دارد. تتراسایکلین موجب منع سنتز پروتئین در باکتری با مسدود نمودن جایگاه A ریبوزوم و درنتیجه منع اتصال اسیدآمینه- tRNA به ریبوزوم می‌شود (شکل ۲۶-۸).

۸-۱۰-۳ کلرآمفنیکل: موجب منع سنتز پروتئین در باکتری از طریق منع فعالیت پپتیدیل ترانسفراز می‌گردد (شکل ۲۷-۸).

۸-۱۰-۴ استرپتومایسین: یک سه قندی است که در غلظت‌های کم موجب اشتباه در خواندن کدهای ژنتیکی توسط ریبوزوم باکتری می‌شود و در غلظت‌های زیاد مرحله شروع Initiation سنتز پروتئین را در باکتری منع می‌کند (شکل ۲۸-۸).

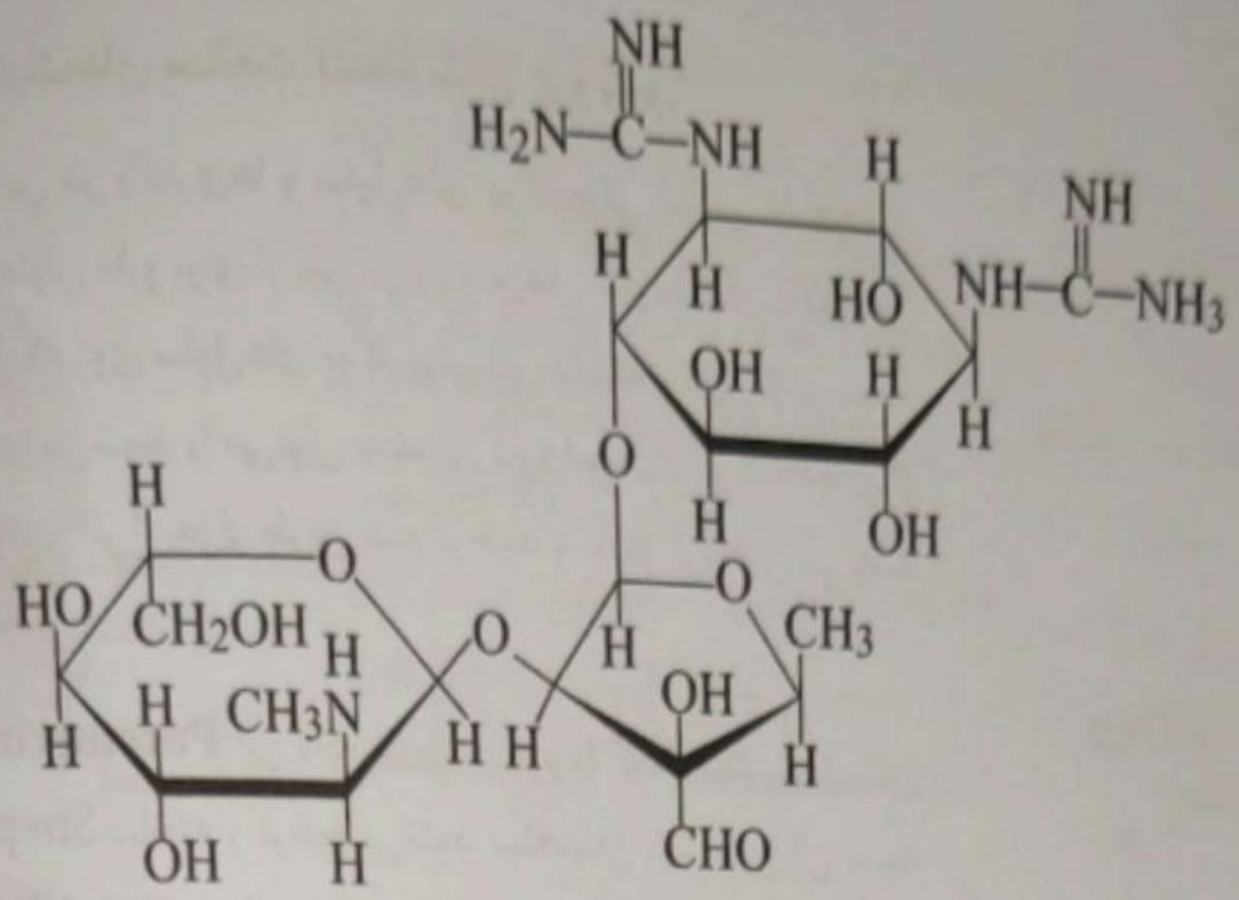


شکل ۲۷-۸: کلرآمفنیکل



شکل ۲۶-۸: تتراسایکلین

Scanned by TapScanner

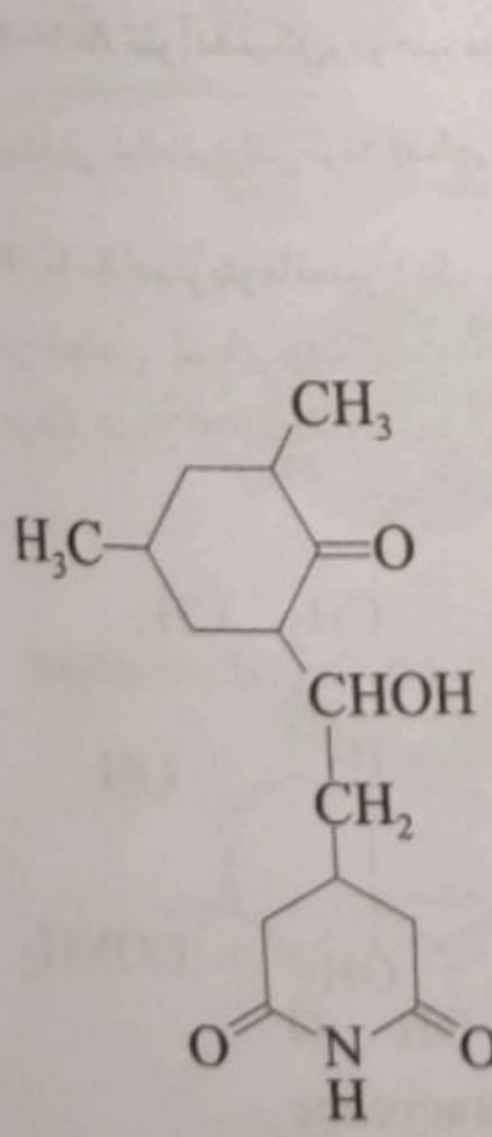


Streptomycin

شکل ۲۸-۸: استرپتومایسین

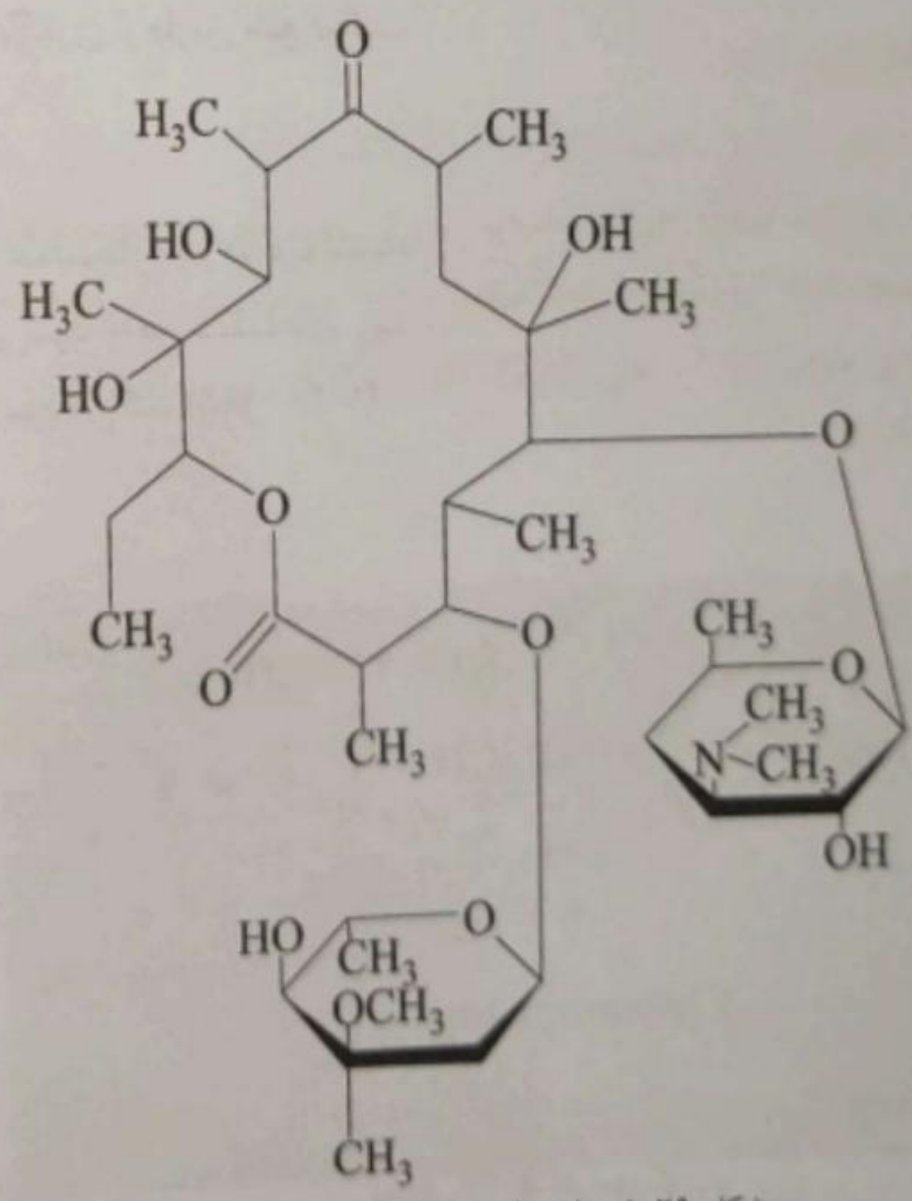
۸-۱۰-۵ اریترومایسین: به زیر واحد ۵۰S ریبوزوم باکتری متصل می‌شود و از جابجایی ریبوزوم در طول زنجیرهٔ mRNA جلوگیری می‌کند (شکل ۲۹-۸).

۸-۱۰-۶ سیکلوهگزامید: آنتی‌بیوتیکی است که از عملکرد آنزیم پپتیدیل ترانسفراز ریبوزوم‌های ۸۰S یوکاریوتی ممانعت می‌کند ولی روی ریبوزوم باکتری‌ها اثری ندارد. از این آنتی‌بیوتیک در کارهای تحقیقاتی برای منع سنتز پروتئین در سلول‌های یوکاریوتی استفاده می‌شود (شکل ۳۰-۸).



Cycloheximide

شکل ۳۰-۸: سیکلوهگزامید



شکل ۲۹-۸: ساختمان مولکولی اریترومایسین

Scanned by TapScanner

۷-۱۰-۸ سم دیفتری: پروتئینی با وزن مولکولی ۵۸/۳ کیلودالتون است که توسط باکتری مولد بیماری دیفتری (گلودرد چرکی) Corynebacterium diphtheriae ترشح می‌شود. سم خطرناکی است که موجب اضافه شدن قند از طریق ریبوز (ADP-ribosylation) به هیستدین خاص (دیفتامین) موجود در فاکتور طویل کننده eEF2 یوکاریوتی می‌شود و آن را غیرفعال می‌کند و به‌این‌ترتیب از سنتز پروتئین در سلول‌های یوکاریوتی جلوگیری و موجب مرگ می‌شود.

۸-۱۰-۸ سم رایسین Ricin: پروتئین بسیار سمی دیگر است که از نوعی کرچک Castor bean به دست می‌آید این سم موجب برداشتن باز پورین از آدنوزین خاص روی ۲۸S rRNA (depurination)ریبوزوم شده وزیر واحد ۶۰S ریبوزوم یوکاریوتی را غیرفعال می‌نماید.

Scanned by TapScanner

۸-۱۱ سوالات نمونه

۱- کدامیک از مراحل ترجمه و سنتز پروتئین نیاز به مصرف انرژی بضورت ATP یا GTP ندارد؟

الف- تشکیل پیوند پپتیدی

ب- جابجایی کروموزوم در طول mRNA

ج- اتصال امینواسید به tRNA

د- ورود اسید امینه متصل به tRNAبه ریبوزوم

ه- تمام مراحل فوق نیاز به مصرف انرژی دارد

۲- ضریب رسوب ریبوزوم یوکاریوتی ..... است که از دو زیر واحد ..... و ..... تشکیل می شود.

الف- ۸۰S و ۵۰S و ۳۰S

ب- ۷۰S و ۴۰S و ۳۰S

ج- ۸۰S و ۶۰S و ۴۰S

د- ۷۰S و ۵۰S و ۳۰S

ه- ۸۰S و ۶۰S و ۵۰S

۳- کدام فاکتور پروتئینی برای جابجایی ریبوزوم در طول mRNA ضروری می باشد؟

الف- EF-TU

ب- EF-G

ج- EF-TS

د- RF-۱

ه- RF-۲

۴- کدامیک از عوامل زیر برای شناسایی ابتدای mRNA توسط ریبوزوم ۸۰S برای شروع ترجمه ضروری است؟

الف- Cap

ب- poly A tail

ج- توالی Shine-Dalgarno

د- توالی کوزاک

ه- تمام موارد فوق

۵- کدام آنتی بیوتیک سنتز پروتئین را فقط در موجودات یوکاریوتی منع می کند؟

الف- پوروماپسین

ب- تتراسایکلین

ج- سیکلوهگزامید

د- ریفامایسین

ه- ج و د

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	الف
۲	ج
۳	ب
۴	الف
۵	ج

Scanned by TapScanner

۹

فصل نهم:

گیرنده‌ها و مسیرهای انتقال پیام هورمون‌ها

دکتر علی‌اکبر اوجی

پس از مطالعه این فصل انتظار می‌رود بتوانید:

- ویژگی‌های بارز ساختمان پروتئینی گروه‌های عمده گیرنده‌های سطح سلولی و گیرنده‌های هسته‌ای را تعریف کنید.
- چگونگی راه‌اندازی سیستم‌های انتقال پیام توسط گروه‌های عمده گیرنده‌های سطح سلولی و گیرنده‌های هسته‌ای را شرح دهید.
- سیستم‌های پیامبرهای ثانویه cGMP،cAMP و IP3 را توضیح دهید.

Scanned with CamScanner

هورمون: از ریشه لاتین به معنی برانگیختن، در ابتدا به مولکولی زیستی گفته شد که یک پیام خاص را درون یک ارگانیسم منتقل نماید تا در پاسخ به آن پیام نوعی تغییر در سلول ایجاد گردد. هورمون‌ها با اتصال به گیرنده‌های خاص خود در سطح و یا درون سلول، ماشه انجام واکنش‌هایی پی‌درپی را در سلول می‌کشند. به مجموعه این واکنش‌ها مسیر انتقال پیام (Signal Transduction) گفته می‌شود. نتیجه نهایی این واکنش‌ها پاسخ سلول به پیام هورمون خواهد بود. هورمون‌ها تنها یکی از پیام‌رسان‌های اولیه‌ای هستند که می‌توانند مسیرهای انتقال پیام را راه‌اندازی نمایند. واسطه‌های عصبی، فاکتورهای رشد، آنتی‌ژن‌ها، بو، مزه، تماس مکانیکی و نور نیز در زمره پیام‌رسان‌های اولیه محسوب می‌گردند. در بخش اول بیوشیمی هورمون‌ها (فصل ۹)، مسیرهای انتقال پیام موردبررسی قرار خواهند گرفت. در بخش دوم (فصل ۱۰)، ابتدا تشکیلات هورمونی درون‌ریز (Endocrine) پستانداران مرور شده سپس هورمون‌هایی که نقش تعیین‌کننده و شناخته‌شده‌تری در کنترل متابولیسم مواد سه‌گانه (کربوهیدرات، چربی و پروتئین) دارند از نظر ساختمان، چگونگی بیوسنتز و ترشح، گیرنده‌ها و انتقال پیام، چگونگی تأثیرپذیری فعالیت آنزیم‌ها از پیام آن‌ها و نحوه غیرفعال شدن بررسی می‌شوند.

۱ـ۹ انتقال پیام(Signal transduction)

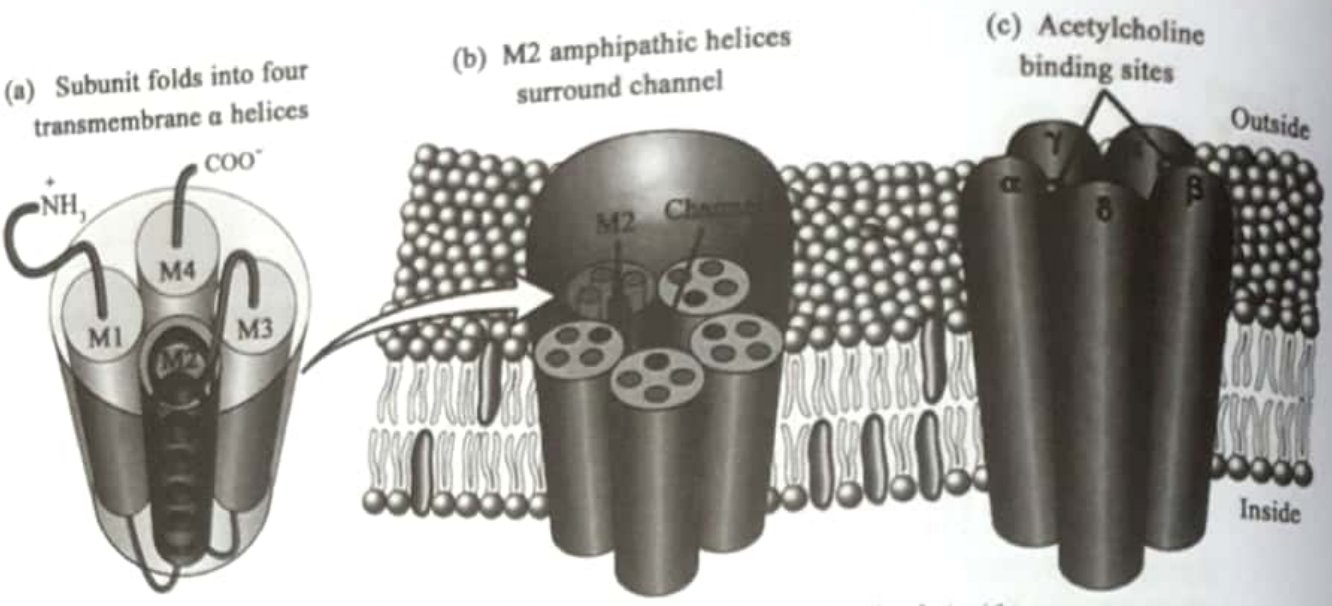
گیرنده‌ها بر اساس اطلاعات موجود پروتئین‌هایی هستند که به‌طور اختصاصی و میل زیاد از یک عامل پیام‌رسان تأثیر می‌پذیرند. تحت تأثیر پیام‌رسان آرایش فضایی پروتئین گیرنده تغییر نموده و درنتیجه یک سیستم انتقال پیام در سلول راه‌اندازی می‌گردد. معمولا به هورمون ها و اصولا موادی که با علاقه زیاد و به طور اختصاصی به گیرنده متصل میگردند لیگاند (Ligand) نیز گفته می شود. از نظر جایگاه سلولی، گیرنده‌ها ممکن است در غشاء سلولی و یا در سیتوپلاسم و هسته وجود داشته باشند.

۱ـ۱ـ۹ گیرنده‌های غشایی:

معمولاً دارای لیگاندهای هیدروفیل هستند. این گیرنده‌ها از نظر ماهیت مسیر انتقال پیام شامل انواع زیر می‌گردند.

الف- گیرنده‌های کانال یونی شامل گیرنده‌هایی مانند گیرنده‌های نیکوتینیک استیل کولین و گیرنده‌های گابا - آ ($GABA_A$) (حاشیه ۱-۹) می‌گردند. در پی اتصال لیگاند آرایش فضایی این گیرنده‌ها به نحوی تغییر می‌نماید که یک کانال ویژه عبور یون‌هایی خاص در ساختمان گیرنده پدیدار می‌گردد. یون‌ها در جهت شیب غلظت خود از کانال عبور می‌نمایند. در این صورت پتانسیل غشاء و برخی روندهای بیوشیمیایی سلول تغییر نموده و نهایتاً پاسخ سلول به لیگاند پدیدار می‌گردد. گیرنده نیکوتینیک استیل کولین (شکل ۱-۹) واقع در غشاء سلول‌های عضلات اسکلتی از پنج زیر واحد ($\alpha_2 \beta\gamma\delta$) تشکیل شده است. هر کدام از زیر واحدها به نحوی در غشاء سلول قرار می‌گیرند که بخشی از زنجیره پلی پپتیدی خود را جهت تشکیل جداره

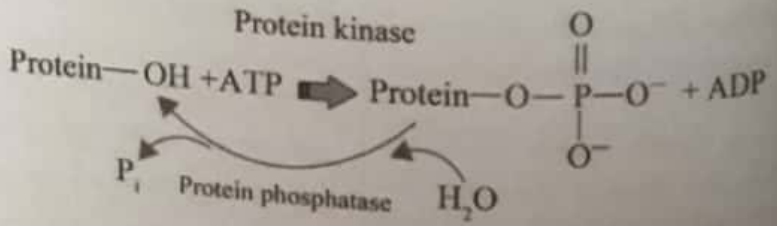
Scanned with CamScanner



شکل ۱-۹: ساختمان پروتئینی گیرنده نیکوتینیک (Nicotinic) استیل کولین

یک کانال یونی به اشتراک بگذارند. با اتصال استیل کولین به جایگاه‌های خود در زیر واحدهای آلفا آرایش پروتئینی مجموعه تغییر نموده و یک کانال یونی در آن تشکیل می‌گردد. اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید و گلوتامیک اسید در زمره اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده ساختار کانال می‌باشند. چون بار الکتریکی عامل کربوکسیل موجود در شاخه جانبی این اسیدهای آمینه در pH سلولی منفی می‌باشد بنابراین فضای داخل کانال دارای پتانسیل الکتریکی منفی بوده و یون‌های مثبت به درون کانال جذب و در جهت شیب غلظت از کانال عبور می‌نمایند. با ورود کاتیون‌هایی نظیر سدیم و کلسیم از خارج به درون سلول، پتانسیل درونی غشاء به سمت مثبت شدن میل نموده و دپلاریزه می‌گردد. دپلاریزه شدن غشاء سلول‌های عضلانی انقباض آن‌ها را در پی خواهد داشت.

ب- گیرنده‌های آنزیمی: پروتئین‌های غشاء پلاسمایی هستند که پس از اتصال لیگاند آرایش فضایی آن‌ها به نحوی تغییرمی نماید که یک جایگاه فعال آنزیمی در آن‌ها پدیدار می‌گردد. بسیاری از گیرنده‌های آنزیمی دارای خاصیت آنزیمی پروتئین کیناز می‌باشند. واکنش عمومی آنزیم‌های پروتئین کیناز به شرح زیر است:



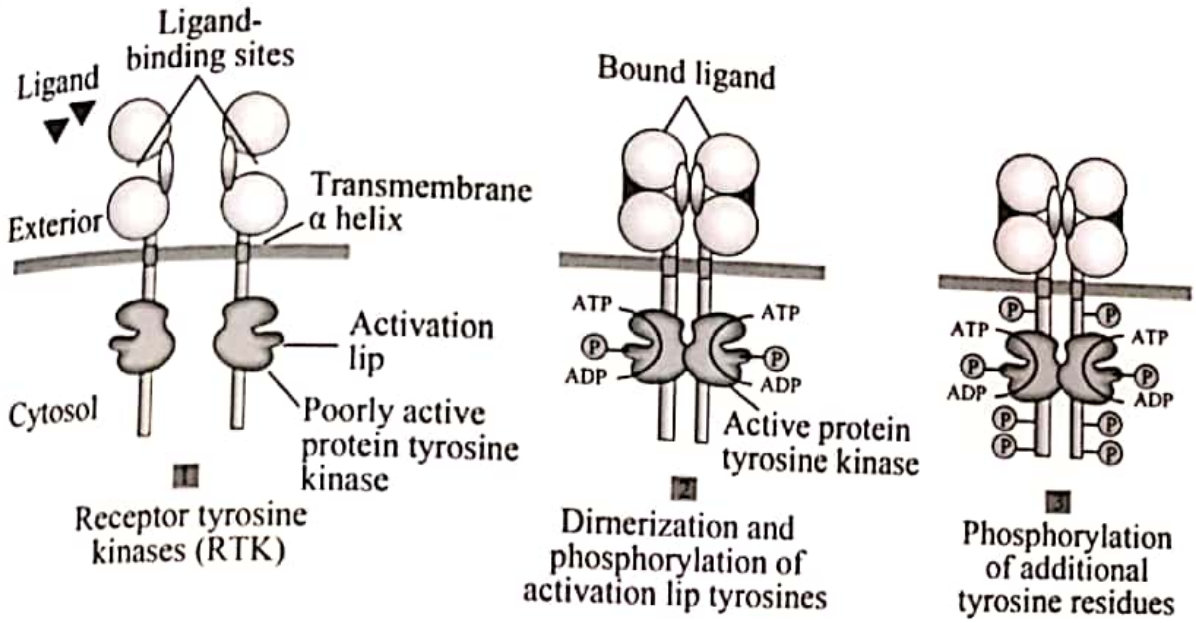
بیشتر این گیرنده‌ها از جمله گیرنده‌های انسولین و بسیاری از فاکتورهای رشد (Growth factors) دارای خاصیت تیروزین کیناز می‌باشند.

زنجیره پلی پپتیدی گیرنده‌های بسیاری از فاکتورهای رشد (شکل ۲-۹) به نحوی در غشاء پلاسمایی قرار می‌گیرند که انتهای آمین آن‌ها در خارج غشاء قرار گرفته و

حاشیه ۱-۹ گیرنده‌های $GABA_A$

واقع در غشاء بسیاری از سلول‌های عصبی نیز از نظر ساختاری شبیه گیرنده های نیکوتینیک استیل کولین بوده و از پنج زیر واحد تشکیل می‌گردند؛ اما نوع اسیدهای آمینه تشکیل‌دهنده کانال به نحوی است که این گیرنده‌ها به‌عنوان کانال ویژه عبور آنیون‌هایی نظیر یون کلر عمل می‌نمایند. با ورود یون‌های کلر به درون سلول عصبی پتانسیل درونی غشاء منفی‌تر و غشاء هیپرپلاریزه می‌گردد. بدین ترتیب ایجاد پتانسیل عمل در نورون و تحریک آن سخت‌تر می‌شود. داروهای خواب آور مانند اگزازپام (Oxazepam) لیگاند گیرنده گابا آ بوده و در پاسخ به آن‌ها، نورون‌ها وارد حالت استراحت شده و تحریک‌پذیری آن‌ها کاهش میابد.

Scanned with CamScanner



شکل ۲-۹: گیرنده‌های تیروزین کیناز

انتهای کربوکسیل آن‌ها در بخش داخل سیتوپلاسمی غشاء قرار بگیرند. چنین زنجیره پلی پپتیدی یک‌مرتبه از عرض غشاء عبور کرده و یک مارپیچ آلفا در غشاء ایجاد می‌نماید. معمولا با اتصال فاکتور رشد به بخش خارج سلولی گیرنده، یک مولکول دیگر گیرنده به مجموعه ملحق شده و دیمر ایجاد می‌گردد. دیمر ایجاد شده در ناحیه داخل سلولی خود دارای خاصیت تیروزین کیناز می‌باشد. اسیدهای آمینه تیروزین موجود در بخش داخل سیتوپلاسمی گیرنده اولین سوبسترای این خاصیت آنزیمی واقع می‌شوند. به این پدیده اتوفسفریلاسیون گفته می‌شود (Autophosphorylation). درنتیجه این پدیده مولکول‌های فسفات به بخش داخل سیتوپلاسمی گیرنده متصل شده و بدین ترتیب گیرنده آماده راه‌اندازی واکنش‌های بعدی مسیر انتقال پیام خود می‌گردد. پاسخ نهایی سلول‌ها به فاکتورهای رشد ورود به فاز میتوز می‌باشد.

فعالیت نابجا و کنترل نشده تیروزین کیناز در سلول در جهت سرطانی شدن آن می‌باشد. امروزه از مهار کننده های تیروزین کیناز و آنتی‌بادی‌های علیه گیرنده‌های تیروزین کیناز به عنوان داروهای بسیار مؤثر با عوارض جانبی کم در درمان سرطان استفاده می‌شود (حاشیه ۲-۹).

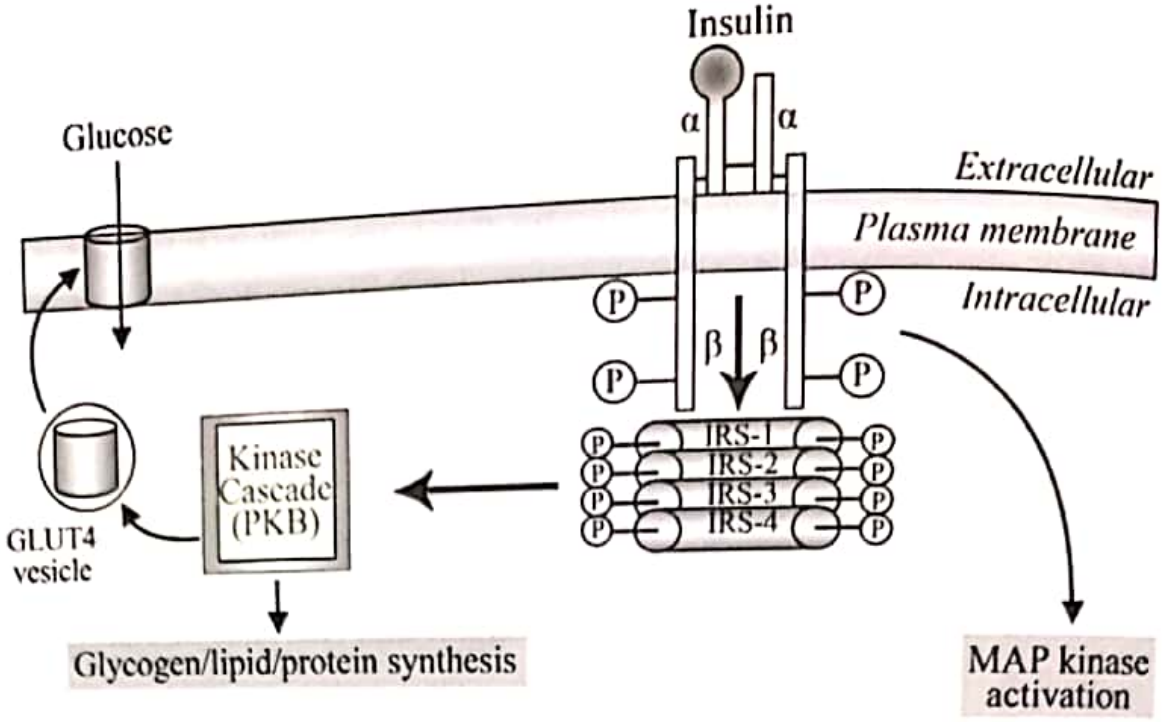
برخی گیرنده‌های پروتئین کیناز نیز دارای فعالیت کاتالیزوری سرین - ترئونین کیناز (Serine Threonine Kinase) هستند. گیرنده‌های هورمون‌های اکتیوین (Activin) و اینهیبین (Inhibin) از این نوع گیرنده‌ها می‌باشند. این گیرنده‌ها پس از اتصال به هورمون‌های فوق، سوبستراهای پروتئینی خود را در اسیدهای آمینه سرین و ترئونین فسفریله نموده و ماشه جریان انتقال پیام خاص خود را می‌کشند. نوعی دیگر از گیرنده‌های آنزیمی نیز دارای خاصیت گوانیلات سیکلاز می‌باشد (بخش ۳-۲-۹ را ببینید).

گیرنده انسولین نیز دارای فعالیت تیر وزین کیناز می‌باشد، منتهی ساختمان

حاشیه ۲-۹

نسل جدید داروهای شیمی درمانی گیرنده های تیروزین کیناز را هدف قرار داده اند. بر اساس شواهد موجود افزایش فعالیت گیرنده های تیروزین کیناز اساس مولکولی بسیاری از سرطان ها است. مثلا افزایش بی رویه بیان ژن یک نوع از این گیرنده ها (Human epidermal growth fac-tor receptor, HER2) در برخی از سرطان های مهاجم و پیشرفته پستان مشاهده می شود. افزایش بیان ژن EGFR (Epider-mal growth factor receptor) نیز در انواعی از سرطان های روده بزرگ و سرو گردن وجود دارد. در موارد دیگری از سرطان های تخمدان، مغز و ریه، بروز موتاسیون در ژن گیرنده EGFR باعث تغییراتی در ساختار پروتئینی گیرنده می شود که در نتیجه آن گیرنده در غیاب لیگاند نیز فعال می باشد. به همین دلایل داروهای مهار کننده تیروزین کی ناز (Tyrosine kinase inhibitors) به عنوان نسل جدید و موفق تر داروهای شیمی درمانی ابداع شدند. بعضی از این داروها مانع از اتصال ATP به جایگاه تیروزین کینازی گیرنده می شوند. استفاده درمانی ازآنتی بادی های علیه بخش خارج سیتوپلاسمی بعضی از گیرنده های تیروزین کیناز نیز نتایج بسیار خوبی در درمان بعضی از سرطان ها داشته اند.

Scanned with CamScanner

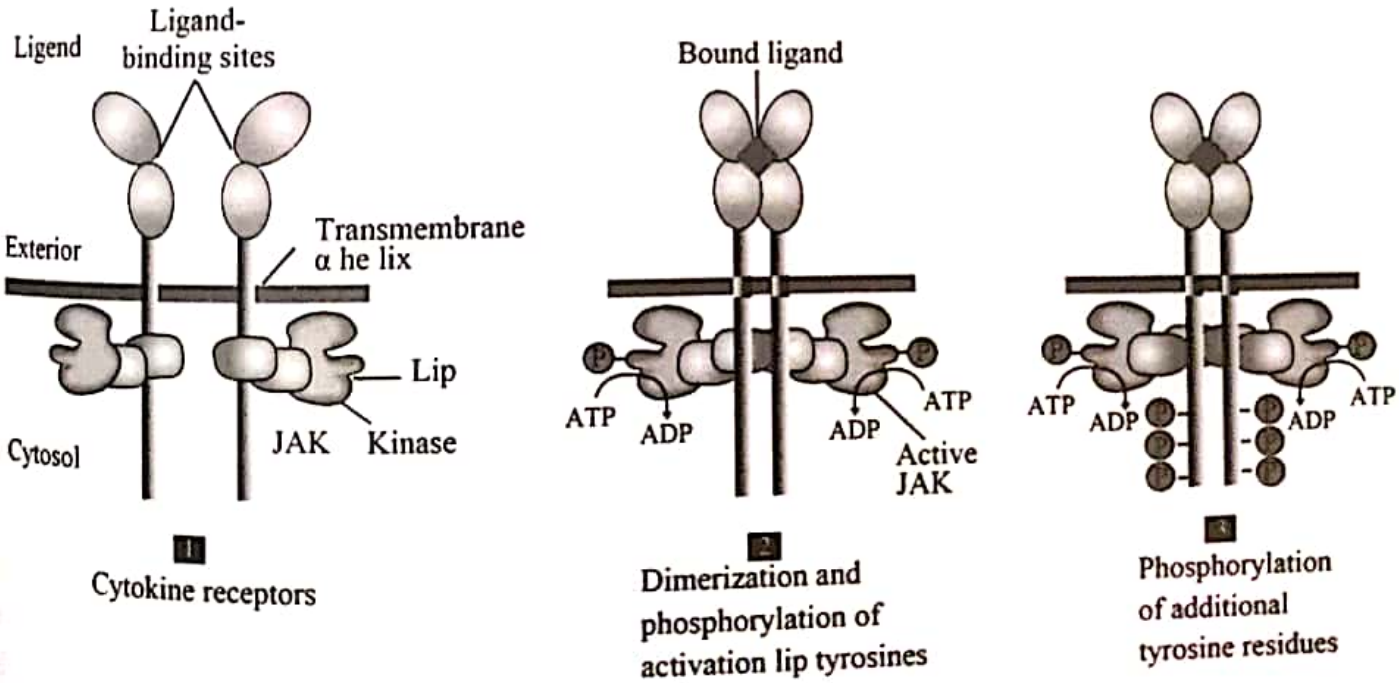


شکل ۳-۹: گیرنده و مسیرهای انتقال پیام انسولین

پروتئینی این گیرنده در غیاب لیگاند نیز به‌صورت دی‌مر است (شکل ۳-۹). هر کدام از منومرها به‌تنهایی دارای زیر واحد آلفا و بتا می‌باشند که از طریق یک پیوند دی‌سولفید به هم متصل هستند. زیر واحدهای آلفا در سمت خارج سلولی غشاء واقع شده و جایگاه اتصال انسولین بر روی آن‌ها قرار دارد، زیر واحدهای بتا در بخش داخل سیتوپلاسمی گیرنده قرار گرفته و دارای جایگاه تیروزین کیناز می‌باشند. با اتصال انسولین به گیرنده، خاصیت تیروزین کینازی در زیر واحدهای بتا فعال و اسیدهای آمینه تیروزین در این زیر واحد فسفریله می‌گردند (اتوفسفریلاسیون). فسفریله شدن بعضی اسیدهای آمینه تیروزین در زنجیره‌های بتا باعث باز شدن جایگاه فعال آن می‌گردد تا پروتئین‌های دیگری نیز بتوانند به‌عنوان سوبسترا پذیرفته‌شده و در اسیدهای آمینه تیروزین فسفریله شوند. بدین ترتیب با فعال شدن خاصیت تیروزین کیناز گیرنده انسولین، ماشه راه‌اندازی دو مسیر انتقال پیام عمده کشیده می‌شود. در یک مسیر، پروتئینی بنام سوبسترای ۱ گیرنده انسولین (Insulin receptor substrate -1) سوبسترای عمل کاتالیزوری گیرنده انسولین واقع شده، فسفریله و فعال می‌گردد. با فعال شدن این پروتئین چند واکنش متوالی انجام می‌شود تا آنزیمی بنام پروتئین کیناز B (Protein kinase B) فعال گردد. این آنزیم مولکول‌های سوبسترای خود را در اسیدهای آمینه سرین و ترئونین فسفریله نموده و با تغییر فعالیت این پروتئین‌ها بخشی از پاسخ سلول به پیام انسولین پدیدار می‌گردد. در مسیر دیگر انتقال پیام انسولین آنزیم MAP کیناز (Mitogen activated protein kinase) فعال می‌گردد. این آنزیم به هسته سلول وارد شده و به‌نوبه خود بعضی فاکتورهای نسخه‌برداری (transcription factors) خاص را فعال می‌نماید. این فاکتورها روند نسخه‌برداری از حدود یک‌صد ژن را تحت تأثیر قرار داده و درنهایت موجبات بروز بخش دیگری از پاسخ سلول به انسولین یعنی ورود سلول به فاز میتوز را فراهم می‌نمایند.

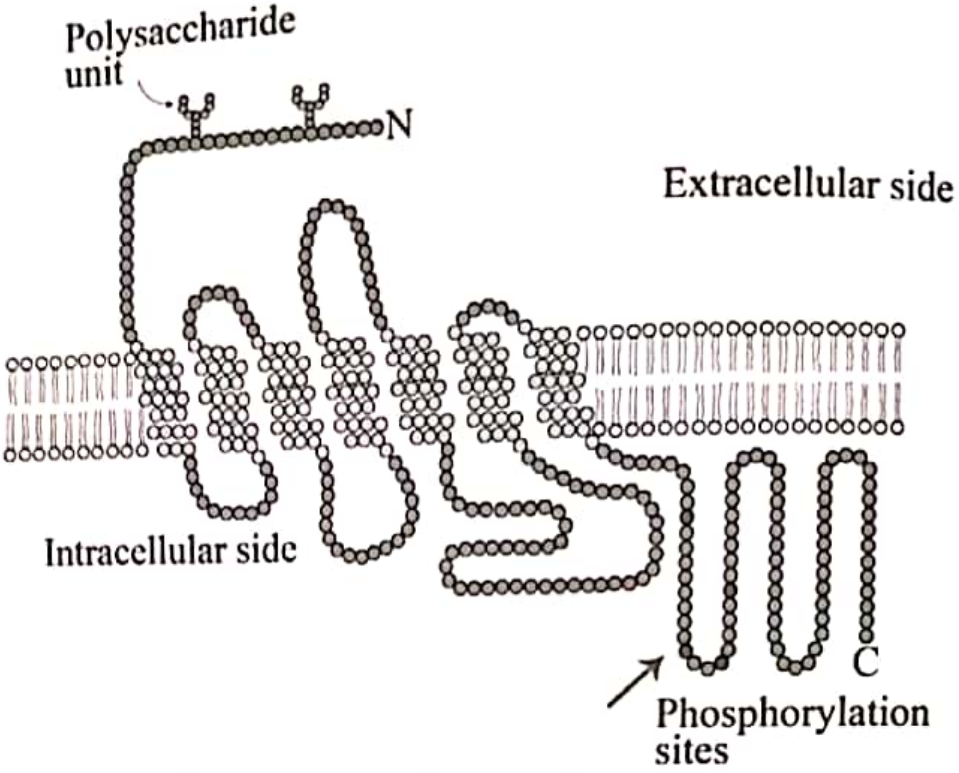
Scanned with CamScanner

ج- گیرنده‌های خانواده سیتوکین (Cytokine receptors): شامل گیرنده‌های هورمون‌هایی نظیر هورمون رشد و پرولاکتین می‌باشند. این دسته از گیرنده‌ها (شکل ۴-۹) به‌صورت دیمر بوده و به‌تنهایی دارای فعالیت زیستی نیستند؛ اما هر کدام از منومرها از ناحیه داخل سیتوپلاسمی خود به پروتئین‌هایی مانند یک آنزیم تیروزین کیناز غیرفعال بنام جک کیناز (Janus Kinase) متصل می‌باشند. با اتصال لیگاند به گیرنده آرایش فضایی گیرنده به نحوی تغییر می‌نماید که دو پروتئین جک به هم نزدیک شده و یکدیگر را فسفریله می‌نمایند. پروتئین‌های جک فعال شده با فسفریله نمودن مولکول‌های سوبسترای خود مسیر انتقال پیام مربوط به لیگاند را راه‌اندازی می‌کنند. بدین ترتیب که بخش داخل سیتوپلاسمی گیرنده که توسط جک فسفریله شده توسط پروتئین‌هایی به نام استات (Signal Transducer and Activator of Transcription, STAT) مورد شناسایی قرار می‌گیرد. پس از انتقال به این ناحیه، استات سوبسترای جک واقع شده و فسفریله می‌گردد. استات فسفریله شده دیمر شده و به هسته سلول منتقل می‌شود. دیمراستات توالی‌های نوکلئوتیدی ویژه خود را در DNA شناسایی کرده و پس از اتصال به آن موجبات تغییر در بیان ژن‌های بخصوصی را فراهم می‌آورد تا پاسخ سلول به هورمون پدیدار گردد.



شکل ۴-۹: گیرنده‌های سیتوکین و مسیر انتقال پیام جک ـ استات

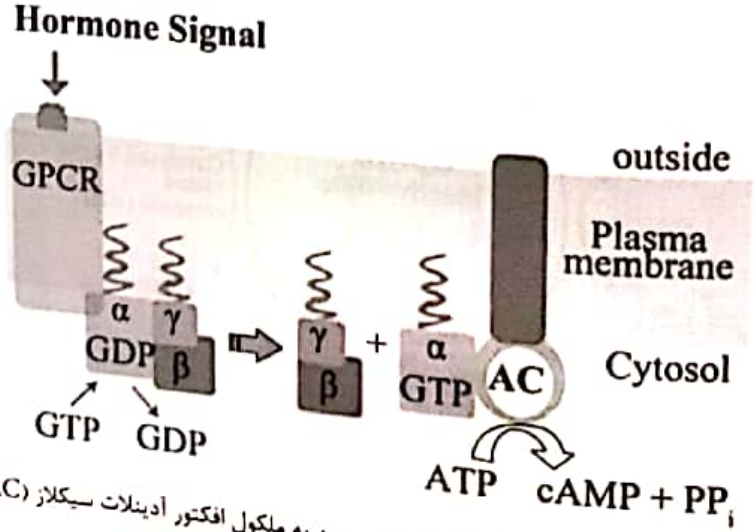
Scanned with CamScanner



شکل ۵-۹: ساختمان نمادین یک گیرنده وابسته به پروتئین G

د- گیرنده‌های وابسته به پروتئین‌های G (G protein coupled receptors): به نحوی در غشاء پلاسمایی قرار می‌گیرند که انتهای آمین زنجیره پلی پپتیدی آن‌ها در سمت خارج سلولی غشاء قرار می‌گیرد. سپس زنجیره پلی پپتیدی هفت مرتبه از عرض غشاء عبور نموده و هر مرتبه یک مارپیچ آلفا در غشاء ایجاد کرده و نهایتاً انتهای کربوکسیل زنجیره پلی پپتیدی در سمت داخل سلولی غشاء قرار می‌گیرد. به این دسته از گیرنده‌ها 7-TM (7-Transmembrane) نیز گفته می‌شود (شکل ۵-۹).

بانصال لیگاند به بخش خارج سلولی گیرنده آرایش فضایی گیرنده به نحوی تغییر



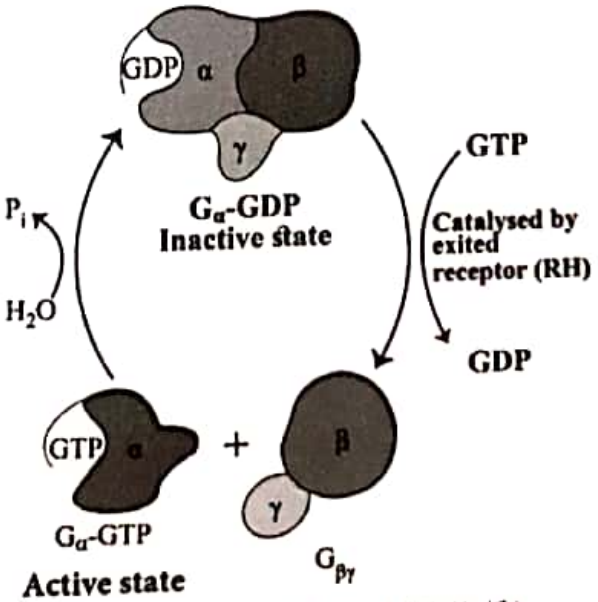
شکل ۶-۹: نقش پروتئین G در انتقال پیام هورمون به ملکول افکتور آدینلات سیکلاز (AC)

Scanned with CamScanner

می‌نماید که یک پروتئین غشایی به نام پروتئین G فعال می‌گردد. این پروتئین به‌عنوان مبدل پیام(Transducer) عمل نموده و پیام لیگاند را به درون سلول منتقل می‌نماید. بدین ترتیب که به پروتئین‌های ویژه‌ای تحت عنوان کلی «افکتور» (Effectors) متصل شده و فعالیت آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در بسیاری از موارد پروتئین‌های افکتور آنزیم‌های تولیدکننده پیامبرهای ثانویه (مانند cAMP) می‌باشند. با تغییر غلظت پیامبر ثانویه پیام لیگاند (پیامبر اولیه) در سلول تقویت شده و نهایتاً پاسخ سلول به لیگاند پدیدار می‌گردد (شکل ۶-۹).

پروتئین‌های G در زمره پروتئین‌های متصل به نوکلئوتیدهای گوانینی (Guanine nucleotide binding proteins) می‌باشند. این پروتئین‌ها معمولاً در حالت فعال به GTP و در حالت غیرفعال خود به GDP متصل هستند. این پروتئین‌ها در ابتدا به‌عنوان برخی از فاکتورهای پروتئینی شرکت‌کننده در جریان بیوسنتز پروتئین‌ها در باکتری‌ها شناخته شدند (مانند پروتئین ترانس لوکاز (Translocase). در سلول‌های جانوری این پروتئین‌ها متنوع‌تر بوده و پروتئین‌های G را نیز شامل می‌گردند. هر مولکول پروتئین G از سه زیر واحد آلفا، بتا و گاما تشکیل می‌گردد. تاکنون بیش از ۱۲ نوع پروتئین G مختلف شناسایی‌شده‌اند. پروتئین‌های G مختلف ممکن است در زیر واحدهای بتا و گاما مشترک باشند اما در زیر واحد آلفا با یکدیگر تفاوت دارند. بنابراین بر اساس نوع زیر واحد آلفا از نظر ردیف اسیدهای آمینه، پروتئین‌های G مختلف تکوین می‌یابند. مثلاً پروتئین Gs دارای زیر واحد α_s و پروتئین Gi دارای زیر واحد αi می‌باشد.

هر پروتئین G در دو حالت فعال و غیرفعال وجود دارد (شکل ۷-۹). در حالت غیرفعال یک مولکول GDP به زیر واحد آلفا متصل بوده و زیر واحد آلفا به زیر واحدهای بتا و گاما متصل می‌باشد. در این حالت پروتئین G به گیرنده مربوط به آن متصل است. با اتصال لیگاند به گیرنده، مجموعه حاصل، واکنش جدایی یک مولکول GDP از زیر واحد آلفا و جانشینی یک مولکول GTP به‌جای آن را کاتالیز می‌نماید. زیر واحد Gα-GTP حاصل

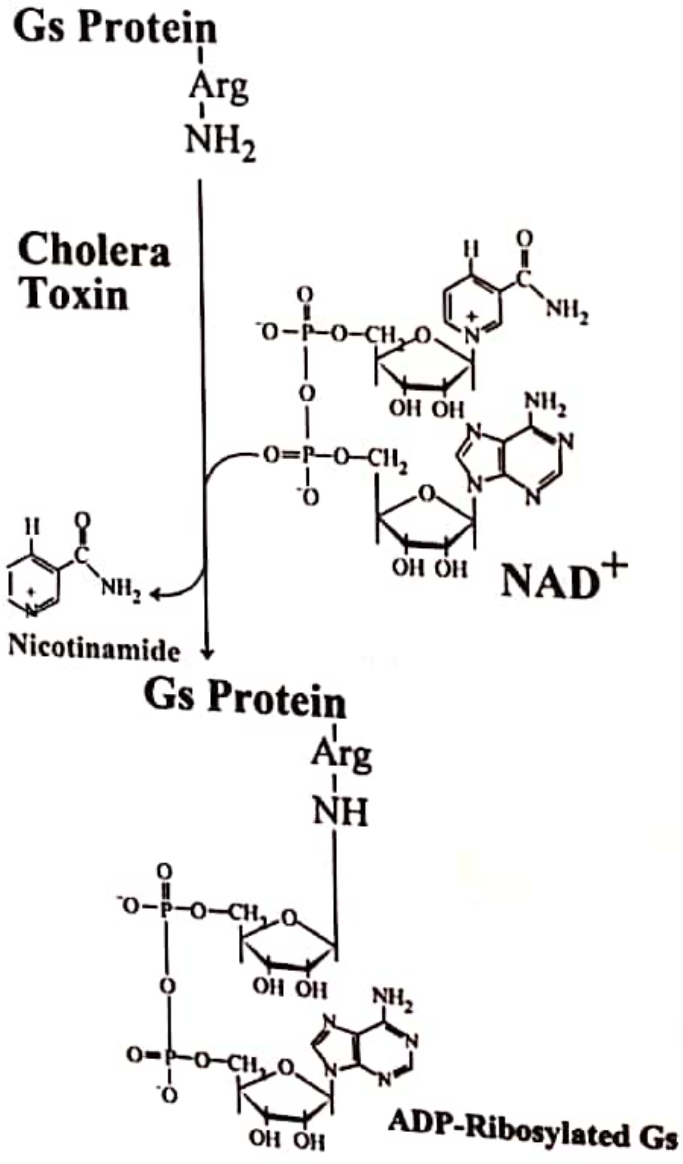


شکل ۷-۹: فعال و غیرفعال شدن پروتئین‌های G

Scanned with CamScanner

حاشیه ۳-۹: سموم بعضی باکتری‌ها ساختمان پروتئین‌های G را تغییر می‌دهند.

سم باکتری وبا (Cholera toxin) انجام واکنشر ADP ریبوزیلاسیون (ADP Ribosylation) را بر پروتئین Gas در سلول‌های اپی تلیال روده کاتالیز می‌نماید. در این واکنش‌ها جزء ADP ریبوز (ADP-Ribose) از NAD^+ جدا شده و به مولکول سوبسترا منتقل می‌گردد (شکل ۷-۹). درنتیجه فعالیت زیستی مولکول سوبسترا دستخوش تغییر می‌شود. در این مورد با انتقال جزء ADP-Ribose از NAD^+ به پروتئین Gas خاصیت GTPase این پروتئین مهار می‌گردد؛ بنابراین میزان فرم فعال پروتئین (Gas-GTP) و درنتیجه cAMP در سلول‌ها افزایش میابد. پاسخ سلول‌های اپی تلیال روده به افزایش cAMP افزایش ترشح Cl^- و HCO_3^- و آب به روده می‌باشد. افزایش دفع آب و الکترولیت از روده و دهیدراته شدن بدن از عوارض بیماری وبا می‌باشد. سم باکتری سیاه‌سرفه (Pertussis toxin) نیز واکنش ADP ریبوزیلاسیون را بر Gai کاتالیز می‌نماید. با اتصال جزء ADP – ribose به Gai این پروتئین در حالت غیرفعال Gai – GDP قفل شده و واکنش جابجایی GTP به‌جای GDP انجام نمی‌گیرد؛ بنابراین با کاهش فرم‌های فعال Gi اثر مهاری آن‌ها بر آدنیلیل سیکلاز برداشته شده و سطح cAMP در سلول افزایش میابد. پاسخ سلول‌های مجاری هوایی در ریه به cAMP افزایش حساسیت به هیستامین خواهد بود؛ بنابراین ریه افراد آلوده به باکتری فوق به غلظت‌های کم و عادی هیستامین نیز پاسخ داده و سرفه‌های مکرر ایجاد می‌گردد.

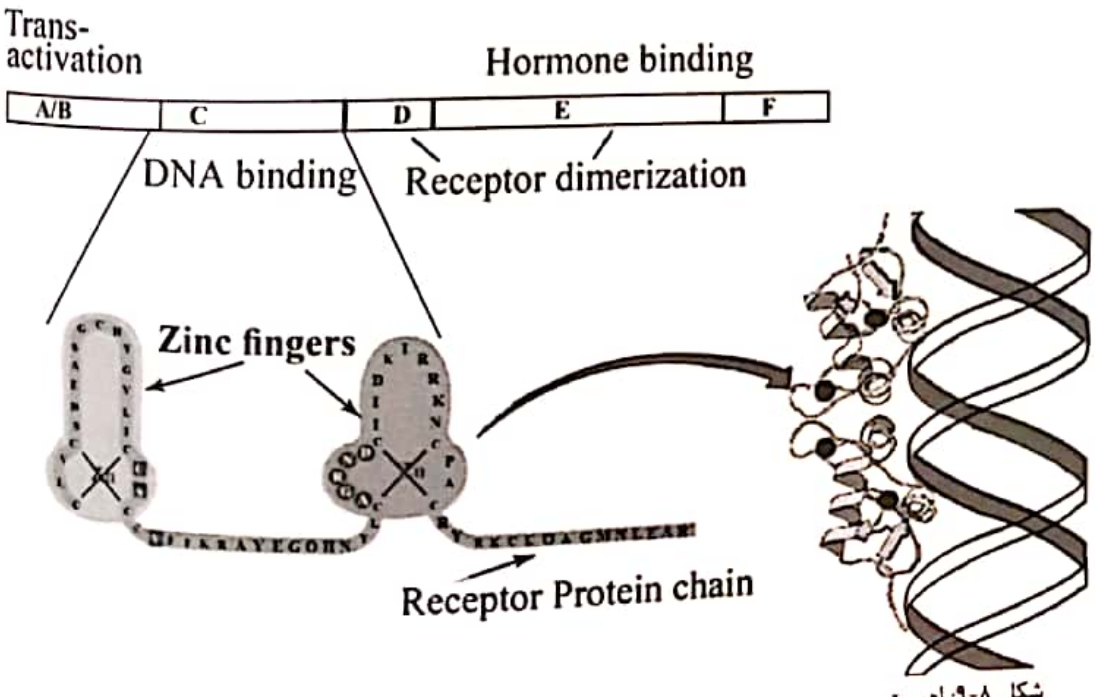


Scanned with CamScanner

علاقه‌ای به اتصال به مجموعه بتا و گاما نداشته و با جدا شدن از آن مجموعه از اثر مهاری زیر واحد بتا رها گردیده و فعال می‌شود. Gα-GTP به پروتئین‌های افکتور خاص خود متصل شده و فعالیت آن‌ها را تغییر می‌دهد. مثلاً Gα-GTP با اتصال به آنزیم آدنیلات سیکلاز آن را فعال کرده درحالی‌که Gαi-GTP در صورت اتصال به این آنزیم آن را مهار می‌نماید. پروتئین Gα-GTP علاوه بر توانایی در اتصال و تغییر فعالیت افکتور، دارای فعالیت آنزیمی GTPase نیز می‌باشد. به‌واسطه این فعالیت، مولکول GTP متصل به خود پروتئین G به GDP و Pi هیدرولیز می‌گردد. پروتئین Gα-GDP حاصله تمایل خود به الحاق به مجموعه بتا گاما را بازیافته و با اتصال به آن مجموعه تحت تأثیر اثر مهاری زیر واحد بتا غیرفعال می‌گردد. بدین ترتیب پروتئین Gα-GTP مانند جرقه‌ای تنها در کسری از زمان ظاهر شده، مولکول افکتور را تحت تأثیر قرار داده سپس ناپدید می‌شود تا سیستم آماده دریافت پیام بعدی گردد. لازم به تذکراست که زیر واحد گاما نقش مهمی در لنگراندازی پروتئین G در غشاء پلاسمایی دارد. لازم به ذکر است که سموم بعضی از باکتری‌ها مانند سم باکتری وبا (Cholera toxin) و سم باکتری سیاه‌سرفه (Pertussis toxin) ساختمان پروتئین‌های G را تغییر داده و عمل بیوشیمیایی آن را مختل می‌نمایند (حاشیه ۳-۹).

۲-۱-۹ گیرنده‌های هسته‌ای(Nuclear receptors) :

دارای لیگاندهای هیدروفوب مانند هورمون‌های استروئیدی و تیروئیدی، ویتامین D و رتینوئیک اسید می‌باشند. این مولکول‌های هیدروفوب از غشاءهای سلولی عبور نموده و در هسته به گیرنده‌های خود متصل می‌گردند. گیرنده‌های هسته‌ای دارای چهار ناحیه مهم در ساختمان خود می‌باشند (شکل ۸-۹):



شکل ۸-۹: اهمیت زیستی نواحی مختلف (A-F) گیرنده‌های هسته‌ای و چگونگی اتصال این گیرنده ها به DNA

Scanned with CamScanner

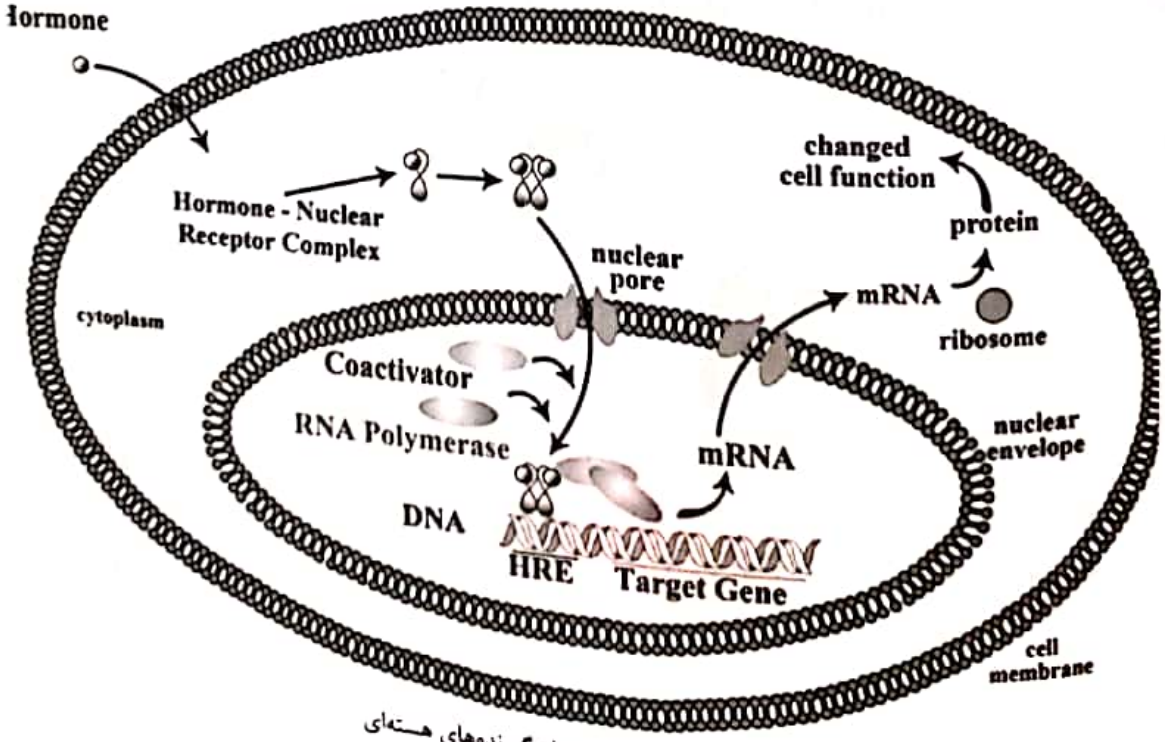
۱. جایگاه اتصال به لیگاند

۲. ناحیه اتصال به DNA که ویژه تشخیص و اتصال به توالی‌های نوکلئوتیدی خاصی در DNA می‌باشد. در این ناحیه از ساختمان پروتئینی گیرنده، زنجیره پلی پپتیدی به نحوی بر روی خود تا می‌خورد که دو ساختمان انگشت مانند ایجاد می‌گردد. در هر کدام از این نواحی انگشت مانند یک یون روی با اتم‌های گوگرد موجود در شاخه جانبی چهار اسیدآمینه سیستئین پیوند داتیو برقرار نموده و بدین ترتیب این ساختارها پایدار می‌گردند. به این ساختارها انگشتان روئین (Zinc Fingers) گفته می‌شود. انگشتان روئین در شیار بزرگ DNA قرار گرفته و می‌توانند با بازهای آلی کف شیار بزرگ DNA تعامل ایجاد نمایند. درواقع انگشتان روئین در تشخیص و اتصال گیرنده‌های هسته‌ای به توالی‌های نوکلئوتیدی خاصی در DNA نقش تعیین‌کننده‌ای دارند. به این توالی‌ها Hormone Response Element (HRE) گفته می‌شود.

۳. نواحی مربوط به اتصال دو مولکول گیرنده به هم و ایجاد دیمر

۴. ناحیه مربوط به تعامل گیرنده با بعضی فاکتورهای نسخه‌برداری و عوامل پروتئینی تشکیل‌دهنده ماشین رونویسی.

بدین ترتیب با اتصال لیگاند به گیرنده‌های هسته‌ای این گیرنده‌ها دی‌مر شده و گیرنده دی‌مر شده به کمک انگشتان روئین توالی HRE خاص خود را در DNA تشخیص داده و به آن متصل می‌گردد. با ایجاد این مجموعه زمینه برای تعامل گیرنده با فاکتورهای نسخه‌برداری و ماشین نسخه‌برداری فراهم گردیده و بسته به نوع گیرنده و نوع HRE جریان نسخه‌برداری از روی ژن مجاور و تحت کنترل HRE افزایش و



شکل ۹-۹: مسر انتقال پیام گیرنده‌های هسته‌ای

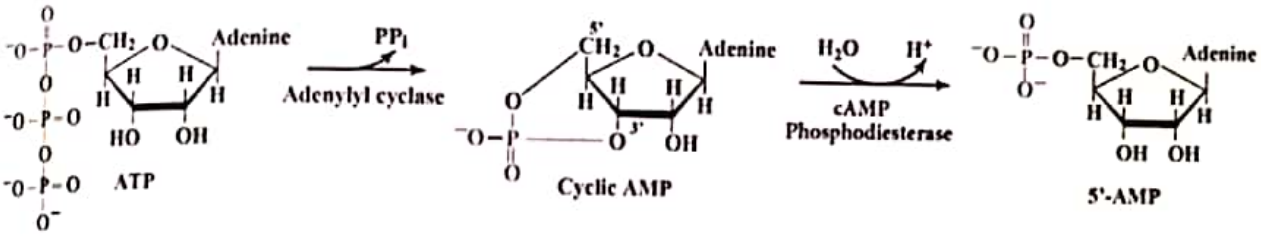
Scanned with CamScanner

یا کاهش میابد. لازم به تذکر است که بروز پاسخ سلول به پیام لیگاندهای گیرنده‌های هسته‌ای با تأخیر چند ساعت تا چند روز مشاهده خواهد شد (شکل ۹-۹).

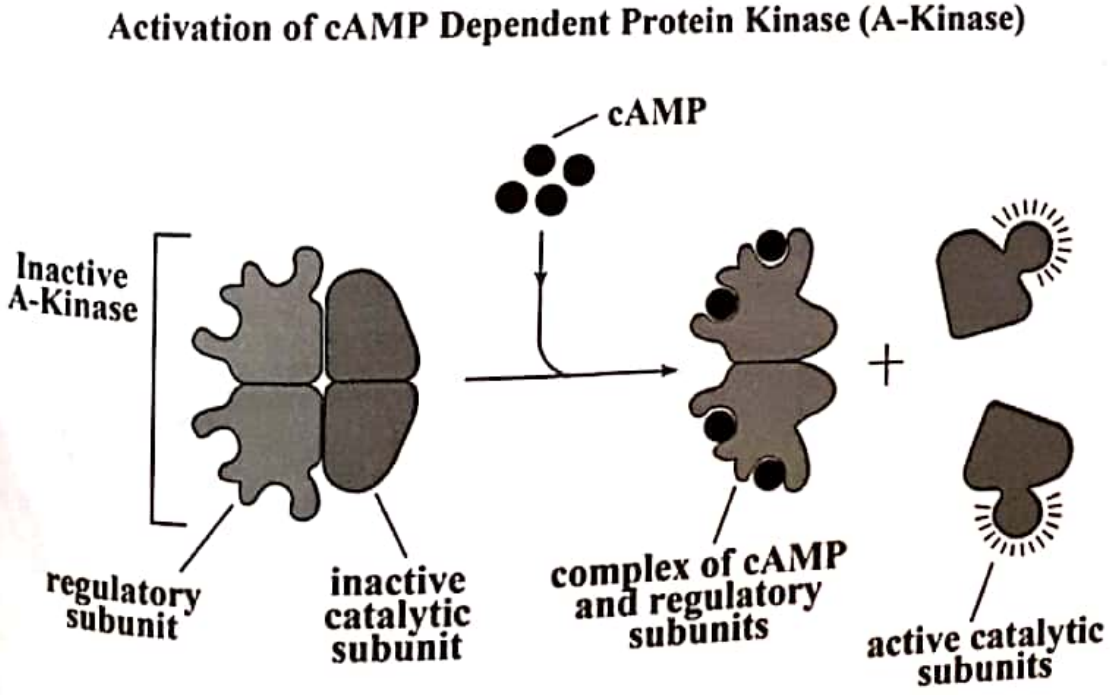
۹-۲ سیستم‌های پیامبرهای ثانویه

۹-۲-۱ سیستم cAMP

با اتصال لیگاند به گیرنده‌های مرتبط به پروتئینGs، این پروتئین فعال شده و $G\alpha_s$-GTP آنزیم آدنیلیل سیکلاز (Adenylyl cyclase) را فعال می‌نماید. این آنزیم واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید.

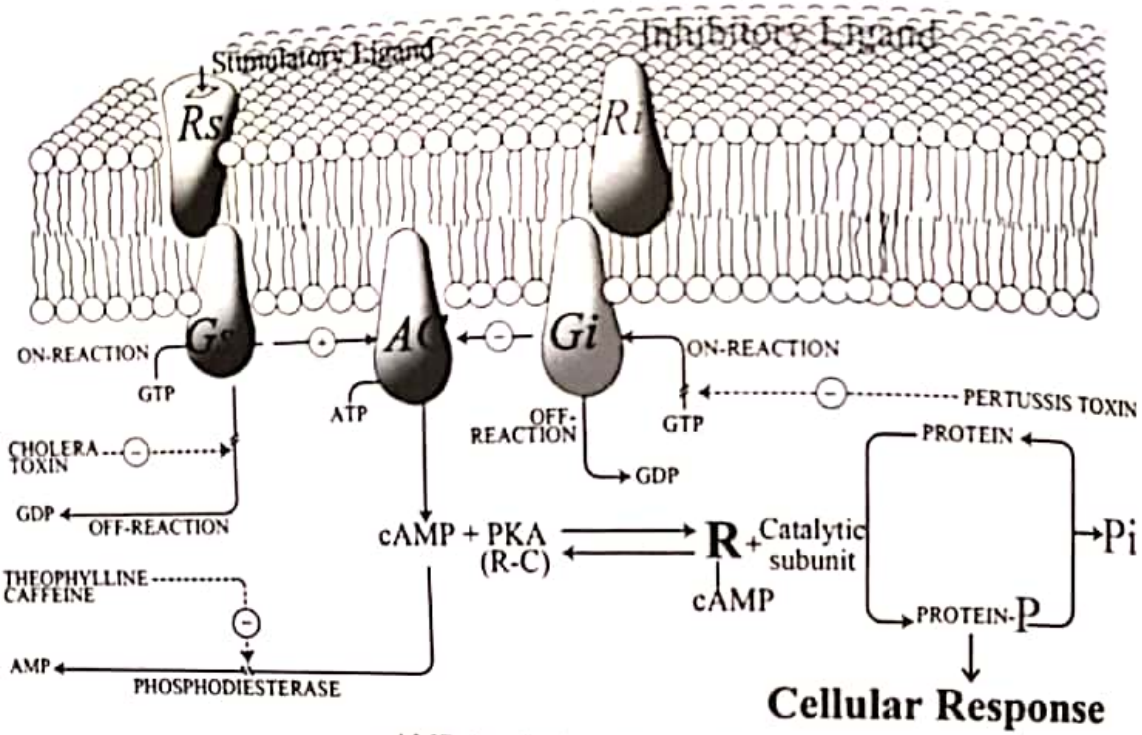


در پی افزایش غلظت cAMP فعالیت یک آنزیم سرین- ترئونین پروتئین کیناز به نام پروتئین کیناز آ (PKA (Protein Kinase A در سیتوزول افزایش میابد. درواقع این آنزیم دارای دو نوع زیر واحد کاتالیتیک (Catalytic) و تنظیمی (Reg-ulatory) است (شکل ۱۰-۹). زیر واحد تنظیمی دارای چهار جایگاه ویژه اتصال cAMP می‌باشد. با اتصال cAMP به این جایگاه‌ها آرایش فضایی زیر واحد تنظیمی تغییر کرده، از زیر واحد کاتالیتیک جدا شده و اثر مهاری آن بر این زیر واحد برداشته



شکل ۱۰-۹: فعال شدن پروتئین کیناز آ توسط cAMP

Scanned with CamScanner

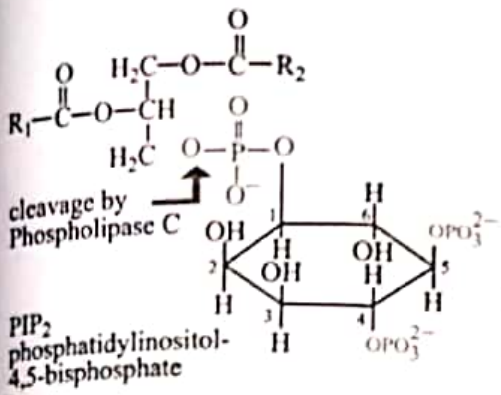


شکل ۱۱-۹: مسیر انتقال پیام cAMP

می‌شود. زیر واحد کاتالیتیک فعال شده، واکنش ایجاد پیوند استری بین یک مولکول فسفات از ATP و یک عامل هیدروکسیل از سرین و یا ترئونین موجود در سوبستراهای پروتئینی آنزیم را کاتالیز می‌نماید. با اتصال مولکول فسفات به سوبستراهای پروتئینی فعالیت آن‌ها تغییر نموده و درنهایت پاسخ سلول به لیگاند ظاهر می‌گردد. مثلا انواعی از گیرنده های بتا (β) آدرنالین (اپینفرین) به پروتئین G_s مرتبط می‌باشند. در شرایط استرس هنگامی‌که اپینفرین به گیرنده‌های بتا خود در سطح سلول‌های کبد و چربی متصل می‌گردد آنزیم آدنیلیل سیکلاز توسط Gαs-GTP فعال شده، سطح cAMP در سلول نسبت به سطح پایه آن افزایش یافته و پاسخ سلول‌های کبد و چربی به اپینفرین پدیدار می‌شود. این پاسخ، صدور قند از سلول‌های کبد و اسید چرب از سلول‌های چربی به جریان خون خواهد بود. لازم به ذکر است که گیرنده‌های نوع α_2 اپینفرین به پروتئین Gαi-GTP مرتبط می‌باشند؛ بنابراین با اتصال اپینفرین به این گیرنده‌ها آنزیم آدنیلیل سیکلاز توسط Gαi-GTP مهارشده و سطح cAMP در سلول نسبت به سطح پایه آن کاهش می‌یابد. همین کاهش موجبات بروز پاسخ سلول‌های دارای این گیرنده‌ها به اپینفرین را فراهم می‌آورد (شکل ۱۱-۹). ناگفته نماند که گیرنده‌های وابسته به پروتئین‌های G در تنظیم بیان ژن‌ها و رشد سلولی نیز نقش مهمی دارند (حاشیه ۴ـ۹).

از ارکان مهم هر مسیر انتقال پیام آنزیم‌هایی هستند که پیامبرهای ثانویه و سایر علائم تقویت‌شده در سلول را غیرفعال کرده و بدین‌وسیله سلول را آماده دریافت پیام بعدی می‌نمایند. آنزیم‌های فسفودی استراز (Phosphodiesterase) واکنش غیرفعال سازی cAMP و تبدیل آن به AMP را کاتالیز می‌نمایند؛ بنابراین سطح پایه cAMP در سلول توسط توازن بین فعالیت آنزیم ادنیلیل سیکلاز و فسفودی استراز تعیین می‌گردد؛ در نتیجه مهارگرهای فسفودی استراز از جمله ترکیبات متیل زانتین (Methylxanthine) مانند کافیین (Caffeine) و تئین (Theine) که در

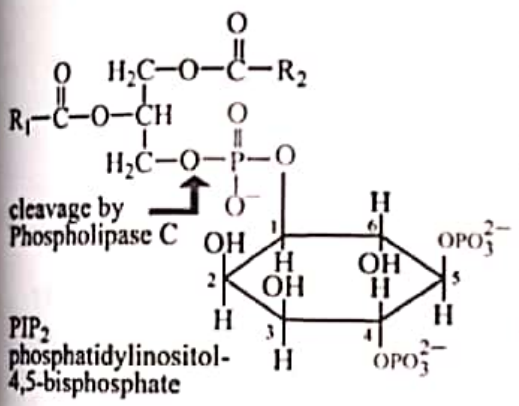
چای، قهوه و کاکائو وجود دارند، سطح cAMP را در سلول افزایش می‌دهند.



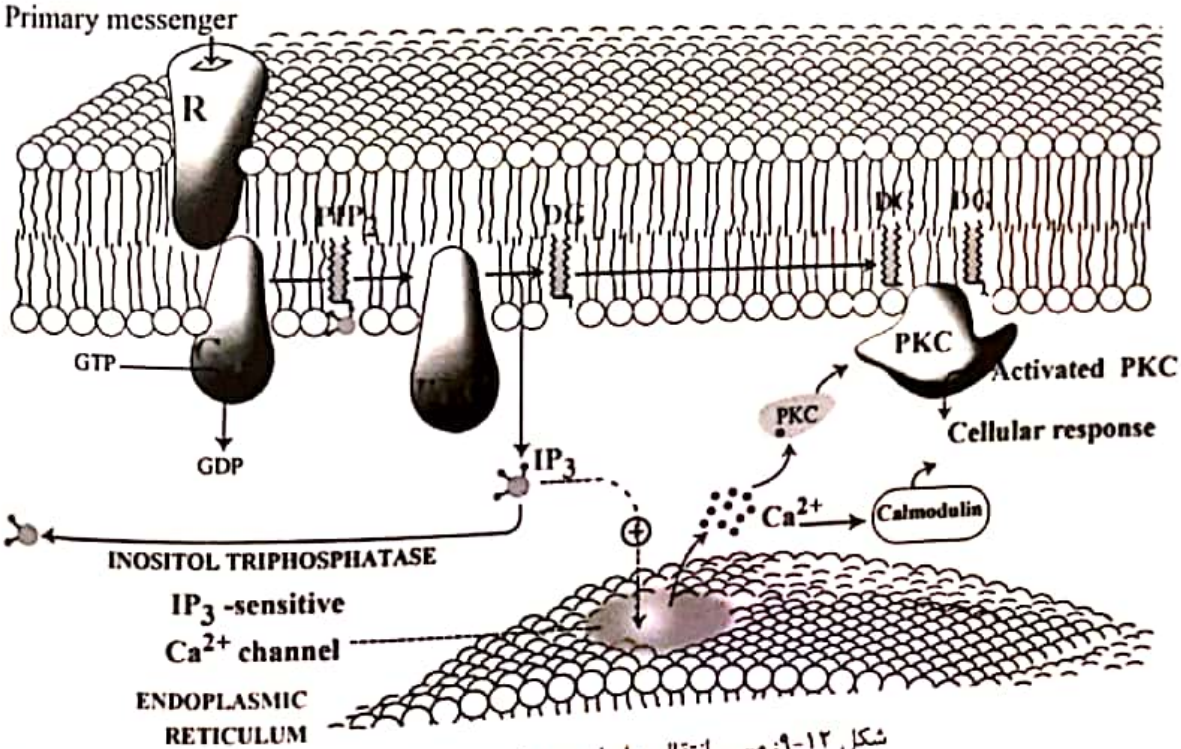
محل اثر آنزیم فسفولیپاز C

۲ـ۲ـ۹ سیستم اینوزیتول ۵،۴،۱ تریس فسفات (IP3)

گیرنده اکسی توسین به پروتئین Gq مرتبط می‌باشد. با اتصال اکسی توسین به گیرنده‌های خود، Gq فعال شده و Gαq-GTP آنزیم غشایی فسفولیپاز C (Phospholipase C) را فعال می‌نماید. سوبسترای این آنزیم نوعی فسفولیپید غشایی به نام فسفاتیدیل اینوزیتول ۴،۵-بیس فسفات (Phosphatidylinositol 4,5- bisphosphate) می‌باشد. پیوند بین مولکول فسفات و کربن شماره ۳ گلیسرول در این مولکول توسط فسفولیپاز C هیدرولیز شده و دی گلیسیرید و اینوزیتول ۵،۴،۱ تریس فسفات (Inositol 1,4,5 trisphosphate) و یا اختصاراً IP3 حاصل می‌گردد.



دی گلیسیرید به‌عنوان پیامبر ثانویه در فاز لیپیدی غشاء عمل می‌نماید اما IP3 در سیتوزول حل شده و به گیرنده‌های خود واقع در غشاء شبکه اندوپلاسمیک متصل می‌گردد. این گیرنده‌ها که درواقع کانال‌های یون کلسیم هستند توسط IP3 فعال و باز شده و درنتیجه یون‌های کلسیم در جهت شیب غلظت از درون شبکه اندوپلاسمیک به سیتوزول سرازیر شده و $[Ca^{2+}]$ در سیتوزول افزایش میابد. یک پیامد افزایش $[Ca^{2+}]$ در سیتوزول انتقال فرم غیرفعال آنزیم پروتئین کیناز C به غشاء سلولی و فعال شدن آن به کمک دی گلیسیرید می‌باشد. فسفریله شدن سوبستراهای پروتئینی این آنزیم در اسیدهای آمینه سرین و ترئونین بخشی از پاسخ سلول به اکسی توسین را در پی خواهد داشت. پیامد دیگر افزایش $[Ca^{2+}]$ در سیتوزول فعال شدن پروتئین کالما دولین (Calmodulin) می‌باشد. هنگامی‌که Ca^{2+} به جایگاه‌های اتصال

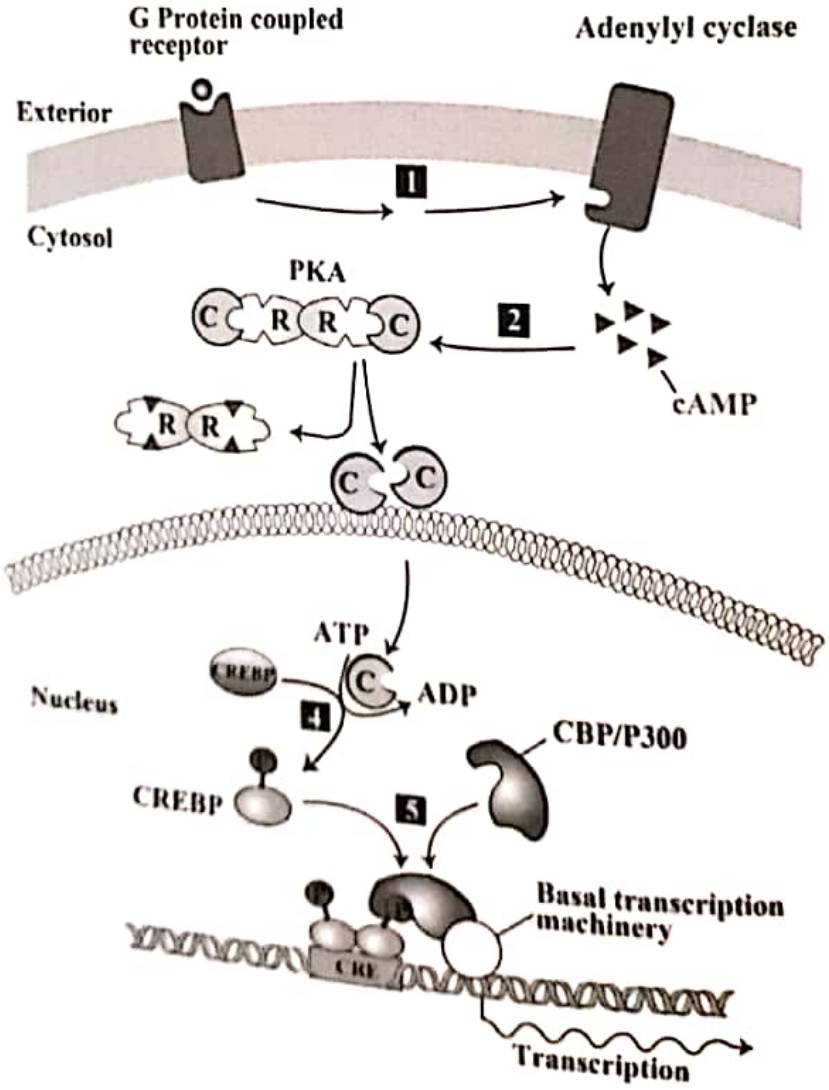


شکل ۱۲-۹: مسیر انتقال پیام اینوزیتول تری‌فسفات و دی گلیسرید

Scanned with CamScanner

حاشیه ۴ـ۹: دخالت گیرنده‌های وابسته به پروتئین‌های G در تنظیم بیان ژن‌ها

امروزه مشخص شده است که دخالت گیرنده‌ها در تنظیم بیان ژن‌ها و رشد سلولی منحصر به گیرنده‌هایی مانند گیرنده‌های هسته‌ای، گیرنده‌های تیروزین کیناز و گیرنده‌های سیتوکین نمی‌گردد بلکه گیرنده‌های وابسته به پروتئین‌های G نیز در این روند زیستی نقش مهمی دارند. به‌عنوان نمونه تأثیر دو هورمون TSH و ACTH در رشد دو بافت به ترتیب تیروئید و قشر آدرنال از دیرباز شناخته شده بود درحالی‌که گیرنده‌های این دو هورمون به پروتئین Gs و cAMP مرتبط می‌باشند. نتایج حاصل از تحقیقات گسترده‌ای که در این زمینه انجام شد نشان داد که پس از اتصال این دو هورمون به گیرنده‌ها و در پاسخ به افزایش سطح cAMP در سیتوزول، فرم فسفریله یک پروتئین خاص در هسته به یک توالی نوکلئوتیدی در پروموتر بعضی ژن‌ها متصل شده و نسخه‌برداری از آن ژن‌ها را افزایش می‌دهد. این توالی نوکلئوتیدی CRE (cAMP Response Element) و پروتئینی که به آن متصل می‌گردد CREB (cAMP Respons Element Binding protein) نامیده شد. بعداً معلوم شد که CREB سوبسترای آنزیم پروتئین کیناز آ (PKA) می‌باشد. بدین ترتیب با افزایش غلظت cAMP در سیتوزول زیر واحد کاتالیتیک فعال پروتئین کیناز آ (PKA) به هسته راه یافته و با فسفریله کردن CREB و تبدیل آن به CREB-P موجبات افزایش نسخه‌برداری از ژن‌های مرتبط به پروموتور را فراهم می‌آورد. افزایش بیان این ژن‌ها در جهت افزایش اندازه و تعداد سلول‌ها و رشد بافت می‌باشد. لازم به تذکر است که این‌گونه آثار هورمون‌ها که بر میزان بیان ژن‌ها اعمال می‌گردد در فاصله زمان‌های نسبتاً طولانی و به آهستگی پدیدار می‌گردند (۵، ۱۳، ۳۸).



شکل شماره ۹-۱۳

خود در کالما دولین متصل می‌گردد. مجموعه حاصل قادر به کنترل فعالیت تعداد زیادی از پروتئین‌های درون سلول خواهد بود. مجموعه Ca^{2+}/ کالمادولین همچنین به‌عنوان یک زیر واحد ساختمانی برای دسته‌ای از آنزیم‌های پروتئین کیناز وابسته به کالمادولین (Ca^{2+}/calmodulin-dependent protein kinases) عمل می‌نماید. این آنزیم‌ها با الحاق زیر واحد Ca^{2+}/ کالمادولین به آن‌ها فعال شده و سوبستراهای پروتئینی خود را در اسیدهای آمینه سرین و ترئونین فسفریله می‌نمایند تا بخش دیگری از پاسخ سلول به هورمون ایجاد گردد (شکل ۱۲-۹).

جریان غیرفعال‌سازی IP3 شامل هیدرولیز مرحله‌به‌مرحله مولکول‌های فسفات می‌باشد تا در آخرین مرحله اینوزیتول مونوفسفات (IP) به اینوزیتول آزاد و فسفات هیدرولیز گردد. اینوزیتول حاصل مجدداً برای سنتز فسفاتیدیل اینوزیتول بیس فسفات مورداستفاده قرار خواهد گرفت. آنزیم فسفاتازی که واکنش هیدورلیز IP را کاتالیز می‌نماید توسط یون لیتیم Li^+ مهار می‌گردد؛ بنابراین مولکول‌های اینوزیتول آزاد نشده و جریان نو سازی فسفاتیدیل اینوزیتول بیس فسفات ملایم می‌گردد، درنتیجه پاسخ‌دهی سلول به محرک‌های فسفولیپاز C کاهش می یابد زیرا با کاهش میزان فسفاتیدیل اینوزیتول بیس فسفات (سوبسترای این آنزیم) میزان IP3 که از آن تولید می‌گردد نیز کاهش میابد. یون لیتیم از سال‌ها قبل در درمان بیماری افسردگی-شیدایی (Manic-Depression) مورداستفاده قرار گرفته است. به نظر می‌رسد که اثر درمانی Li^+ به ترتیبی که اشاره شد می تواند مربوط به تأثیر آن بر سیستم پیامبر IP3 باشد. لازم به ذکر است که گیرنده‌های بسیاری از واسطه‌های عصبی به پروتئین Gq_{11} و فسفولیپاز C مرتبط هستند.

۳-۲-۹ سیستم cGMP

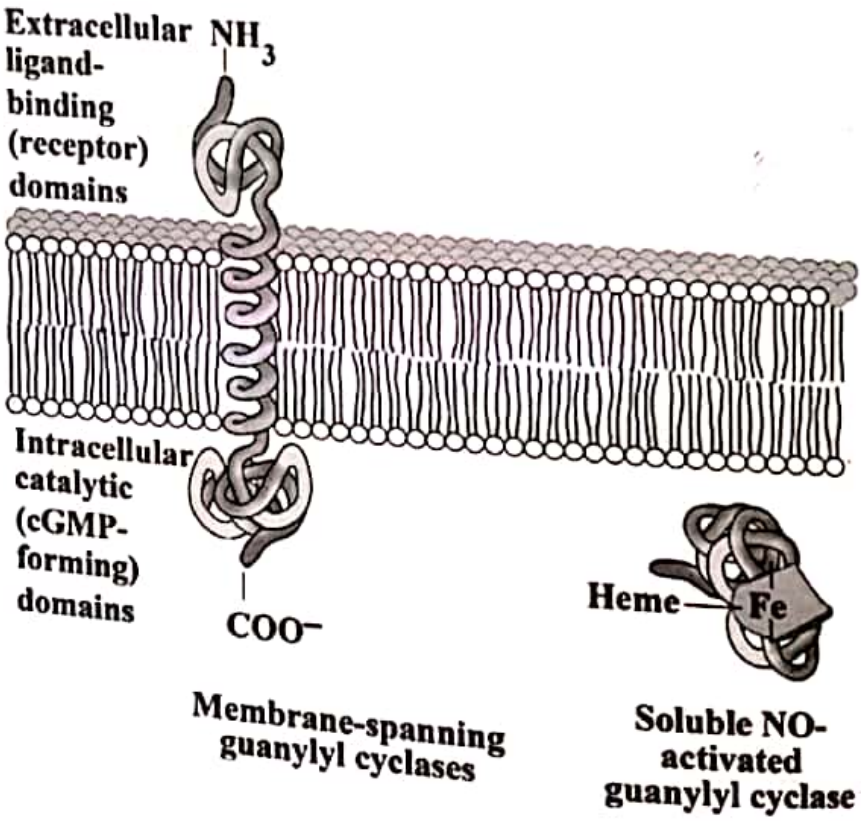
پیامبر ثانویه cGMP محصول آنزیم گوانیلات سیکلاز می‌باشد.

$$GTP \rightarrow cGMP + PPi$$

این آنزیم دارای دو ایزوآنزیم غشایی و سیتوزولی می‌باشد. ایزوآنزیم سیتوزولی گوانیلات سیکلاز یک پروتئین کروی محلول در سیتوزول است (حاشیه ۴-۹)، اما ایزوآنزیم غشایی گوانیلات سیکلاز درواقع گیرنده هورمون ANP(Atrial Natriuretic peptide) است (شکل ۱۴-۹). با افزایش حجم خون و ورود خون بیشتر به دهلیز راست قلب، غشایه‌های سلول‌ها کشیده می‌شوند. در پاسخ، سلول‌های جداره دهلیز هورمون ANP را به جریان خون ترشح می‌نمایند ANP باعث افزایش دفع سدیم و به همراه آن آب از ادرار و درنتیجه کاهش حجم خون می‌گردد. زنجیره پلی پپتیدی گیرنده این هورمون یک‌مرتبه از عرض غشاء عبور می‌نماید، به‌گونه‌ای که انتهای آمین آن در سمت خارج سلولی و انتهای کربوکسیل آن در سمت داخل سلول غشاء قرار می‌گیرد. هنگامی‌که ANP به جایگاه خود در ناحیه خارج سلولی گیرنده‌های موجود در جداره سلول‌های پوششی لوله‌های جمع کننده ادرار متصل می‌گردد،

Scanned with CamScanner

جایگاه فعال گوانیلات سیکلاز در ناحیه داخل سلولی گیرنده فعال و تبدیل GTP به cGMP افزایش میابد. با افزایش غلظت cGMP فعالیت یک آنزیم سرین-ترئونین پروتئین کیناز بنام پروتئین کیناز G (Protein kinase G) نیز افزایش می‌یابد. کانال‌های سدیم موجود در غشاء سلول‌های پوششی جداره لوله‌های جمع کننده ادرار سوبسترای PKG واقع شده و فسفریله می‌شوند. با کاهش فعالیت کانال‌های سدیم باز جذب سدیم از ادرار کاهش یافته و دفع سدیم و به همراه آن آب از ادرار افزایش یافته درنتیجه حجم و فشار خون کاهش می‌یابد.

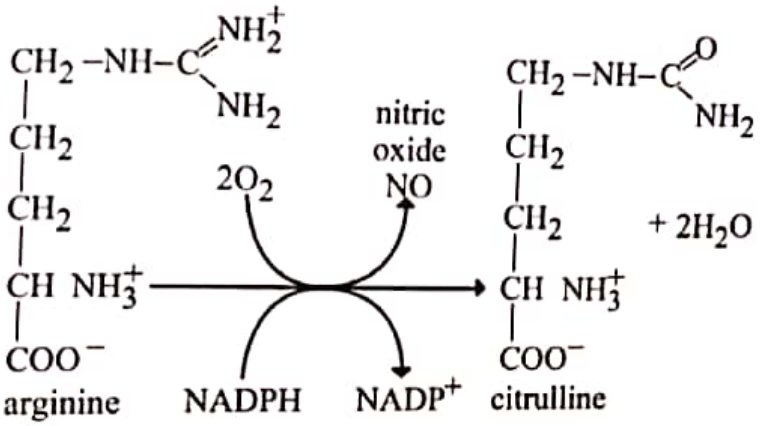


شکل ۱۴-۹ ایزوآنزیم های گوانیلات سیکلاز

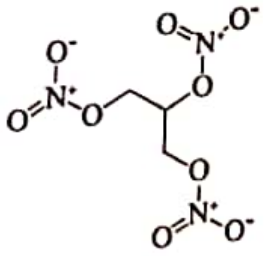
Scanned with CamScanner

حاشیه ۵-۹: ایزوآنزیم سیتوزولی گوانیلات سیکلاز

یک پروتئین کروی محلول در سیتوزول بوده که دارای یک عامل Heme در ساختمان خود می‌باشد. این ایزوآنزیم در بسیاری از سلول‌های بدن ازجمله نورون‌ها و سلول‌های اندوتلیال جداره عروق وجود دارد. با اتصال یک مولکول نیتریک اکسید (NO) به اتم آهن عامل هم، آنزیم فعال شده و در نتیجه cGMP تولید شده و به دنبال آن فعالیت پروتئین کیناز G افزایش می‌یابد. مولکول NO لازم برای فعال نمودن گوانیلات سیکلاز سیتوزولی از دو منبع درونی (Endogenous) و بیرونی تأمین می‌گردد. منبع درونی تولید NO، آنزیم نیتریک اکسید سینتاز (Nitric oxide synthase) می‌باشد. این آنزیم واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید.



مولکول NO حاصل از واکنش فوق غیر قطبی و ریز بوده و به‌آسانی از غشاءهای سلولی عبور نموده و در سلول‌های اطراف نفوذ می‌کند؛ بنابراین افزایش فعالیت نیتریک اکسید سینتاز در یک سلول می‌تواند به فعال شدن PKG در سلول‌های مجاور منجر گردد. مثلاً در هر شرایطی که آنزیم نیتریک اکسید سینتاز در سلول‌های اندوتلیوم عروق فعال گردد در این صورت NO حاصل به درون سلول‌های عضلات صاف جداره آن عروق نفوذ نموده و با راه‌اندازی مسیر گوانیلات سیکلاز موجبات فعال نمودن PKG را فراهم می‌کند. فسفریله شدن سوبستراهای پروتئینی PKG نهایتاً باعث شل شدن عضلات جداره عروق و گشادشدن آن‌ها می‌گردد. منبع بیرونی NO شامل نیتروگلیسرین و سایر داروهای گشادکننده عروق (Nitro vasodilators) می‌شود. این داروها در بدن با سرعت ملایم و ثابتی NO آزاد می‌نمایند. از آثار NO البته اتساع عروق خواهد بود. نیتروگلیسرین و داروهای فوق با مکانیسم‌های متنوعی باعث التیام درد و آثار جانبی حمله قلبی و آنژین صدری می‌گردند.



Nitroglycerin

Scanned with CamScanner

۲-۹ سوالات نمونه

۱. محصول فعالیت کدامیک از آنزیم‌های زیر باعث افزایش سطح cGMP می‌گردد؟

الف - adenylate cyclase

ب- Phosphodiesterase

ج- Phospholipase C

د - Nitric oxide synthase

۲. کدامیک از ردیف‌های زیر بیانگر توالی صحیح (از چپ به راست) شرکت عوامل سمت راست در روند فعال‌سازی Calmodulin می‌باشد؟

الف) a,e,b,c — a) Phospholipase C

ب) a,b,e — b) protein kinase C

ج) a,e,b,c — C) Ca2+

د) d,a,c — d) G α q

ه) b,c,d,e

۳. مسیر اصلی فعال شدن کدامیک از آنزیم‌های زیر در حضور مهار کننده‌های تیروزین کیناز مختل می‌گردد

الف) Protein kinase B

ب) Protein kinase C

ج) Protein kinase A

د) Protein kinase G

۴. گیرنده های GHRH در سلولهای سوماتوتروپ هیپوفیز پیشین به Gαs مرتبط می باشند. در بعضی از سلول های سوما توتروپ سرطانی بعلت یک موتاسیون خاصیت GTPase زیر واحد αs مختل می گردد. بروز کدامیک از رویدادهای زیر در سلول های فوق به درستی پیش بینی می گردد.

الف – کاهش ترشح هورمون رشد

ب – افزایش غلظت cAMP

ج - افزایش میزان Gαs – GDP

د - کاهش فعالیت پروتئین کیناز A

Scanned with CamScanner

۵. کدامیک از اظهارات زیر در مورد پروتئین Gαs-GTP صحیح است:

الف – محرک فعالیت فسفولیپاز C می‌باشد.

ب – به Gß متصل شده آنرا مهار می‌نماید.

ج – دارای خاصیت GTPase می‌باشد.

د – ادنیلات سیکلاز را مهار می‌نماید.

۶. افزایش فعالیت کدامیک از آنزیم‌های زیر منجر به فعال شدن کالمادولین می‌شود؟

الف – Phospholipase A2　　ب – Protein Kinase G

ج – Protein Kinase C　　د – Phospholipase C

۷. کدامیک از عبارات زیر در مورد Zinc Fingers صحیح است؟

الف – در زمرهTranscription factors محسوب می‌گردند.

ب – نواحی Hormone Response Element را تشخیص و به آن‌ها متصل می‌گردند.

ج – بخشی از ساختمان گیرنده‌های فاکتورهای رشد می‌باشند.

د – گیرنده‌های هورمون‌های استروئیدی را به ردیف‌های TATA Box متصل می‌نمایند.

۸. کدامیک از عبارات زیر در مورد هنگامی‌که سلول تحت تأثیر سم سیاه سرفه قرار می‌گیرد درست بیان شده‌اند؟

الف- غلظت cAMP در سلول کاهش می‌یابد

ب- جزء ADP ribose به Gi اضافه می‌گردد.

ج- خاصیت GTPase مربوط به Gi مهار می‌گردد.

د- تمایل Gi به اتصال با GDP کاهش می‌یابد.

۹. به نظر شما مسیر زیر با کدامیک از موارد ذیل به درستی تکمیل می‌گردد؟

Insulin → Insulin receptor substrate I → ? → GLUT4

الف – MAPkinase　　ب – Calmodulin

ج – Protein kinase B　　د – JAK

Scanned with CamScanner

- متن زیر از کتاب بیوشیمی استریر (Stryer Biochemistry-7th Edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه این بخش، انتظار می رود بتوانید به سوالات زیر پاسخ دهید.

Protein kinase inhibitors can be effective anticancer drugs

The widespread occurrence of overactive protein kinases in cancer cells suggests that molecules that inhibit these enzymes might act as antitumor agents. For example, more than 90% of patients with chronic myelogenous leukemia (CML) show a specific chromosomal defect in cancer cells (Figure 14.33). The translocation of genetic material between chromosomes 9 and 22 causes the *c-abl* gene, which encodes a tyrosine kinase, to be inserted into the *bcr* gene on chromosome 22. The result is the production of a fusion protein called Bcr-Abl that consists primarily of sequences for the c-Abl kinase. However, the *bcr-abl* gene is not regulated appropriately; it is expressed at higher levels than that of the gene encoding the normal c-Abl kinase, stimulating a growth-promoting pathway. Because of this overexpression, leukemia cells express a unique target for chemotherapy. A specific inhibitor of the Bcr-Abl kinase, Gleevec (STI-S71, imatinib mesylate), has proved to be a highly effective treatment for patients suffering from CML. This approach to cancer chemotherapy is fundamentally distinct from most approaches, which target all rapidly growing cells, including normal ones. *Thus, our understanding of signal-transduction pathways is leading to conceptually new disease treatments.*

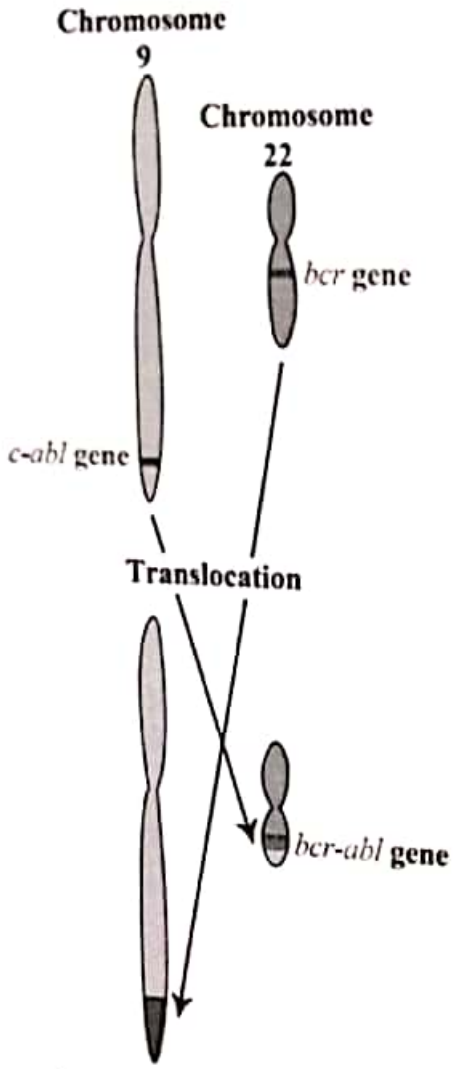


Figure 14.33 Formation of the *bcr-abl* gene by translocation. In chronic myelogenous leukemia, parts of chromosomes 9 and 22 are reciprocally exchanged, causing the *ber* and *ab!* Genes to fuse. The protein kinase encoded by the *ber-ab!* Gene is expressed at higher levels in cells having this translocation than is the *c-ab!* Gene in normal cells.

۱۰. کدامیک از عبارات زیر در مورد ژن c-abl صحیح است.

الف) محصول پروتئینی آن نوعی پروتئین کیناز است

ب) در سلول های سالم در کروموزوم ۹ قرار دارد

ج) در سلول های CML در کروموزم ۲۲ واقع است

د) تمام عبارات فوق

Scanned with CamScanner

۱۱. تمامی عبارات زیر در مورد ژن bcr-abl صحیح هستند **بجز**

الف) محصول پروتئینی آن دارای فعالیت پروتئین کیناز است

ب) در سلول های سالم در کروموزوم ۲۲ قرار دارد

ج) افزایش کنترل نشده بیان آن باعث سرطانی شدن سلول می گردد

د) حاصل بروز پدیده chromosomal translocation است

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	د
۲	د
۳	الف
۴	ب
۵	ج
۶	د
۷	ب
۸	ب
۹	ج
۱۰	د
۱۱	ب

Scanned with CamScanner

۱۰

فصل دهم:

بیوشیمی هورمون‌ها

دکتر علی‌اکبر اوجی

Scanned with CamScanner

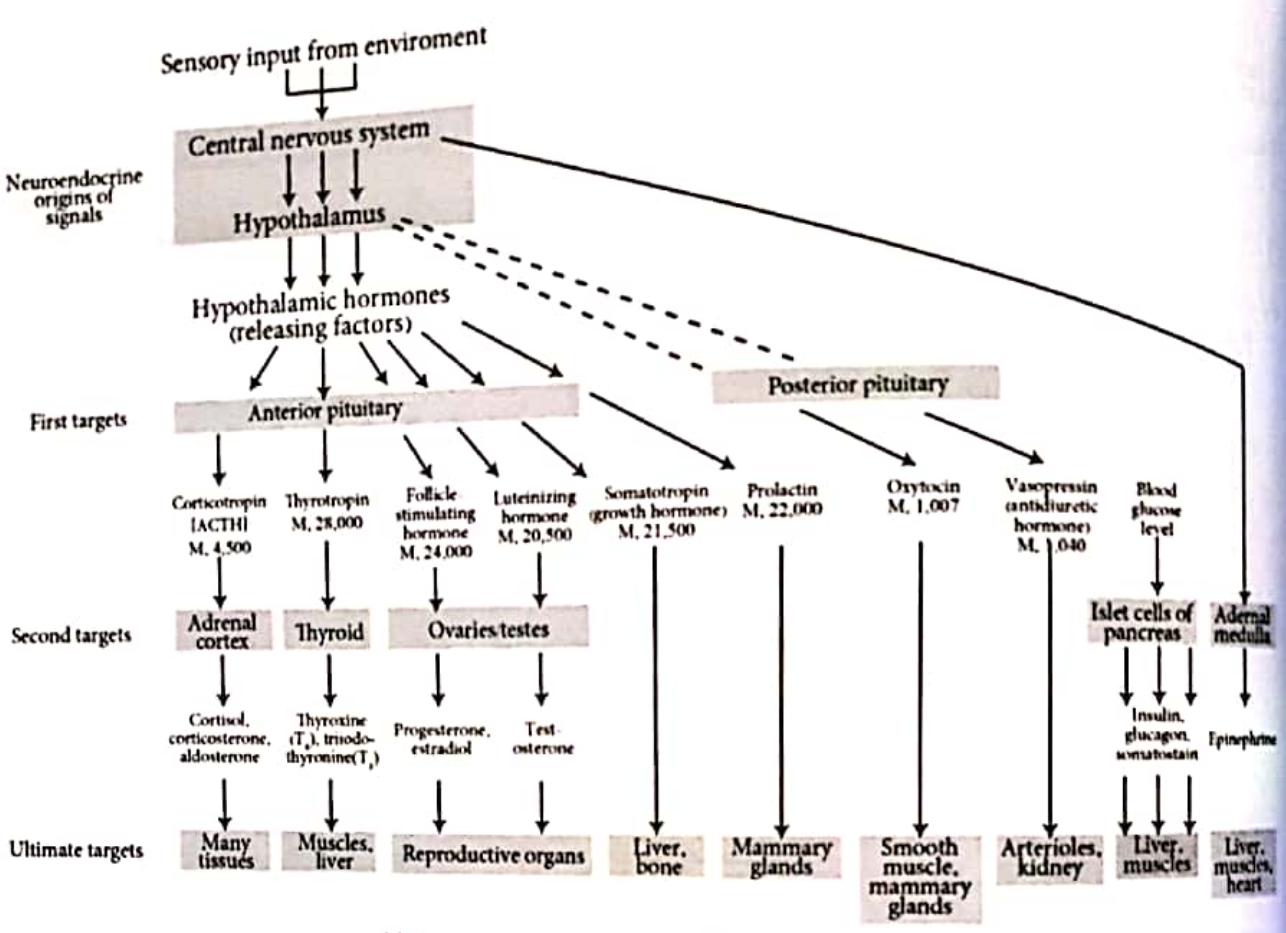
مقدمه:

در بدن انسان حدود ۷۰ تریلیون سلول وجود دارند. ارتباط بین این سلول‌ها از طریق سیستم عصبی و عوامل دیگری از جمله حدود ۵۰ هورمون درون ریز برقرار می‌گردد. هر کدام از این هورمون‌ها با ابلاغ پیام خاص خود به سلول هدف موجب می‌شوند که سلول هدف بتواند با ایجاد پاسخ مقتضی، خود را با شرایط بیرونی تطبیق دهد. این هورمون‌ها را می‌توان بر اساس ساختمان شیمیایی به سه گروه هورمون‌های پپتیدی و گلیکوپروتئینی، هورمون‌های مشتق از رسیدهای آمینه و هورمون‌های استروئیدی تقسیم‌بندی نمود. در این فصل هورمون‌هایی از هر کدام از سه گروه فوق که دارای آثار متابولیک برجسته‌تر می‌باشند در نظر گرفته شده و ساختمان شیمیایی، بیوسنتز، ترشح، آثار متابولیک و غیرفعال‌سازی آن‌ها مورد بررسی قرار گرفته‌اند. تا نشان داده شود که چگونه هورمون‌ها در شرایط پس از صرف غذا، گرسنگی، استرس و ورزشی می‌توانند فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه سرعت واکنش‌های متابولیک را متناسب با مقتضیات شرایط فوق کنترل نمایند. بررسی اساس مولکولی بیماری‌های مرتبط با هورمون‌های دارای آثار متابولیک برجسته از دیگر اهداف این بخش می‌باشد.

۱-۱۰: تشکیلات هورمونی سیستم درون‌ریز (Endocrine) پستانداران

نقش هیپوتالاموس در کنترل این تشکیلات در شکل (۱-۱۰) خلاصه شده است. جنبه‌های مختلف وضعیت حیاتی جانور از قبیل وجود خطر، تغییرات طول روز، گرسنگی، صرف غذا، ترکیب خون و غیره توسط حس‌گرهای طبیعی مانند حواس پنج‌گانه تشخیص و به‌صورت علائم به سیستم اعصاب مرکزی ارسال می‌گردند. این علائم جریانات عصبی خاص خود را در مغز ایجاد می‌نمایند. بخشی از این جریانات به هیپوتالاموس وارد شده و بسته به ماهیت آن‌ها مجموعه‌های نورونی خاصی در هیپوتالاموس تحت تأثیر قرار گرفته و مبادرت به ترشح هورمون‌های متنوعی می‌نمایند. بخشی از این هورمون‌ها از طریق پایانه‌های نرون‌های سازنده خود به هیپوفیز پشتی (Posterior pituitary) وارد می‌گردند. بخش دیگری از هورمون‌های هیپوتالاموس که هورمون‌های ریلیزینگ هیپوتالاموس (Hypothalamic releasing hormones) نام دارند، از پایانه‌های نرون‌های سازنده خود به ناحیه‌ای در قاعده هیپوتالاموس ترشح‌شده و در آنجا به یک سیستم گردش خونی باب (portal) راه یافته و به هیپوفیز جلویی (Anterior pituitary) وارد می‌گردند. هر کدام از این هورمون‌های ریلیزینگ هیپوتالاموس به گیرنده‌های خاص خود در سلول‌های مختلف هیپوفیز جلویی متصل شده و بسته به ماهیت این سلول‌ها ترشح هورمون‌های خاصی از آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به این هورمون‌ها تروپیک (Tropic hormones) گفته می‌شود. هورمون‌های تروپیک به جریان خون وارد شده و به گیرنده‌های خود در بافت‌های مختلف بدن متصل شده و باعث ترشح هورمون‌های ویژه آن بافت‌ها می‌گردند. مثلاً عوامل استرس‌زا (اضطراب، ترس، درد، خونریزی، عفونت، قند پایین خون و گرسنگی) حس‌گرهای خاصی را در

Scanned with CamScanner



شکل ۱-۱۰: تشکیلات هورمونی درون ریز در پستانداران

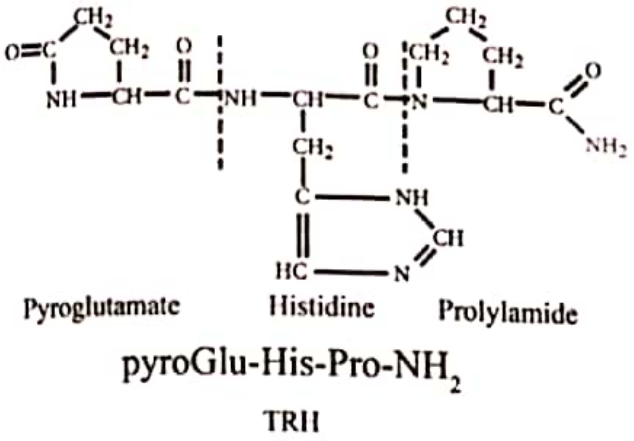
بدن تحریک و علائم ایجاد شده در حس‌گرها به سیستم اعصاب مرکزی منتقل و باعث ترشح (چند نانوگرم) هورمون CRH (Corticotropin-releasing hormone) از تعدادی از نرون‌های هیپوتالاموس می‌گردند. CRH باعث ترشح (چند میکروگرم) هورمون ACTH (Adrenocorticotropic hormone) از بعضی سلول‌های هیپوفیز جلویی می‌گردد. ACTH ترشح (چند میلی‌گرم) هورمون کورتیزول را از سلول‌های قشر آدرنال تحریک می‌نماید. کورتیزول به گیرنده‌های خود در بافت‌های مختلف بدن متصل شده و باعث بروز پاسخ مناسب به شرایط استرس در آن بافت‌ها می‌گردد. از جمله صدور گلوکز از کبد و اسید چرب از بافت چربی را افزایش داده تا سوخت لازم برای مقابله با استرس در دسترس بافت‌ها قرار گیرد.

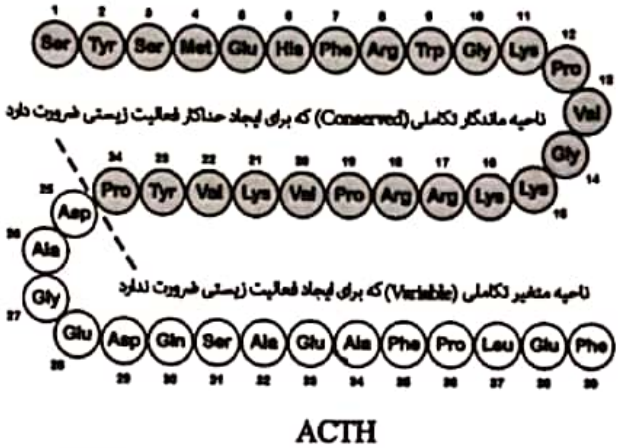
ذیلا، ساختمان شیمیایی، کنترل ترشح، گیرنده ها، آثار متابولیک و غیر فعال سازی مربوط به هورمون‌های درون‌ریز پستانداران در سه گروه هورمون‌های پپتیدی، هورمون‌های مشتق از اسیدهای آمینه و هورمون‌های استروئیدی مرور می گردند.

۱۰-۲ هورمون‌های پپتیدی

۱۰-۲-۱ هورمون‌های هیپوتالاموسی اکسی توسین و ADH که به هیپوفیز پشتی وارد می‌شوند و همچنین هورمون‌های هیپوتالاموسی ریلیزینگ که به هیپوفیز جلویی وارد می‌شوند همگی پلی پپتیدهای نسبتاً کوتاه زنجیره می‌باشند. مثلاً TRH تنها

Scanned with CamScanner





شکل ۲-۱۰: ساختمان شیمیایی TRH و ACTH

از سه اسیدآمینه تشکیل شده است. در شکل ۲-۱۰ ساختمان شیمیایی TRH نمایش داده شده است. در TRH و بسیاری دیگر از هورمون‌های پلی‌پپتیدی، عامل آمین گلوتامیک اسید انتهایی با عامل کربوکسیل همان اسید گلوتامیک پیوند درون مولکولی برقرار می‌نماید. همچنین عامل کربوکسیل انتهای زنجیره نیز ممکن است به عامل آمید تبدیل شود. بدین ترتیب بارهای الکتریکی مربوط به عوامل آمین و کربوکسیل انتهای آمین زنجیره حذف می‌شوند. گیرنده‌های این هورمون‌ها معمولاً از نوع گیرنده‌های 7TM بوده و به پروتئین‌های G نظیر Gs و Gq مرتبط می‌باشند (جدول ۱-۱۰). بجز سوماتواستاتین سایر هورمون‌های ریلیزینگ هیپوتالاموس

جدول ۱-۱۰: هورمون‌های هیپوتالاموس و اعمال زیستی آنها

هورمون	علامت اختصاری	آثار زیستی	مسیر انتقال پیام
Activating releasing hormones:			
Thyroid-releasing hormone	TRH	تنظیم TSH و پرولاکتین	PI
Gonadotropin-releasing hormone	GnRH, LHRH	تنظیم FSH و LH	PI
Corticotropin-releasing hormone	CRH	تنظیم ACTH و اندورفین ها	cAMP
Somatotropin-releasing hormone	SRH, GHRH	تنظیم هورمون رشد	cAMP
Inhibiting releasing hormones:			
Dopamine	-	تنظیم پرولاکتین	cAMP
Somatostatin	SRIH, SS	تنظیم پرولاکتین و TSH	cAMP
Hypothalamic neuropeptides:			
Vasopressin	AVP, ADH	حفظ تعادل آب بدن	cAMP, PI
Oxytocin	Oxt	انقباض رحم	cAMP, PI

Scanned with CamScanner

ترشح هورمون‌های تروپیک را در هیپوفیز جلویی تحریک می‌نمایند. گیرنده‌های سوماتولستاتین به پروتئین Gi مرتبط بوده و ترشح هورمون رشد و پرولاکتین را کاهش می‌دهد.

۲-۲-۱۰ هورمون‌های تروپیک هیپوفیز جلویی (جدول ۲-۱۰) نیز ساختمان پلی پپتیدی دارند.

جدول ۲-۱۰: هورمون‌های هیپوفیز پیشین و اهمیت زیستی آنها

هورمون	علامت اختصاری	بافت هدف	آثار زیستی	مسیر انتقال پیام
Thyrotropin	TSH	غده تیروئید	رشد غده تیروئید، افزایش T_4, T_3	cAMP
Follitropin	FSH	غدد جنسی	افزایش اسپرماتوژنز، رشد فولیکول	cAMP
Lutropin	LH	غدد جنسی	افزایش پروژسترون، استروژن و تستوسترون	cAMP
Human chorionic gonadotropin	hCG	جفت	نگاه داری جفت	cAMP
Somatotropin	hGH	کبد، کلیه، اندوتلیوم و سایر بافت ها	افزایش سوماتومدینC	JAK-STAT
Prolactin	PRL	پستان	افزایش تولید شیر	JAK-STAT
Adrenocorticotropic hormone, adrenocorticotropIn	ACTH	قشر آدرنال	افزایش کورتیزول، رشد قشر آدرنال	cAMP

هورمون‌های تروپیک را می توان بر اساس ویژگی‌های ساختمانی در سه خانواده جای داد.

۱. گلیکوپروتئین‌ها

شامل TSH، LH و FSH می‌گردند. این سه هورمون دارای زنجیره الیگوساکاریدی در ساختار خود می‌باشند و هر هورمون دارای یک زیر واحد آلفا و یک زیر واحد بتا می‌باشد. زیر واحد آلفا در هر سه هورمون مشترک بوده و بنابراین زیر واحد بتا نقش تعیین‌کننده در تشخیص گیرنده و ایجاد آثار زیستی خاص هر هورمون را دارد.

۲. خانواده سوماتومامو تروپین (Somatomammotropin)

هورمون رشد(Somatotropin)، پرولاکتین(Prolactin) و لاکتوژن جفتی (Placental lactogen) از نظر ساختمانی به هم شباهت زیادی داشته و به نظر می‌رسد که قرابت تکاملی داشته و میلیون‌ها سال پیش دارای

Scanned with CamScanner

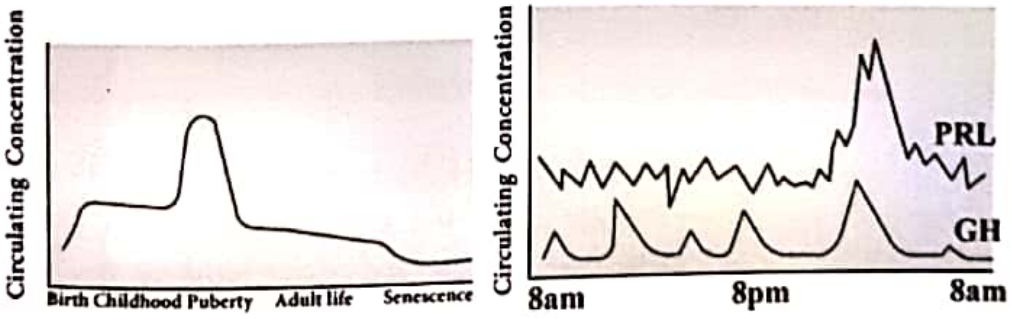
حاشیه ۱-۱۰ ترشح هورمون رشد توسط هورمون GHRH (Growth hormone releasing hormone)

تحریک و به‌وسیله هورمون سوماتواستاتین مهار می‌گردد. هر دو هورمون از هیپوتالاموس ترشح‌شده و نقش اصلی را در تنظیم ترشح هورمون رشد ایفا می‌نمایند؛ بنابراین توازن بین این دو هورمون تعیین‌کننده میزان ترشح GH به جریان خون خواهد بود. عوامل جانبی متنوعی نیز با تأثیر بر توازن بین دو هورمون فوق ترشح هورمون رشد را افزایش یا کاهش می‌دهند. این عوامل در جدول زیر خلاصه شده‌اند.

جدول: برخی عوامل مؤثر بر ترشح هورمون رشد

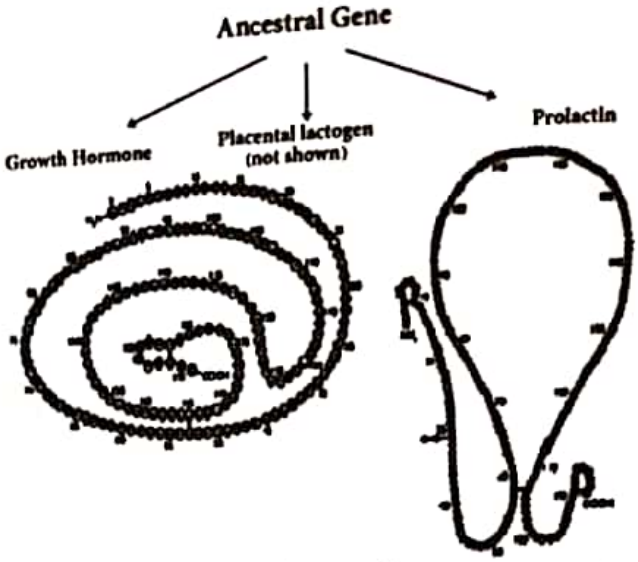
عوامل مهارگر	عوامل محرک
سوماتواستاتین	GHRH
سطح پلاسمایی GH و IGF-1 (مهار فیدبک)	خواب
هیپر گلیسمی	ورزش
گلوکوکورتیکوییدها	هیپوگلیسمی
پیری	افزایش سطح پلاسمایی اسیدهای آمینه
	استرس
	دوران بلوغ

طرح ترشح شبانه‌روزی هورمون رشد در شکل نمایش داده شده است. در افراد بالغ به‌طور متوسط پنج نبض ترشح GH در شبانه‌روز وجود دارد. قوی‌ترین و مشخص‌ترین این نبض‌ها حدود یک ساعت پس از شروع خواب رخ می‌دهد. سطح پایه هورمون رشد، تعداد و دامنه نبض‌های ترشح GH در کودکی و در دوران بلوغ بیشتر و با افزایش سن کاهش میابد.



Scanned with CamScanner

یک ژن مشترک مربوط به یک پپتید قدیمی بوده‌اند (شکل ۳-۱۰).



شکل ۳-۱۰: هورمون رشد و پرولاکتین در ساختار پروتئینی و توالی اسید آمینه شباهت هایی دارند

هورمون رشد

این هورمون در زمره هورمون های شرایط استرس می باشد. برخی دیگراز عوامل موثر بر ترشح هورمون رشد در حاشیه ۱-۱۰ خلاصه شده اند.

گیرنده‌های هورمون رشد به خانواده گیرنده‌های سیتوکین تعلق دارند .

آثار مستقیم هورمون رشد با اتصال آن به گیرنده‌های خود در سطح بسیاری از سلول‌های بدن پدیدار می‌گردد. از آثار مستقیم هورمون رشد بر سلول‌های کبدی و برخی دیگر از سلول‌های بدن ترشح هورمون IGF-1 (Insulin like growth factor -1) می‌باشد. IGF-1 دارای گیرنده‌های خاص خود در بسیاری از سلول‌های بدن بوده و درواقع بخشی از آثار هورمون رشد مربوط به پاسخ بافت‌های بدن به IGF-۱ می‌باشد. به این آثار هورمون رشد **آثار غیرمستقیم** گفته می‌شود (شکل ۴-۱۰).

آثار مستقیم هورمون رشد بر متابولیسم مواد سه‌گانه را به ترتیب زیر می‌توان خلاصه نمود:

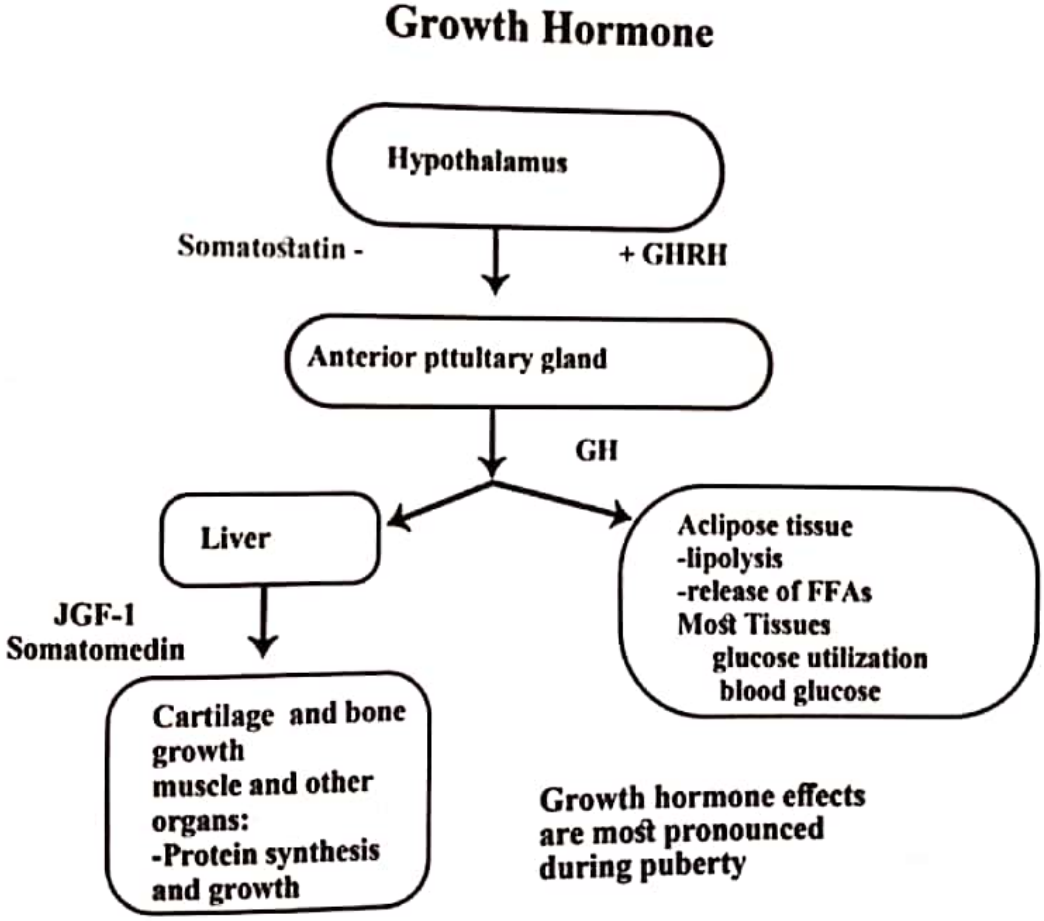
متابولیسم کربوهیدرات: کاهش تعداد گیرنده‌های انسولین در سلول‌های عضلات و چربی و بروز مقاومت به انسولین، هیپر گلیسمی و هیپر اینسولینیسم

متابولیسم چربی

افزایش لیپولیز، افزایش میزان اسیدهای چرب آزاد در خون و در نتیجه افزایش کتوژنز از آثار هورمون رشد پر متابولیسم چربی می‌باشند. شواهدی مبنی بر تاثیر هورمون رشد بر طرح توزیع بافت چربی بدن از جمله کاهش چربی شکمی نیز وجود دارد.

Scanned with CamScanner

. **آثار غیرمستقیم هورمون رشد** مربوط به پاسخ بافت‌ها به IGF-1 می‌باشند. **گیرنده‌های IGF-1** از خانواده تیروزین کیناز هستند. آثار بارز IGF-1 عبارتند از: افزایش بیوسنتز پروتئین، افزایش ورود اسیدهای آمینه به سلول‌ها، افزایش جرم عضلات، غضروف و استخوان، افزایش بیوسنتز DNA و RNA و افزایش تکثیر سلول‌ها. در نظر داشته باشیم که اثر آنابولیک هورمون رشد بر متابولیسم پروتئین نقش مهمی در جلوگیری از مصرف ذخایر پروتئین بدن به عنوان سوخت در شرایطی مانند استرس، گرسنگی و ورزش دارد. زیرا در چنین شرایطی، علاوه بر هورمون رشد، هورمون‌های دیگری مانند کورتیزول، گلوکاگون و اپینفرین نیز ترشح می‌شوند که اثر زیستی آن‌ها در جهت افزایش کاتابولیسم اسیدهای آمینه می‌باشد.



شکل ۴-۱۰: آثار مستقیم و غیرمستقیم هورمون رشد

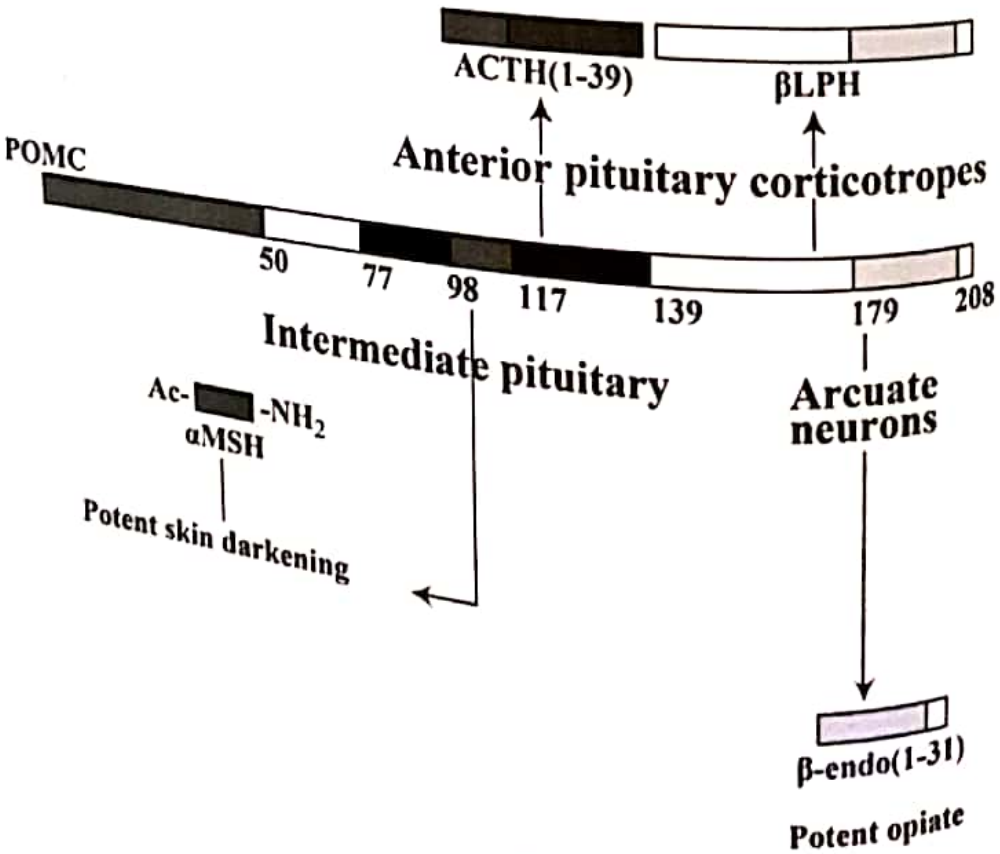
۳- هورمون‌های خانواده POMC

شامل دو هورمون ACTH و α-MSH و چند هورمون و پپتید عصبی دیگر می‌شوند. ردیف‌های اسیدآمینه مربوط به هر کدام از اعضای این خانواده بخشی از ساختمان یک زنجیره پلی پپتیدی پیش ساز بنام POMC (Pro-opiomelanocortin) را تشکیل می‌دهند. مولکول POMC در سلول‌های

Scanned with CamScanner

مختلف مانند سلول‌های هیپوفیز و هیپوتالاموس بیان شده و در هر بافت تحت تأثیر عوامل تنظیمی متفاوت به روش‌های مختلف بریده شده و پپتیدهای گوناگونی از آن حاصل می‌گردد (شکل ۵-۱۰). در مولکول POMC حدود هشت جایگاه برش وجود دارد. در هر جایگاه برش یک اسیدآمینه بازی لیزین یا آرژنین وجود دارد. وجود این اسیدهای آمینه برای تشخیص محل برش توسط آنزیم‌های اندوپپتیداز نظیر پروهورمون کانورتاز ها (Prohormone convertases) ضروری می‌باشد.

هورمون های **آدرنوکورتیکوتروپیک (Adrenocorticotropic, ACTH)** و **بتا لیپوتروپین(β-lipotropin, β-LPH)** از محصولات پردازش POMC در هیپوفیز جلویی و **α-MSH** حاصل برش ACTH در هیپوفیز میانی (در جوندگان) می‌باشد. به همین دلیل در مواردی که ترشح ACTH افزایش می یابد (مثلاً در بیماری Addison) رنگ پوست تیره می‌گردد. گیرنده‌های α-MSH در ملانوسیت‌های پوست وجود داشته و به پروتئین Gs مرتبط می‌باشند. پاسخ این سلول‌ها به α-MSH افزایش فعالیت آنزیم تیروزیناز و سنتز ملانین می‌باشد. مردمانی که دارای رنگ پوست و موی روشن و قرمز می‌باشند، دارای نوع جهش‌یافته گیرنده‌های α-MSH در سلول‌های ملانوسیت هستند. پاسخ چنین سلول‌هایی به α-MSH ضعیف می‌باشد. **اندورفین (Endorphin)** که یک پپتیدافیونی(Opioid peptides) است از پردازش POMC در هیپوتالاموس حاصل می‌شود. مورفین و هروئین لیگاند گیرنده‌های پپتیدهای افیونی بوده و آثار زیستی این پپتیدها را تقلید می‌نمایند.



شکل ۵-۱۰: پردازش POMC در بافت‌های مختلف

Scanned with CamScanner

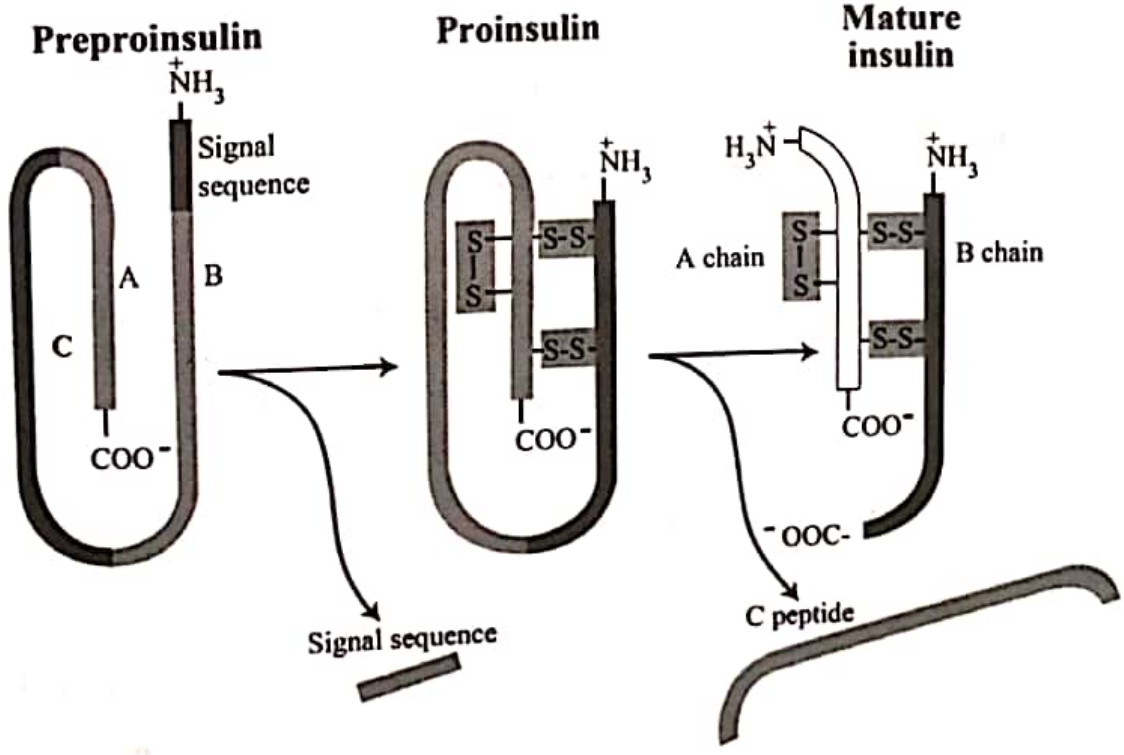
۳-۲-۱۰ هورمون های پانکراس

۱- انسولین

در سلول‌های بتا پانکراس ابتدا به‌صورت مولکول پیش ساز (Preproinsulin) بر روی ریبوزوم سنتز شده (شکل ۶-۱۰) و پس از ورود به شبکه آندوپلاسمی یک قطعه پلی پپتید (Signal peptide) از انتهای آمین آن جدا شده و پروانسولین (Proinsulin) حاصل می‌شود. پروانسولین به دستگاه گلژی منتقل شده و پس از آن که یک قطعه پلی پپتیدی بنام C (C peptide) از آن جدا شد، انسولین بالغ حاصل می‌گردد.

تنظیم ترشح انسولین از سلول‌های بتا توسط عوامل محرک و عوامل مهارگر انجام می‌گردد. مقدار گلوکز خون وارد شده به پانکراس به‌عنوان عمده‌ترین عامل تحریک ترشح انسولین شناخته شده است. برخی هورمون‌هایی که پس از صرف غذا از دستگاه گوارش ترشح می‌شوند نیز ترشح تحریک‌شده انسولین توسط گلوکز را تقویت می‌نمایند. به همین دلیل تأثیر گلوکز خوراکی در تحریک ترشح انسولین بیش از گلوکز تزریقی است. اسیدهای آمینه (حاصل از هضم پروتئین‌ها) نیز از عوامل محرک ترشح انسولین می‌باشند. سیستم عصبی خودکار نیز (مثلاً هنگام صرف غذا) ترشح انسولین را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سوماتواستاتین ترشح‌شده از سلول‌های دلتا پانکراس عمده‌ترین عامل مهارگر ترشح انسولین می‌باشد.

انسولین از سلول‌های بتا در نبض‌های متوالی ترشح می‌گردد. هر نبض حدود ۶-۳ دقیقه به طول می‌انجامد. با این شیوه گیرنده‌های انسولین به‌صورت ممتد در



شکل ۶-۱۰: بیوسنتز انسولین

Scanned with CamScanner

معرض غلظت‌های زیاد لیگاند قرار نخواهند گرفت. به نظر می‌رسد که این پدیده در جهت ممانعت از ورود گیرنده‌های انسولین در بافت‌ها به جریان غیر حساس شدن(Desensitization) می‌باشد.

گیرنده‌های انسولین در زمره گیرنده‌های دارای خاصیت تیروزین کیناز می‌باشند (شکل ۳-۱۰).

آثار بیوشیمیایی انسولین:

انسولین پس از صرف غذا به جریان خون ترشح شده و باعث کاهش غلظت گلوکز، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه در خون می‌گردد. انسولین باعث ورود گلوکز، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه از جریان خون به سلول‌ها و تبدیل آن‌ها به گلیکوژن، تری‌گلیسیرید و پروتئین می‌گردد؛ بنابراین انسولین یک هورمون آنابولیک محسوب شده که سنتز ذخایر سوخت بدن را افزایش داده و موجبات ورود سلول‌ها به فاز میتوز را فراهم می‌آورد. تحت تأثیر انسولین روند متابولیسم از مصرف چربی در هنگام گرسنگی به مصرف قند در هنگام سیری بازگشت می‌نماید. آثار انسولین بر متابولیسم مواد سه‌گانه را به ترتیب زیر می‌توان خلاصه نمود:

متابولیسم کربوهیدرات:

افزایش ورود گلوکز به سلول‌های عضلات و چربی یکی از پیامدهای اتصال انسولین به گیرنده‌های آن و فعال شدن آنزیم پروتئین کیناز B می‌باشد. در نتیجه فعالیت این آنزیم موکول‌های پروتئینی ناقل گلوکز GLUT4 (Glucose transporter-4) به سطح سلول‌های عضلات و چربی راه می یابند. GLUT4 انتقال تسهیل شده گلوکز در جهت شیب غلظت از جریان خون به سلول‌ها را به عهده دارد. اما برقراری شیب غلظت گلوکز مستلزم کاهش غلظت آن در سلول‌های فوق می‌باشد. بدین منظور آنزیم PKB موجبات افزایش مصرف گلوکز و نیز کاهش تولید آن در سلول‌های فوق را نیز فراهم می‌آورد.

افزایش مصرف گلوکز در سلول‌ها با افزایش فعالیت آنزیم‌های مسیر گلیکولیز، پیروات دهیدروژناز و گلیکوژن سنتاز توسط انسولین صورت می‌گیرد.

کاهش تولید گلوکز در سلول‌ها با کاهش فعالیت آنزیم‌های مسیر گلوکونئوژنز مانند فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز و پیروات کربوکسیلاز و کاهش فعالیت آنزیم گلیکوژن فسفریلاز انجام می‌گیرد. لازم به تذکر است که GLUT4 در سلول‌های کبد وجود ندارد و پروتئین ناقل گلوکز GLUT موجود در سلول‌های کبد نیز نسبت به انسولین حساس نمی‌باشد. ولی درنتیجه افزایش فعالیت آنزیم گلوکو کیناز و سایر آنزیم‌های مسیر گلیکولیز توسط انسولین، گلوکز وارد شده به کبد مصرف شده و غلظت آن در کبد پایین نگه داشته می‌شود تا ورود گلوکز به سلول‌های کبد هر چه راحت‌تر انجام پذیرد.

Scanned with CamScanner

متابولیسم چربی

انسولین فعالیت برخی آنزیم‌های مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب مانند سیترات لیاز، استیل کوآ کربوکسیلاز و کمپلکس سینتاز اسید چرب را افزایش می‌دهد تا استیل کوآ حاصل از مسیر فعال شده گلیکولیز در سلول‌های کبد و چربی، به اسید چرب تبدیل گردد. تحت تأثیر انسولین بیوسنتز تری‌گلیسیریدها در سلول‌های چربی و کبد و صدور VLDL از کبد به جریان خون افزایش می‌یابد. هم‌زمان انسولین فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز را افزایش می‌دهد تا اسیدهای چرب آزاد شده از عمل این آنزیم به سلول‌های کبد و چربی وارد شده و به‌صورت تری‌گلیسیرید ذخیره گردند. از طرفی، جریان لیپولیز توسط انسولین کاهش میابد؛ زیرا انسولین باعث افزایش فعالیت یک آنزیم فسفودی استراز و تجزیه cAMP می‌گردد. لازم به ذکر است که لیپاز حساس به هورمون سوبسترای PKA بوده و در حالت فسفریله فعال می‌باشد؛ بنابراین کاهش غلظت cAMP و کاهش فعالیت PKA باعث کاهش فعالیت لیپاز حساس به هورمون می‌گردد.

متابولیسم پروتئین و اسیدهای نوکلئیک:

تحت تأثیر انسولین ورود اسیدهای آمینه به سلول‌ها افزایش میابد تا مصالح اولیه بیوسنتز پروتئین‌ها فراهم گردد. افزایش بیوسنتز و ترجمه mRNA و افزایش همانندسازی DNA از آثار فعال شدن آنزیم MAP کیناز در مسیر انتقال پیام گیرنده انسولین می‌باشد.

غیرفعال‌سازی انسولین:

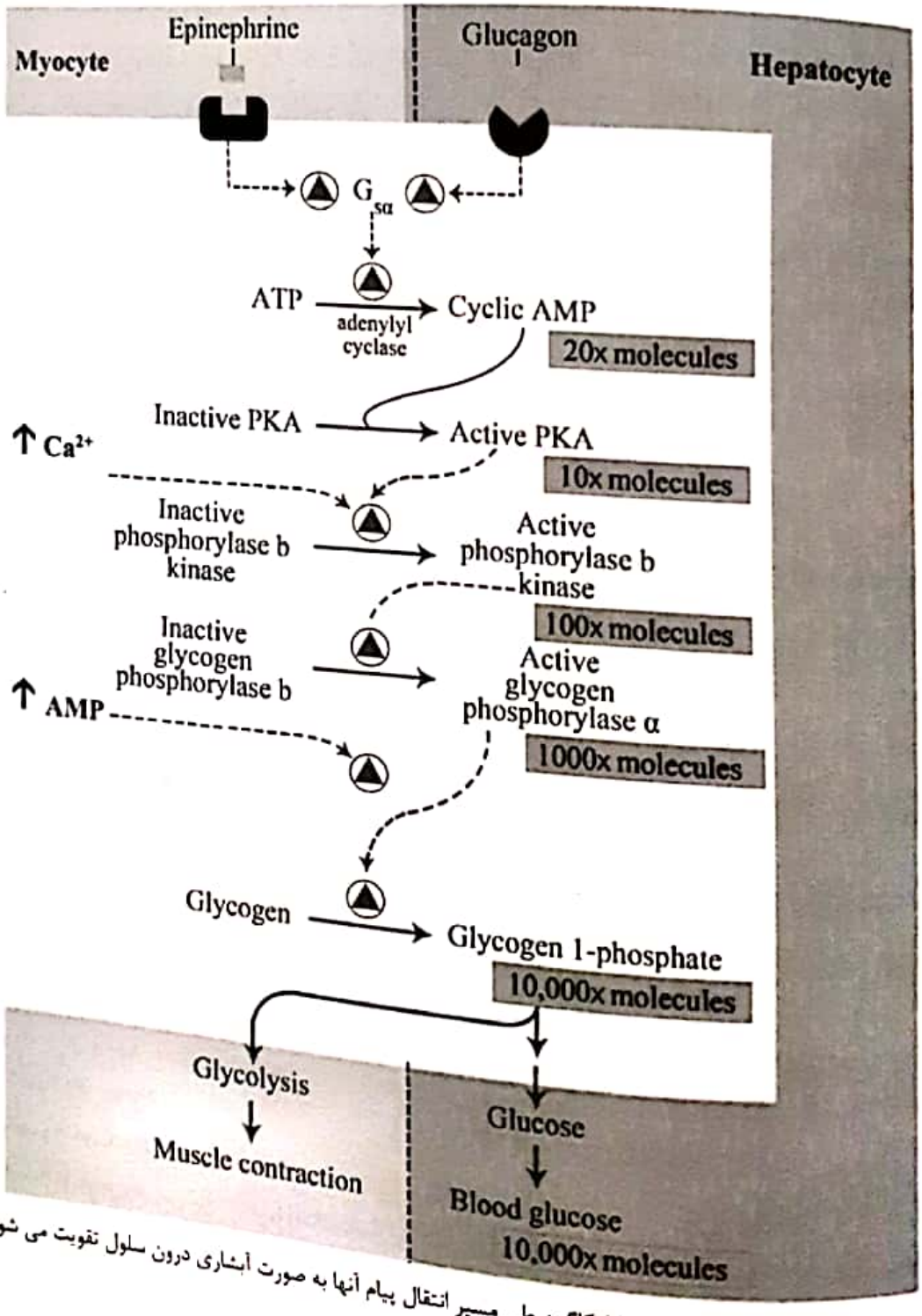
روند غیرفعال سازی انسولین و سایر هورمون‌ها از این نظر اهمیت دارد که لازم است غلظت آن‌ها در خون در حداقل نگه داشته شود تا گیرنده‌ها غیر حساس (Desensitize) نشده و بافت‌ها پیوسته آماده تأثیرپذیری از افزایش غلظت هورمون در خون باشند. نیمه عمر انسولین در پلاسما حدود ۶-۴ دقیقه بوده و تخمین زده می‌شود که هر مولکول انسولین به‌طور میانگین ۷۱ دقیقه پس از ترشح در بدن، غیرفعال گردد. کبد و کلیه دو جایگاه عمده تجزیه و غیرفعال‌سازی انسولین هستند. هرچند غیرفعال‌سازی انسولین در تمامی بافت‌هایی که دارای گیرنده انسولین می‌باشند نیز انجام می‌پذیرد. بدین ترتیب که پس از اتصال انسولین به گیرنده‌های آن، مجموعه‌های انسولین ـ گیرنده وارد جریان درون روی (Internalization) شده، در اندوزوم‌ها پدیدار گردیده و نهایتاً تحت تأثیر آنزیم‌های پروتئاز درون‌سلولی قرار گرفته و تجزیه می‌گردند. این شیوه غیرفعال‌سازی در مورد سایر هورمون‌های پلی پپتیدی نیز انجام می‌گیرد.

۲- گلوکاگون(Glucagon):

از یک زنجیره پلی پپتیدی با ۲۹ اسیدآمینه تشکیل می‌گردد.

Scanned with CamScanner

ترشح گلوکاگون از سلول‌های آلفا پانکراس در هنگام گرسنگی (حدود ۴ ساعت پس از صرف غذا) افزایش می یابد. سطح پایین گلوکز و اسیدهای چرب و افزایش سطح اسیدهای آمینه خون محرک ترشح گلوکاگون می‌باشند. ترشح گلوکاگون در شرایط استرس تحت تأثیر هورمون‌هایی نظیر اپینفرین، کورتیزول و سوماتوتروپین نیز افزایش میابد. سوماتواستاتین پانکراس و انسولین ترشح گلوکاگون را کاهش می‌دهند. گیرنده‌های گلوکاگون وابسته به پروتئین Gs بوده و عمدتاً در سطح سلول‌های کبد و چربی وجود دارند (شکل ۷-۱۰



شکل ۷-۱۰: پیام های اپینفرین و گلوکاگون طی مسیر انتقال پیام آنها به صورت آبشاری درون سلول تقویت می شوند.

Scanned with CamScanner

آثار بیوشیمیایی گلوکاگون عمدتاً برخلاف آثار انسولین بوده و در بافت‌های کبد و چربی متمرکز می‌باشد. گلوکاگون یک **هورمون کاتابولیک** بوده و مصرف ذخایر سوخت بدن را افزایش می‌دهد. تحت تأثیر گلوکاگون تری‌گلیسریدها، گلیکوژن و پروتئین‌ها در بافت‌ها تجزیه شده و درنتیجه غلظت گلوکز، اسیدهای چرب و اسیدهای آمینه در جریان خون افزایش میابد. آثار گلوکاگون در جهت حفظ سطح گلوکز خون در هنگام گرسنگی می‌باشد. بنابراین اصطلاحاً گفته می‌شود که گلوکاگون نسبت به انسولین یک هورمون پاد تنظیمی (Counter regulatory hormone) است.

متابولیسم کربوهیدرات:

آثار گلوکاگون بر متابولیسم کربوهیدرات در جهت حفظ سطح قند خون در شرایط گرسنگی می‌باشد. این آثار را به شرح زیر می‌توان خلاصه نمود:

گلوکاگون مسیر گلیکولیز را مهار می‌نماید تا از مصرف گلوکز جلوگیری کند. تحت تأثیر گلوکاگون و به تبع آن پروتئین کیناز A، آنزیم فسفوفروکتوکیناز - ۲ فسفریله و غیرفعال شده و درنتیجه غلظت محصول آن فروکتوز ۲ و ۶ بیس فسفات کاهش می‌یابد. این ترکیب از ترکیبات بینابینی مسیر گلیکولیز نبوده و تنها به‌عنوان تنظیم‌کننده آلوستریک مثبت آنزیم گلیکولیز فسفوفروکتوکیناز-۱ و تنظیم‌کننده آلوستریک منفی آنزیم مسیر گلیکونئوژنز فروکتوز ۱، ۶ بیس فسفاتاز ایفای نقش می‌نماید. درنتیجه فعالیت پروتئین کیناز A در کبد آنزیم‌های دیگر مسیر گلیکولیز مانند پیروات کیناز نیز فسفریله و غیرفعال می‌گردند.

گلوکاگون مسیر گلوکونئوژنز را در سلول‌های کبد تقویت می‌نماید تا تولید گلوکز افزایش یابد. با کاهش فعالیت پیروات کیناز امکان تبدیل فسفوانول پیروات به پیروات کاهش میابد تا فسفوانول پیروات وارد مسیر گلوکو نئوژنز گردد. گلوکاگون فعالیت آنزیم‌های مسیر گلوکونئوژنز مانند فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز را نیز افزایش می‌دهد. بدین ترتیب با افزایش سرعت مسیر گلوکونئوژنز توسط گلوکاگون امکان تبدیل اسکلت کربنی گلیسرول (حاصل از تجزیه تری‌گلیسریدها)، اگزالو استیک اسید و اسکلت کربنی اسیدهای آمینه به گلوکز فراهم می‌گردد. گلوکاگون آنزیم گلیکوژن فسفریلاز را فعال و آنزیم گلیکوژن سنتاز را مهار می‌نماید.

متابولیسم چربی:

افزایش جریان لیپولیز: با اتصال گلوکاگون به گیرنده‌های وابسته به Gs خود در سطح سلول‌های چربی غلظت cAMP و در پی آن فعالیت PKA در این سلول‌ها افزایش یافته و درنهایت آنزیم لیپاز حساس به هورمون فعال می‌گردد. اسیدهای چرب حاصل به جریان خون وارد می‌شوند.

افزایش اکسیداسیون اسیدهای چرب: تحت تأثیر گلوکاگون و با افزایش فعالیت PKA پروتئین CREB فسفریله می‌شود. CREBP حاصل به توالی‌های CRE واقع در پروموتور ژن CAT (Carnitine Acyltransferase) متصل شده و روند

Scanned with CamScanner

نسخه‌برداری از روی ژن این آنزیم و درنتیجه فعالیت آن را افزایش می‌دهد تا اسیدهای چرب بیشتری به میتوکندری وارد شده و سوبسترای جریان بتا اکسیداسیون واقع شوند.

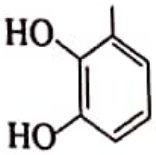
کاهش بیوسنتز اسیدهای چرب: آنزیم استیل کوآ کربوکسیلاز تحت تأثیر پروتئین کیناز A فسفریله و غیرفعال می‌گردد، درنتیجه غلظت مالونیل کوآ (محصول آنزیم) کاهش می‌یابد. مالونیل کوآ ضمن اینکه سوبسترای جریان بیوسنتز اسیدهای چرب است درعین‌حال مهارکننده آنزیم CAT نیز می‌باشد؛ بنابراین کاهش مالونیل کوآ منجر به کاهش بیوسنتز و افزایش کاتابولیسم اسیدهای چرب می‌گردد.

افزایش بیوسنتز اجسام ستنی: گلوکاگون یک هورمون کتوژن (Ketogenic) می‌باشد تا اجسام ستنی به‌عنوان سوخت جایگزین گلوکز شده و سطح گلوکز در خون حفظ شود. افزایش لیپولیز، افزایش جریان بتا اکسیداسیون و ورود ترکیبات بینابینی چرخه کربس به جریان گلوکونئوژنز، رویدادهایی در جهت تولید اجسام ستنی می‌باشند.

متابولیسم اسیدهای آمینه: ورود اسیدهای آمینه به سلول‌های کبد توسط گلوکاگون افزایش میابد. تقویت جریان گلوکونئوژنز نیز موجب ورود ترکیبات بینابینی سیکل کربس به جریان گلوکونئوژنز می‌گردد. درنتیجه ورود اسکلت کربنی اسیدهای آمینه در شکل آلفا کتوگلوتارات، فومارات و اگزالواستات به سیکل کربس و تبدیل آن‌ها به گلوکز افزایش میابد. شواهد قوی در مورد افزایش تولید اوره تحت تأثیر گلوکاگون در دسترس می‌باشد.

اساس مولکولی بیماری دیابت

برای بررسی به بخش تمرینات مراجعه نمایید.



حلقه کاتکول

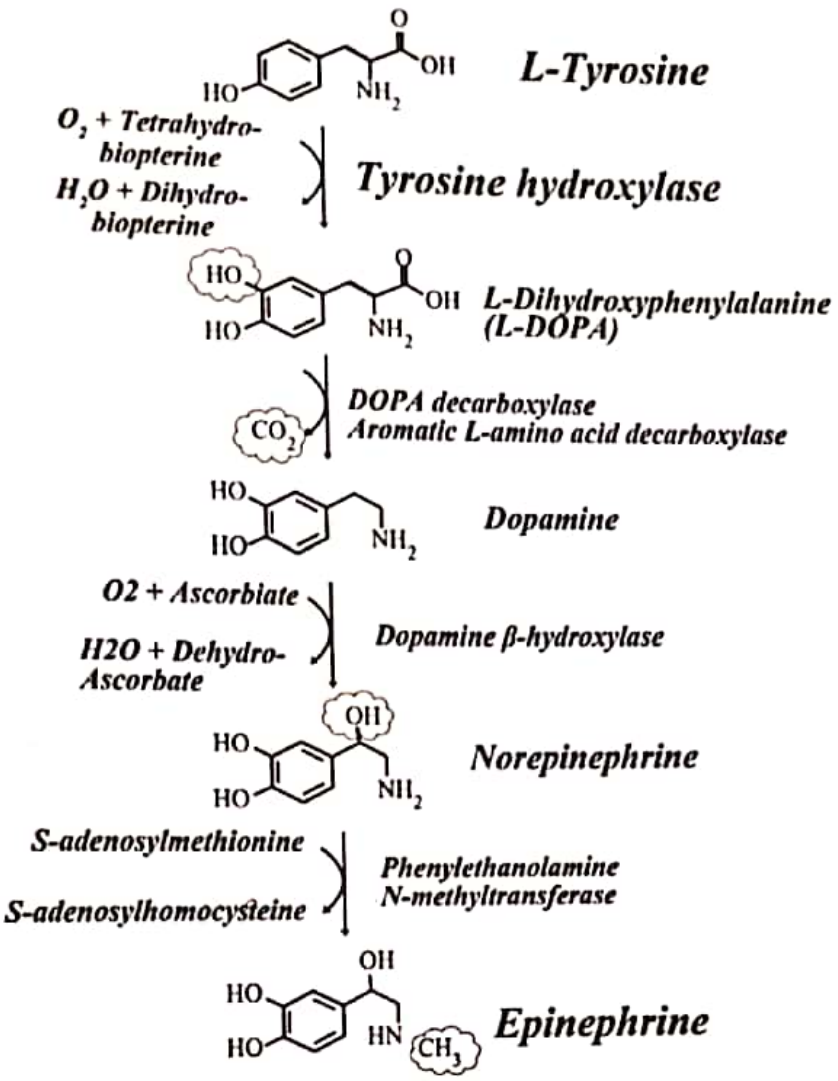
۳-۱۰ هورمون‌های مشتق از اسیدهای آمینه

۱-۳-۱۰ کاتکولامین‌ها(Catecholamines)

آمین‌های زیستی مشتق از تیروزین هستند که در ساختمان خود دارای حلقه کاتکول می‌باشند.

بیوسنتز کاتکولامین‌ها در نرون‌ها و سلول‌های کرومافین (Chromaffin cells) در بخش مدولای آدرنال انجام می‌شود. در این سلول‌ها اسیدآمینه تیروزین سوبسترای آنزیم کلیدی تیروزین هیدروکسیلاز (Tyrosine hydroxylase) قرار می‌گیرد. این آنزیم یک مولکول اکسیژن را احیا نموده، یک اتم آن را به‌صورت عامل هیدروکسیل در حلقه فنیل تیروزین قرار داده و آن را به حلقه کاتکول تبدیل می‌نماید. اتم دیگر اکسیژن به آب احیا می‌گردد. الکترون لازم برای احیاء اکسیژن

Scanned with CamScanner



شکل ۸-۱۰: مسیر بیوشیمیایی سنتز کتکول آمین‌ها

از مولکول تتراهیدرو بیوپتریـــــن (Tetrahydrobiopterin) تأمین می‌شود. مسیر بیوشیمیایی بیوسنتز کاتکولامین‌ها در شکل ۸-۱۰ خلاصه شده است. محصول نهایی این مسیر در بعضی از نورون‌ها دپامین می‌باشد. نورون‌های سازنده نوراپینفرین دارای آنزیم دپامین بتا هیدروکسیلاز نیز می‌باشند که دپامین را به نوراپینفرین تبدیل می‌نماید. افزون بر این‌ها در سلول‌های کرومافین غده آدرنال یک آنزیم متیل ترانسفراز نیز بیان می‌شود که نوراپینفرین را در اتم ازت عامل آمین متیله نموده و به اپینفرین یا آدرنالین تبدیل می‌نماید. کنترل بیوسنتز کاتکولامین‌ها به‌صورت باز خورد در سطح آنزیم تیروزین هیدروکسیلاز انجام می‌شود.

ترشح اپینفرین و نوراپینفرین از بخش مدولای غده آدرنال در شرایط استرس (جنگ‌وگریز، ترس، اضطراب، خونریزی)، یا هنگامی که استرس در شرف وقوع می باشد، تحریک می‌گردد. در چنین شرایطی جریانات عصبی ایجاد شده در مغز علائم عصبی را از طریق اعصاب سمپاتیک به بخش مدولای آدرنال ارسال نموده و باعث تحریک سلول‌های کرومافین و ترشح این دو هورمون می‌گردند. آثار متابولیک اپینفرین و نوراپینفرین به‌عنوان دو هورمون درون‌ریز در بافت‌های عضلات، کبد و چربی متمرکز می‌باشد. این آثار در جهتی هستند که اکسیژن و سوخت لازم جهت

Scanned with CamScanner

انجام فعالیت‌های زیستی که در شرایط استرس در شرف وقوع می‌باشند، فراهم گردد.

گیرنده‌های کاتکولامین‌ها

دوپامین دارای گیرنده‌های خاص خود می‌باشد؛ اما نور اپینفرین و اپینفرین دارای گیرنده‌های مشترک آدرنرژیک (Adrenergic) می‌باشند. گیرنده‌های آدرنرژیک متنوع بوده و تفاوت آن‌ها از جمله در میزان علاقه به اتصال به اپینفرین و نوراپینفرین می‌باشد. مثلاً علاقه گیرنده‌های β_2 آدرنرژیک به اپینفرین بسیار بیشتر از نوراپینفرین و علاقه گیرنده‌های α_2 آدرنرژیک به اپینفرین تقریباً برابر نوراپینفرین می‌باشد. تفاوت دیگر گیرنده‌های اپینفرین و نوراپینفرین در ماهیت سیستم‌های انتقال پیام آن‌ها می‌باشد. اگرچه این گیرنده‌ها معمولاً از نوع 7-TM می‌باشند اما ممکن است در نوع پروتئین G مرتبط به گیرنده با یکدیگر تفاوت نمایند. به‌عنوان‌مثال گیرنده‌های β به پروتئین Gs و گیرنده‌های α_2 به پروتئین Gi مرتبط می‌باشند.

آثار بیوشیمیایی اپینفرین و نوراپینفرین در جهت تقویت آثار کاتابولیک گلوکاگون و در جهت مخالف آثار انسولین می‌باشد. این آثار به شرح زیر خلاصه می‌گردند:

متابولیسم کربوهیدرات

مسیر انتقال پیام گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در شکل (۷-۱۰) ترسیم شده است. به دنبال افزایش غلظت cAMP آنزیم‌های پروتئین کیناز به‌صورت پی‌دربی فعال شده تا نهایتاً گلیکوژن فسفریلاز فسفریله و فعال شده و گلیکوژن سنتاز فسفریله و غیرفعال می‌شود. پاسخ نهایی سلول‌های عضلات تجزیه گلیکوژن و پاسخ سلول‌های کبد تجزیه گلیکوژن و صدور قند به جریان خون می‌باشد.

متابولیسم چربی:

اتصال اپینفرین و نور اپینفرین به گیرنده‌های بتا آدرنرژیک در سطح سلول‌های چربی باعث افزایش سطح cAMP در آن‌ها و به دنبال آن فعال شدن لیپاز حساس به هورمون، لیپولیز و نهایتاً ورود اسید چرب از این سلول‌ها به جریان خون می‌شود.

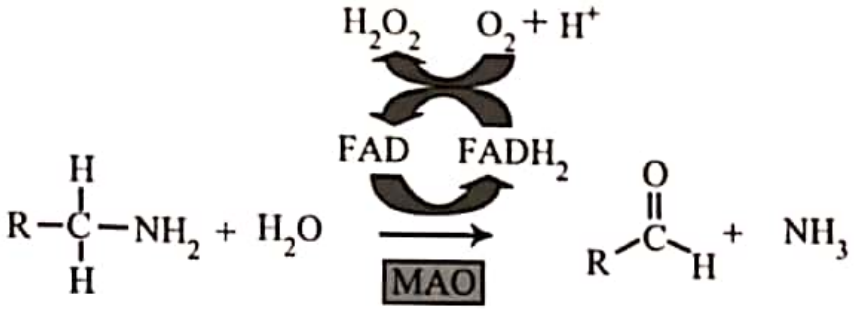
غیرفعال‌سازی کاتکولامین‌ها

کاتکولامین‌ها توسط سیستم‌های پروتئینی خاص به درون پایانه‌های عصبی و یا سلول‌هایی مانند سلول‌های کبد منتقل شده و وارد مسیر غیرفعال‌سازی می‌گردند. دو سیستم آنزیمی نقش تعیین‌کننده در این مسیر دارند.

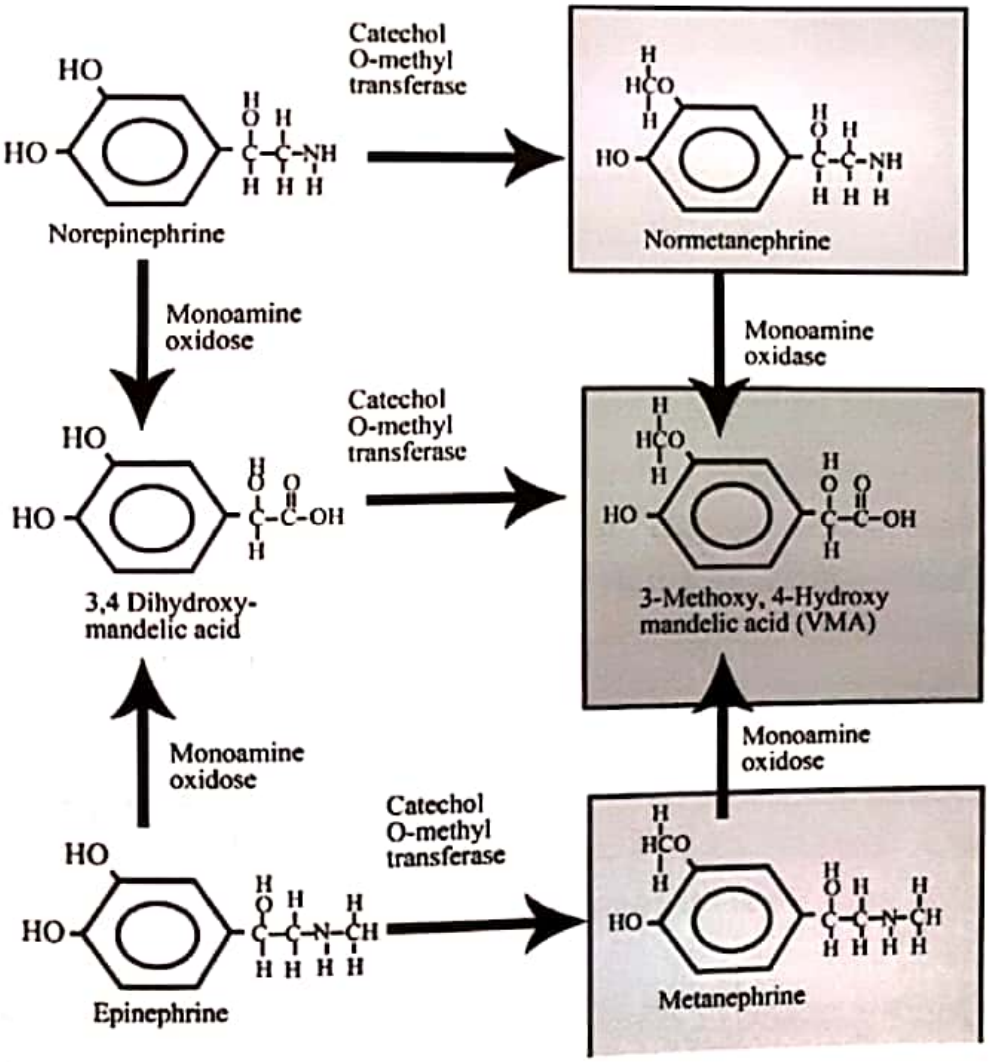
آنزیم مونوآمین اکسیداز MAO (Monoamine oxidase) در بسیاری از سلول‌های بدن ازجمله سلول‌های عصبی و کبد وجود دارد. این آنزیم به کمک گروه پروستتیک خود (FAD) دو الکترون از کربن دارای عامل آمین دریافت و به اکسیژن

Scanned with CamScanner

موکولی منتقل می‌نماید. بدین ترتیب عامل آمین به‌صورت یون آمونیوم جدا شده و کربن دارای عامل آمین به عامل آلدئید تبدیل می‌گردد. مجموع واکنش‌های انجام شده حین عمل کاتالیزوری این آنزیم را می‌توان به‌صورت زیر خلاصه نمود:



آلدئید حاصل از عمل MAO توسط یک آنزیم آلدئید دهیدروژناز به اسید مربوطه تبدیل می‌گردد.



شکل ۹-۱۰: واکنش‌های آنزیم‌های MAO و COMT در غیرفعال‌سازی کاتکولامین‌ها

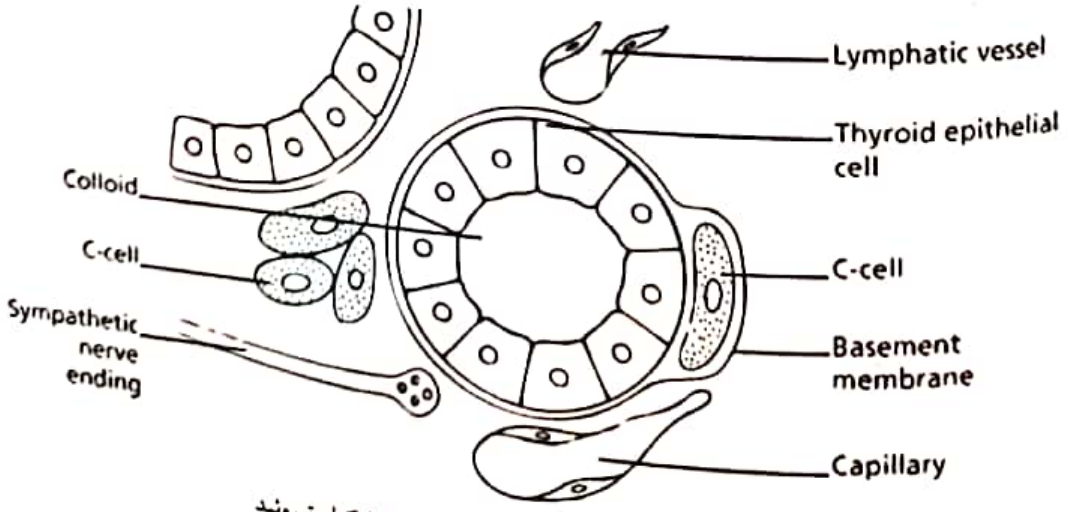
Scanned with CamScanner

آنزیم کاتکول-او-متیل ترانسفراز COMT (Catechol-O- methyltransferase) واکنش انتقال عامل متیل از اس. آدنوزیل متیونین (SAM) به عامل هیدروکسیل حلقه کاتکول را کاتالیز می‌نماید. متابولیت‌های حاصل از اثر هر کدام از آنزیم‌های MAO و یا COMT و یا اثر توأم هر دو آنزیم بر کاتکولامین‌ها، غیرفعال بوده و از ادرار دفع می‌گردند (شکل ۹-۱۰). در سرطان فئوکرموسیتوما (Pheochromocytoma) به علت رشد سرطانی سلول‌های کرمافین آدرنال تولید کاتکولامین‌ها افزایش یافته و درنتیجه دفع متابولیت‌های آن‌ها از ادرار نیز افزایش میابد. اندازه‌گیری متابولیت Vanillylmandelic acid (VMA) یا وانیل ماندلیک اسید به‌عنوان مارکر در این نوع سرطان ارزش تشخیصی دارد.

۲-۳-۱۰ هورمون های تیروئیدی

سنتز هورمون های تیروئیدی در فولیکول های غده تیروئید صورت می پذیرد. فضای میانی هر فولیکول از یک ماده ژلاتینی متشکل از پروتئین تیروگلبولین (Thyroglobulin) پر شده است. فضای میانی توسط سلول های اپیتلیال و این سلول های نیز توسط غشاء پایه (Basement membrane) محصور می گردند (شکل ۱۰-۱۰). در جریان بیوسنتز هورمون‌های تیروئیدی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه موجود در تیرو گلبولین یددار شده و نهایتاً به هورمون‌های تیروئیدی تبدیل می‌گردند. روند بیوسنتز هورمون‌های تیروئیدی را در دو مرحله می‌توان خلاصه نمود.

۱. **مرحله ورود و احتباس ید در سلول‌های اپیتلیال** توسط سیستم پروتئین انتقال همراه یداید- سدیم (Sodium-Iodide symporter) صورت می‌پذیرد. این سیستم در غشاء سلول‌های اپیتلیال (سمت مجاور غشاء پایه) واقع شده و یون یداید (I^-) را در خلاف جهت شیب غلظت از مایع میان بافتی به درون سلول‌های اپیتلیال



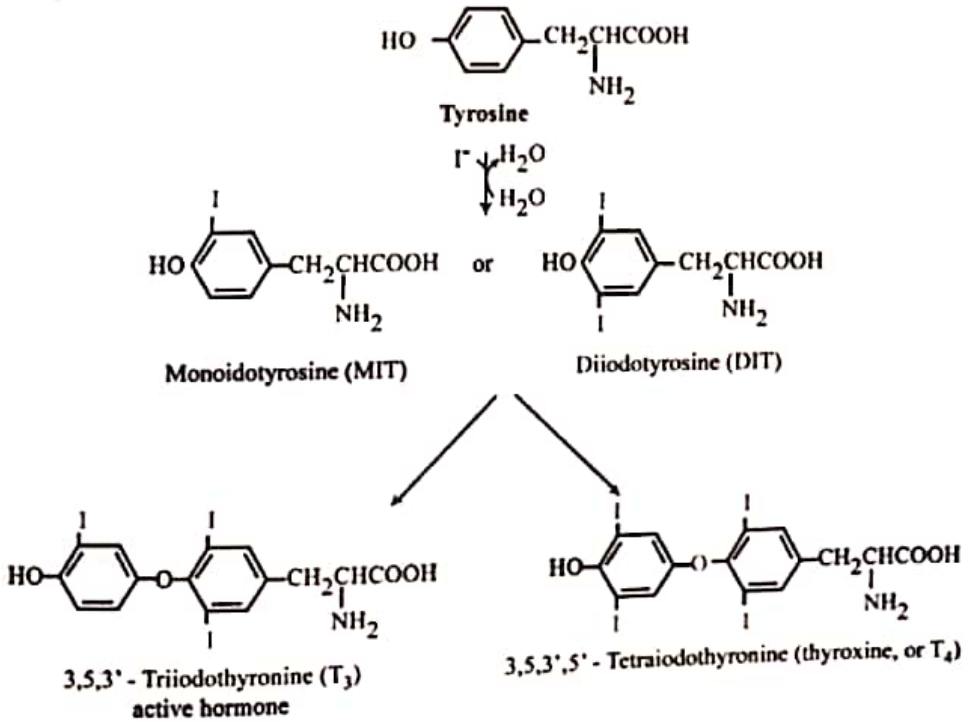
شکل ۱۰-۱۰: ساختار نمادین یک واحد فولیکول تیروئید

Scanned with CamScanner

تیروئید منتقل نموده و در این سلول‌ها تغلیظ می‌نماید. همراه با I^- یون سدیم نیز در جهت شیب غلظت به درون سلول‌ها وارد شده و بدین ترتیب انرژی لازم برا ی انتقال I^- (در خلاف جهت شیب غلظت) فراهم می‌گردد. لازم به ذکر است که این انرژی نهایتاً از هیدرولیز پیوند پر انرژی ATP تامین می‌شود زیرا باز گرداندن یون‌های سدیم وارد شده به سلول توسط پمپ سدیم پتاسیم (Na^+-K^+ ATPase) به خارج از سلول با هیدرولیز ATP همراه است. سیستم انتقال همراه یداید- سدیم توسط آنیون‌هایی مانند پرکلرات ($ClO4^-$) و یا تیوسیانات SCN^- مهار می‌گردد. یون‌های I^- وارد شده به سلول‌های اپیتلیال توسط یک سیستم پروتئینی انتقال همراه ویژه انتقال آنیون‌ها (Sodium-independent chloride/iodide transporter) به نام پندرین (Pendrin) واقع در غشاء سلول‌های اپیتلیال (سمت فضای میانی فولیکول) به فضای میانی منتقل می‌گردند.

۲. مرحله اضافه شدن I^- به اسیدهای آمینه تیروزین (Organification of Iodide) و تشکیل هورمون‌های تیروئیدی توسط سیستم آنزیمی تیروئید پراکسیداز (Thyroid peroxidase) کاتالیز می‌گردد. زنجیره پلی پپتیدی این آنزیم به نحوی در غشاء سلول‌های اپیتلیال (سمت فضای میانی فولیکول) قرار می‌گیرد که جایگاه فعال آن دسترسی به فضای میانی فولیکول دارد. سه فعالیت کاتالیزوری عمده به این آنزیم نسبت داده می‌شود.

الف. تولید گونه‌های شیمیایی فعال ید مانند I^+ در جایگاه فعال آنزیم: در این واکنش H_2O_2 سوبسترای آنزیم تیروئید پراکسیداز واقع شده و به آب احیا می‌گردد. الکترون لازم برای انجام این واکنش در بدن از تبدیل I^- به I^+ تأمین می‌گردد. H_2O_2 لازم برای انجام واکنش فوق در بدن از عمل کاتالیزوری نوعی



شکل ۱۱-۱۰: واکنش‌های آنزیم‌های دی ایودیناز

Scanned with CamScanner

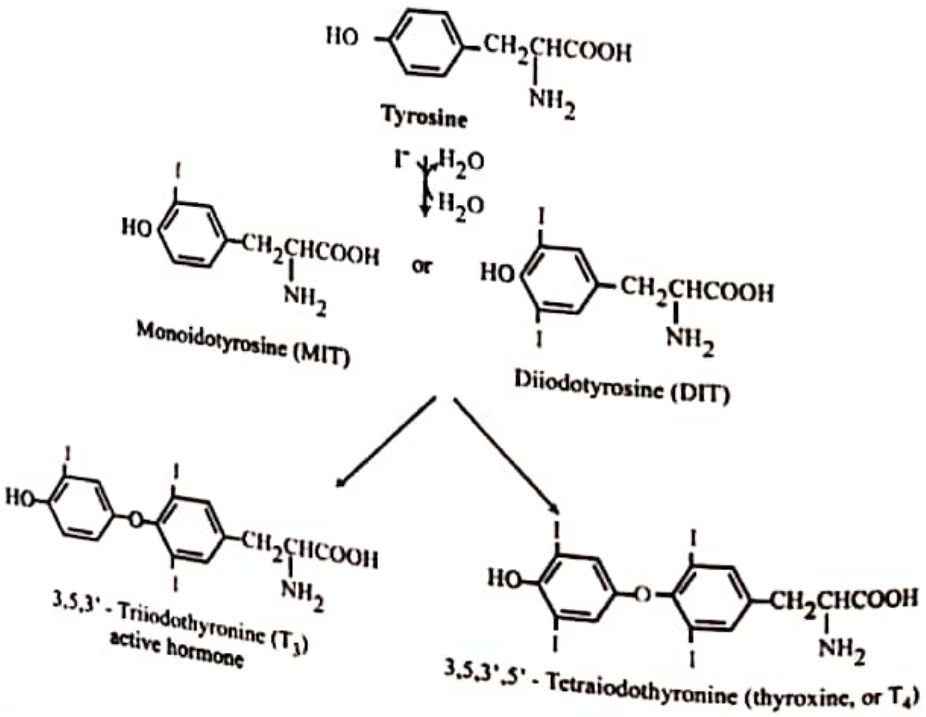
آنزیم‌های اکسیداز وابسته به NADPH تأمین می‌گردد. واکنش آنزیم تیروئید پراکسیداز در خارج از بدن بصورت زیر است:

$$2\,H^+ + 2\,I^- + H_2O_2 \longrightarrow I_2 + 2\,H_2O$$

ب. **واکنش گونه‌های شیمیایی فعال ید با حلقه فنلی اسیدهای آمینه** تیروزین موجود در تیروگلبولین منجر به تبدیل واحدهای تیروزین به مونوایدوتیروزین (Monoiodotyrosine, MIT) و یا دی ایدودوتیروزین (Diiodotyrosine, DIT) می‌گردد.

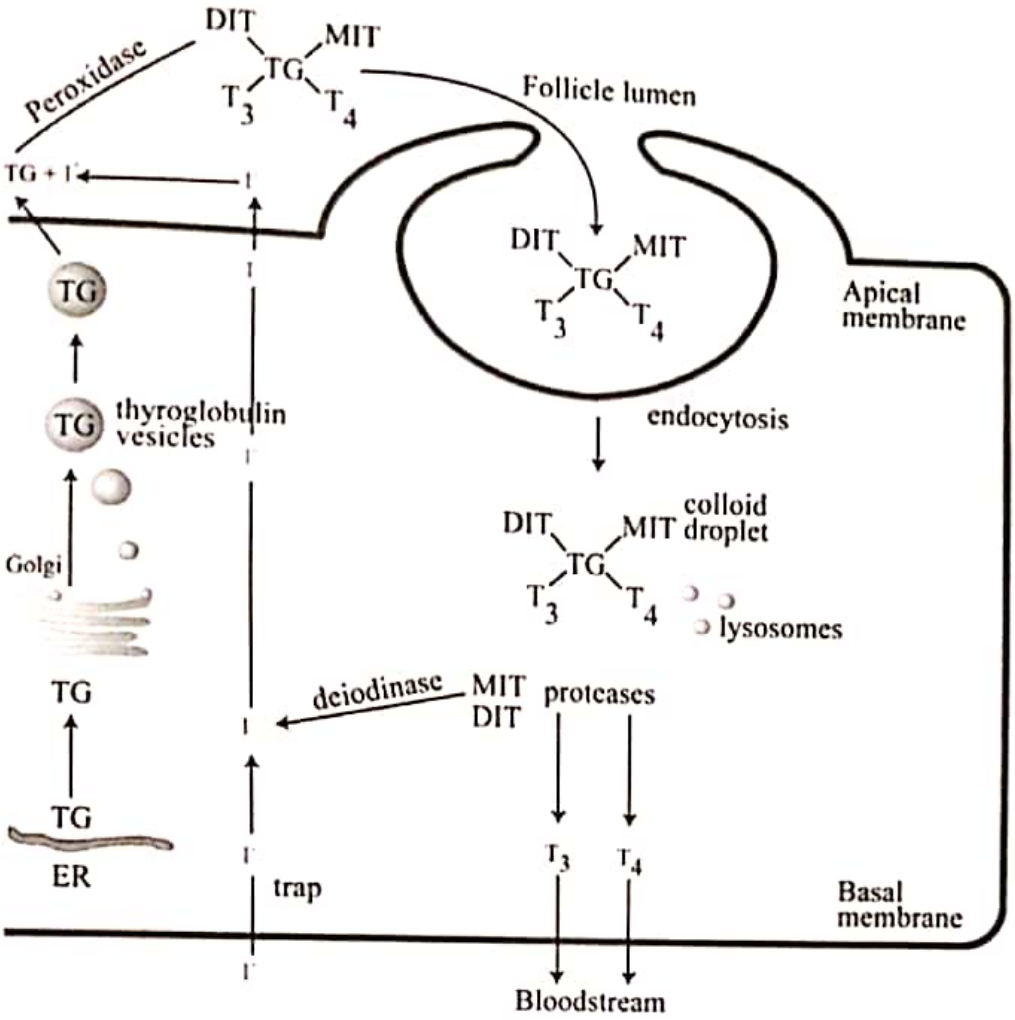
ج. **ترکیب واحدهای MIT و DIT با خود و یا با یکدیگر** و ایجاد واحدهای متنوع ایدوتیرونین (Iodotyronines) در پیکره تیروگلبولین (شکل ۱۱-۱۰).

آزادسازی و ترشح هورمون‌های تیروئیدی: با ورود تیروگلبولین از طریق پینوسیتوز مواد کلوئیدی فضای میانی و یا از مسیر اندوسیتوز به درون سلول‌های اپیتلیال شروع می‌گردد. در این سلول‌ها تیروگلبولین سوبسترای آنزیم‌های پروتئاز واقع شده و اسیدهای آمینه و هورمون‌های تیروئیدی موجود در زنجیره پلی پپتیدی آن آزاد می‌گردند. هورمون‌های تیروئیدی از طریق پخش ساده (Diffusion) و یا مکانیسم های دیگری از سلول‌های تیروئید به جریان خون را ه می‌یابند (شکل ۱۲-۱۰)



شکل ۱۲-۱۰

Scanned with CamScanner



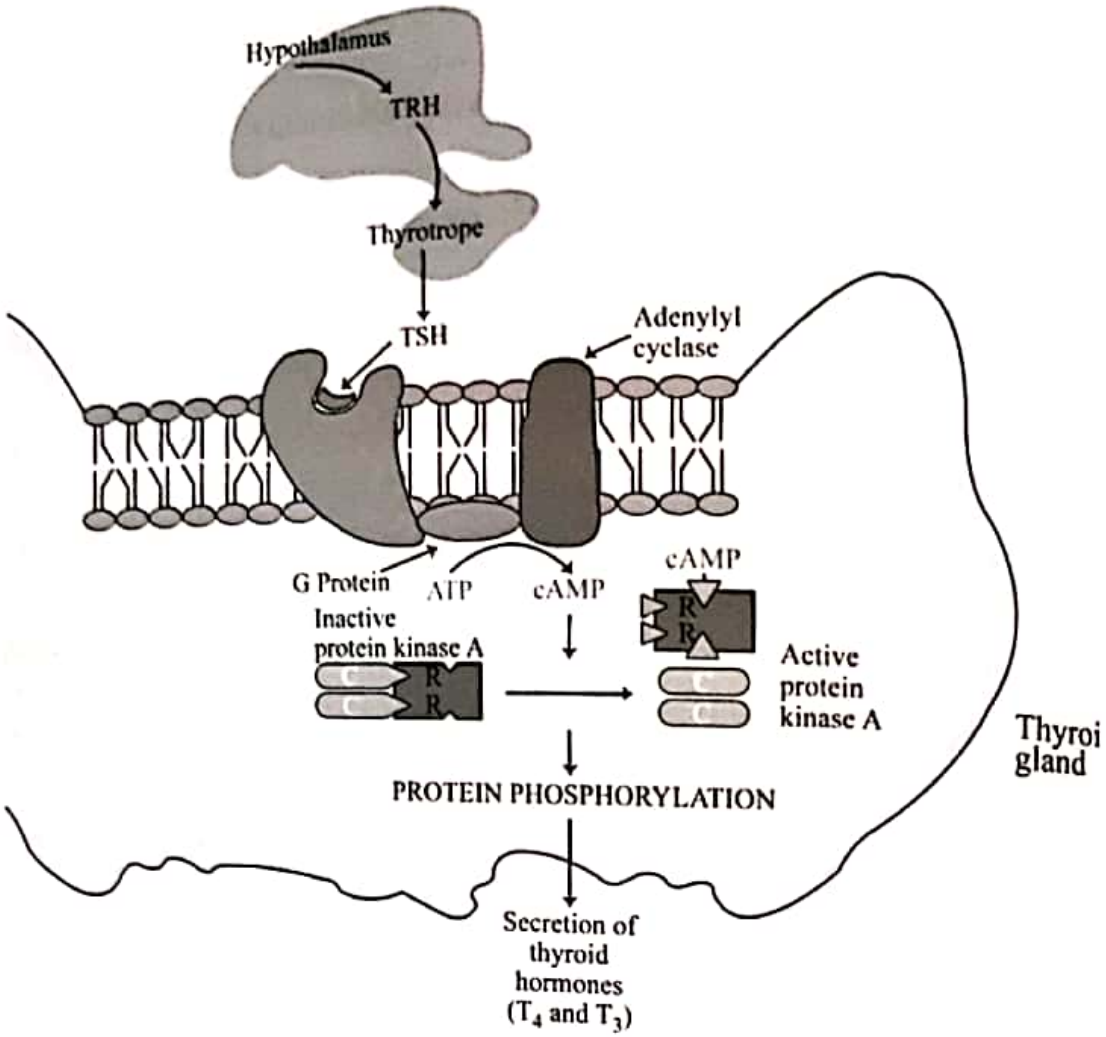
شکل ۱۳-۱۰

جدا شدن ید (Deiodination) از هورمون‌های تیروئیدی: تحت تأثیر آنزیم‌های دی ایودیناز (Deiodinases) انجام می‌پذیرد. این آنزیم‌ها در بافت‌های کبد، کلیه، مغز و تیروئید دارای فعالیت زیادی بوده و با برداشت ید از هورمون‌های تیروئیدی باعث تولید ملکول‌هایی مانند Reverse T3(rT3)، T3 و T2 می‌گردند. هنگامی‌که اتم ید از حلقه خارجی T4 برداشته می‌شود هورمون فعال T3 و هنگامی که اتم ید از حلقه داخلی برداشت می‌گردد هورمون غیر فعال rT3 حاصل می‌گردد (شکل ۱۳-۱۰).

T2 و rT3 آثار زیستی هورمون‌های تیروئیدی را از خود نشان نمی‌دهند. اما فعالیت زیستی T3 به عنوان هورمون تیروئیدی بسیار زیاد می‌باشد. با آنکه میزان T3 در خون بسیار کمتر از T4 است، اما فعالیت زیستی آن به تقریب ده برابر T4 می‌باشد. بنابراین T3 شکل فعال زیستی و T4 شکل پیش‌ساز و نیز ذخیره هورمون‌های تیروئیدی در خون محسوب می‌شوند.

هورمون تیروتروپین (TSH) تنظیم کننده اصلی ترشح هورمون‌های تیروئیدی و همچنین رشد و نمو غده تیروئید است. گیرنده‌های این هورمون از نوع 7-TM بوده و به پروتئین Gs مرتبط می‌باشند. در پی‌فعال شدن این گیرنده‌ها پاسخ‌هایی در کوتاه‌مدت و در درازمدت در سلول‌های تیروئید پدیدار می‌گردند.

Scanned with CamScanner



شکل ۱۴-۱۰: نقش TSH در افزایش ترشح هورمون‌های تیروئید

افزایش روندهایی مانند پینوسیتوز مواد کلوئیدی، ورود تیروگلبولین به درون سلول، هیدرولیز تیروگلبولین و ترشح هورمون‌های تیروئید به جریان خون در زمره پاسخ‌های کوتاه‌مدت می‌باشند (شکل ۱۴-۱۰). افزایش بیان ژن‌های پروتئین انتقال همراه یداید-سدیم (Na^+-I^- symporter)، تیروگلبولین و تیروئید پراکسیداز و همچنین رشد و تکثیر سلول‌های تیروئیدی از پاسخ‌هایی هستند که در بلندمدت توسط TSH در سلول‌های تیروئید ایجاد می‌شوند. ناگفته نماند که وجود توالی‌های CRE در ناحیه پروموتور ژن‌های پروتئین انتقال همراه یداید سدیم و تیروگلبولین گزارش شده است. ترشح TSH به نوبه خود توسط TRH افزایش می‌یابد. اما هورمون‌های تیروئیدی T3 و T4 به صورت فیدبک ترشح TRH از هیپوتالاموس و TSH از هیپوفیز را کاهش می‌دهند. در بیماری گریوز Graves آنتی بادی‌هایی علیه گیرنده TSH در بدن ساخته می‌شوند که می‌توانند به گیرنده‌های TSH متصل شده و آن‌ها را فعال نمایند.

انتقال هورمون‌های تیروئیدی در پلاسما:

هورمون‌های تیروئیدی به صورت متصل به پروتئین‌های ویژه‌ای از جمله آلبومین

Scanned with CamScanner

در پلاسما گردش می‌کنند تا بدین وسیله نیمه عمر آن‌ها در پلاسما افزایش یافته و وارد مسیر کاتابولیسم و دفع از بدن نگردند. از جمله، پروتئین پلاسمایی TBG (Thyroxine-Binding Globulin) بیشترین علاقه به اتصال به هورمون‌های تیروئیدی را دارد. این پروتئین در کبد سنتز شده و به جریان خون ترشح می‌گردد. هورمون‌های تیروئیدی در پلاسما طبق رابطه تعادلی زیر به TBG متصل می‌باشند.

$$T4 + TBG \rightleftharpoons T4 - TBG$$

بدین ترتیب تنها حدود یک درصد هورمون‌های تیروئیدی موجود در پلاسما به صورت آزاد می‌باشد. همین هورمون آزاد است که به سلول‌ها وارد شده و آثار زیستی آن را ایجاد می‌نماید.

گیرنده‌های هورمون‌های تیروئیدی به خانواده گیرنده‌های هسته‌ای تعلق دارند. دیمر این گیرنده ها توالی های خاص خود (Thyroid hormone response element, TRE) را در DNA تشخیص و به آن‌ها متصل می‌گردند. منتهی دیمر گیرنده‌های هورمون‌های تیروئیدی در غیاب لیگاند نیز به توالی‌های TRE متصل می‌باشند. در این حالت آرایش فضایی گیرنده به نحوی است که تمایل به اتصال به پروتئین‌هایی به نام کورپرسور (Corepressor) را دارد. نتیجه نهایی اتصال مجموعه گیرنده بدون لیگاند و کورپرسور به TRE کاهش سرعت نسخه‌برداری از ژن‌های تحت کنترل TRE می‌باشد. با اتصال T3 به گیرنده آرایش فضائی گیرنده به نحوی تغییر می‌یابد که تمایل به اتصال به کورپرسور نداشته ولی متمایل به اتصال به پروتئین‌هایی به نام کواکتیواتور (Co-activator) می‌باشد. در این حالت مجموعه T3، گیرنده، کواکتیواتور و TRE زمینه افزایش سرعت نسخه‌برداری از ژن‌های تحت کنترل TRE را فراهم آورده و بدین ترتیب بخش اعظم پاسخ سلول به T3 ظاهر می‌شود.

فعالیت زیستی هورمون‌های تیروئیدی برای پیشرفت طبیعی روندهای متابولیسم، رشد و تمایز سلولی ضروری است.

متابولیسم:

هورمون‌های تیروئیدی سرعت بسیاری از واکنش‌های بیوشیمیایی در بسیاری از بافت‌های بدن را افزایش می‌دهند. یکی از نتایج این امر، افزایش تولید گرما در بدن است. حداقل بخشی از این افزایش تولید گرما ناشی از افزایش مصرف اکسیژن و افزایش سرعت تولید و مصرف ATP تحت تأثیر هورمون‌های تیروئیدی می‌گردد. در این ارتباط شواهدی مبنی بر اثر افزاینده هورمون‌های تیروئیدی بر تعداد میتوکندری در سلول و نیز تعداد پمپ‌های پروتئین انتقال همراه یداید/ سدیم در غشاء سلول‌ها موجود است. افزایش این پمپ‌ها در جهت افزایش مصرف ATP و افزایش تعداد میتوکندری در جهت افزایش تولید ATP می‌باشد. ناگفته نماند که افزایش میزان

Scanned with CamScanner

تولید ATP در میتوکندری منجر به افزایش مصرف اکسیژن می‌گردد.

متابولیسم چربی: هورمون‌های تیروئیدی جریان لیپولیز و صدور اسید چرب از بافت چربی به جریان خون را افزایش می‌دهند. تحت تأثیر این هورمون‌ها اکسیداسیون اسیدهای چرب در بسیاری از بافت‌ها افزایش می‌یابد. از آثار بارز هورمون‌های تیروئیدی ارتباط معکوس آن‌ها با سطح کلسترول پلاسما می‌باشد. به طوری‌که در هیپوتیروئیدیسم سطح کلسترول خون افزایش می‌یابد و بالعکس.

متابولیسم کربوهیدرات: تقریباً تمامی جنبه‌های متابولیسم مواد کربوهیدرات توسط هورمون‌های تیروئیدی تقویت می‌گردد. ورود وابسته به انسولین گلوکز به بافت‌ها، گلیکولیز، گلوکونئوژنز و گلیکوژنولیز از جمله این موارد هستند.

رشد و تمایز سلولی: وجود هورمون‌های تیروئیدی برای رشد طبیعی در دوران کودکی و جوانی ضروری است. این اثر هورمون‌های تیروئیدی در ارتباط با هورمون رشد نیز می‌باشد. تأثیر این هورمون‌ها بر افزایش سنتز mRNA هورمون رشد معلوم شده است. کمبود هورمون‌های تیروئیدی باعث کوچکی جثه (Critinism) می‌شود.

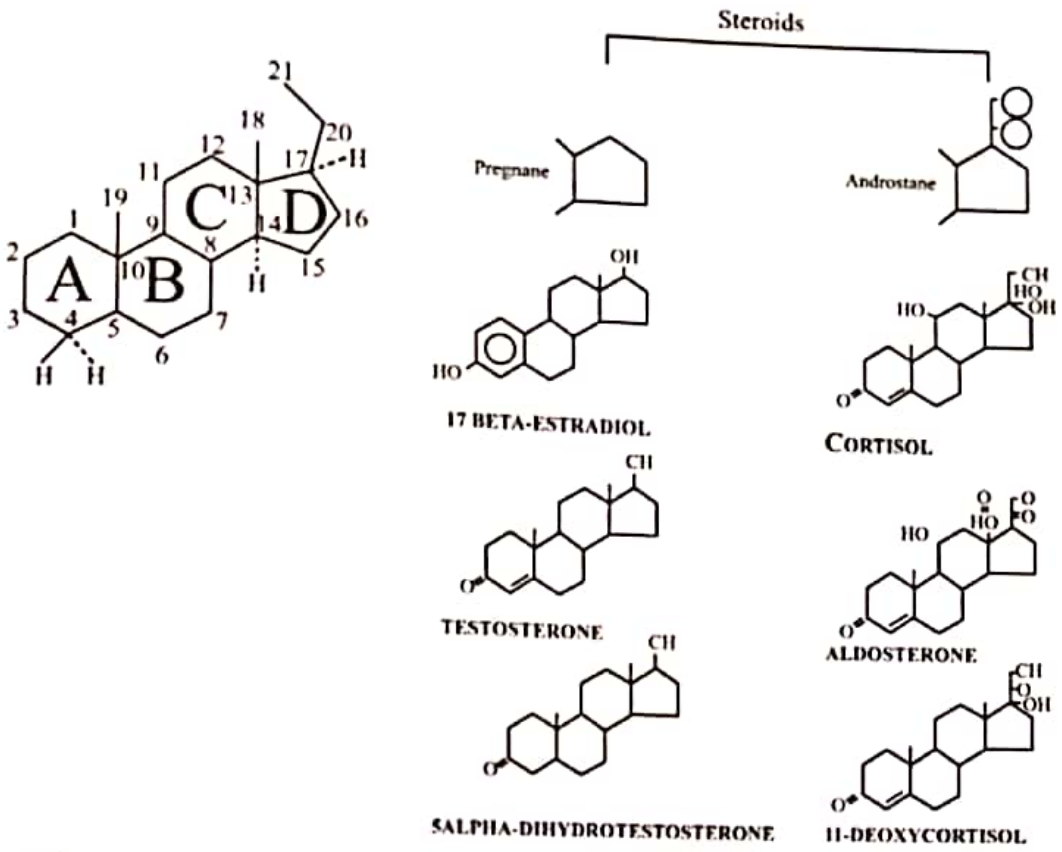
تمایز و تکامل جنینی: در غیاب هورمون‌های تیروئید، جنین قورباغه متامورفز (Metamorphosis) انجام نداده و به قورباغه بالغ تبدیل نمی‌گردد. وجود سطح طبیعی این هورمون‌ها برای رشد طبیعی مغز جنین و نوزاد پستانداران نیز ضروری است.

۱۰-۴ هورمون‌های استروئیدی Steroid Hormones

۱۰-۴-۱ ویژگی‌های ساختمانی استروئید ها

هورمون‌های استروئیدی از کلسترول مشتق شده و از نظر ساختمان با آن مرتبط می‌باشند. این هورمون‌ها را بر اساس تعداد اتم‌های کربن آن‌ها می‌توان به سه گروه ۲۱ کربن (C-۲۱ steroids)، ۱۹ کربن (C-۱۹ steroids) و ۱۸ کربن (C-۱۸ steroids) تقسیم‌بندی نمود. نحوه علامت‌گذاری حلقه‌ها و شماره‌گذاری اتم‌های کربن هورمون‌های استروئیدی در شکل (۱۵-۱۰) مشخص شده است. هورمون‌های استروئیدی ۲۱ کربن مانند کورتیزول و آلدوسترون دارای شاخه جانبی ۲ کربنی در کربن شماره ۱۷ حلقه D (سیکلوپنتان) می‌باشند. در حالی‌که هورمون‌های استروئیدی جنسی مانند تستوسترون (۱۹ کربن) و استرادیول (۱۸ کربن) فاقد شاخه جانبی دوکربنی در کربن شماره ۱۷ هستند. هورمون‌های استروئیدی با حلقه A آروماتیک هورمون‌های جنسی زنانه می‌باشند.

Scanned with CamScanner



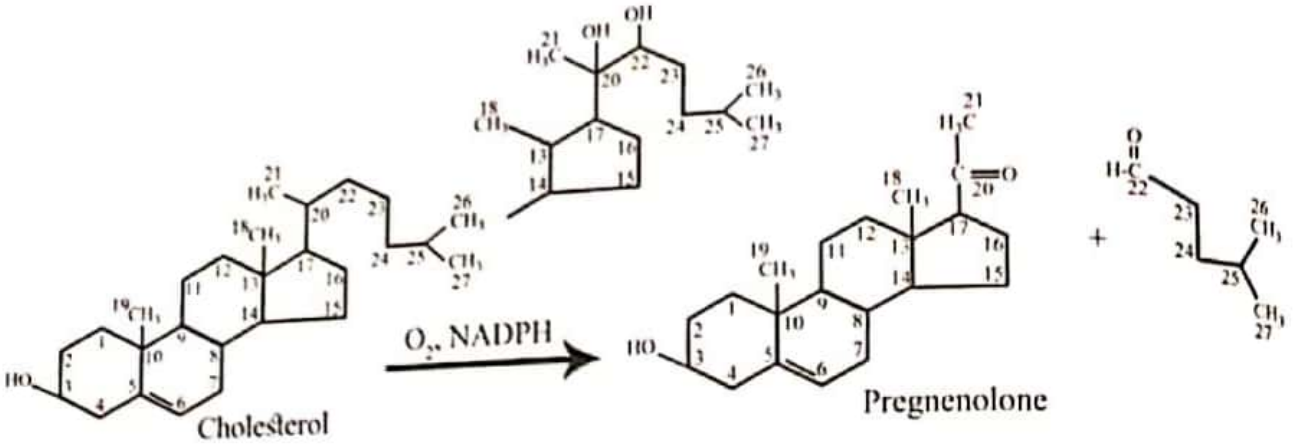
=	ene
OH	ol
= O	one
CHO	al
deoxy	Replacement of hydroxyl group by hydrogen
β	bonds (—) attaching substituent groups above the plane of the ring
α	bonds (- - -) attaching substituent groups below the plane of the ring

شکل ۱۵-۱۰

۲-۴-۱۰ بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی

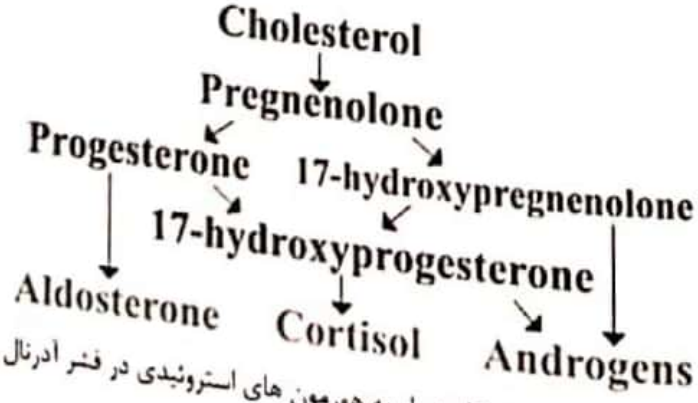
هنگامی پیشرفت می‌نماید که ACTH و یا آنژیوتنسین II (در قشر آدرنال) و یا LH (در غدد جنسی) به گیرنده‌های خود متصل شده و غلظت پیامبرهای ثانویه‌ای مانند cAMP و یون Ca^{2+} در سیتوزول سلول‌های سازنده هورمون‌های استروئیدی این بافت‌ها افزایش یابد. تحت تأثیر این پیامبرهای ثانویه جریان تبدیل استر کلسترول به کلسترول آزاد و انتقال کلسترول آزاد به درون میتوکندری

Scanned with CamScanner



Side Chain Cleavage Enzyme (Cholesterol desmolase) reaction

سرعت می‌یابد. علاوه بر این تحت تأثیر هورمون‌های فوق فعالیت برخی آنزیم‌های دیگر جریان بیوسنتز هورمون‌های استروئیدی نیز افزایش می‌یابد. کلسترول آزاد در میتوکندری سوبسترای یک سیستم آنزیمی به نام آنزیم شاخه شکن کلسترول (Cholesterol side chain cleavage enzyme) واقع می‌گردد. این سیستم آنزیمی از نوع سیتوکرم P450 بوده و دارای فعالیت اکسیداز مختلط (Mixed function oxidase) می‌باشد. این آنزیم یک اتم از مولکول اکسیژن را به صورت عامل هیدروکسیل در مولکول سوبسترا جایگزین نموده و اتم دیگر اکسیژن را به آب تبدیل می‌نماید. بخشی از الکترون لازم برای احیاء مولکول اکسیژن را از مولکول سوبسترا و بخش دیگری را از NADPH تأمین می‌نماید. در نتیجه انجام عمل پیچیده سیستم آنزیمی فوق دو عامل هیدروکسیل به کربن‌های شماره ۲۰ و ۲۲ شاخه جانبی موجود در کربن شماره ۱۷ کلسترول اضافه می‌گردد. متعاقباً اتصال بین این دو اتم کربن شکسته شده و زنجیره جانبی کوتاه می‌گردد. محصول واکنش یعنی پرگننولون (Pregnenolone) ازمیتوکندری به سیتوزول منتقل شده و به عنوان مولکول پیش‌ساز وارد روند تبدیل به سایر هورمون‌های استروئیدی می‌گردد. پرگننولون در بافت‌های مختلف سازنده هورمون‌های استروئیدی و حتی در یک بافت خاص وارد مسیرهای متنوع بیوشیمیایی شده و تبدیل به استروئیدهای گوناگونی



شکل ۱۶-۱۰: تبدیل کلسترول به هورمون های استروئیدی در قشر آدرنال

Scanned with CamScanner

می‌گردد. نوع استروئیدهای تولید شده در هر بافت بستگی به عواملی مانند نوع آنزیم‌هایی که در بافت بیان می‌شوند و یا چگونگی تأثیرپذیری بافت از هورمون‌های تروپیک دارد. کلیات چگونگی تبدیل پرگنونولون به استروئیدهای اصلی قشر آدرنال در شکل (۱۶-۱۰) خلاصه شده است.

۳-۴-۱۰ گلوکوکورتیکوئیدها (Glucocorticoids)

در ابتدا این دسته از هورمون‌های استروئیدی را با توجه به اثر آن‌ها در افزایش گلوکز خون نامگذاری نمودند.

کورتیزول (Cortisol) عمده‌ترین گلوکوکورتیکوئید انسان می‌باشد.

ترشح کورتیزول با پیروی از ریتم روزانه ترشح ACTH، در هنگام صبح افزایش یافته و در هنگام شب به حداقل می رسد. کورتیزول نیز مانند سایر هورمون‌های استروئیدی به صورت متصل به پروتئین‌های ویژه‌ای از جمله آلبومین در پلاسما گردش می‌نماید. تا بدین وسیله نیمه عمر آن در پلاسما افزایش یافته و وارد مسیر کاتابولیسم و دفع از بدن نگردد. پروتئین پلاسمایی ترانس کورتین یا (Corticosteroid binding protein CBG) بیشترین علاقه را به اتصال به کورتیزول دارد. حدود ۸۰ درصد کورتیزول پلاسما طبق رابطه تعادلی زیر به CBG متصل است.

$$\text{Cortisol} + \text{CBG} \rightleftharpoons \text{Crotisol} - \text{CBG} \quad Ka = 2/4 \times 10^{7}\ M^{-1}$$

بدین ترتیب تنها ۸ - ۴ درصد کورتیزول موجود در پلاسما بصورت آزاد می‌باشد. همین کورتیزول آزاد است که به سلول‌ها وارد شده و آثار زیستی کورتیزول را ایجاد می‌نماید. کنترل ترشح کورتیزول با مکانیسم فیدبک انجام می‌پذیرد. به عبارت دیگر کورتیزول موجب کاهش ترشح CRH از هیپوتالاموس و در نتیجه کاهش بیان POMC و تولید ACTH در هیپوفیز می‌شود. گیرنده‌های کورتیزول در سرتاسر بدن تقریباً فراگیر بوده و پس از اتصال به لیگاند موجبات افزایش بیان بعضی از ژن‌ها (مانند ژن فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز) و یا کاهش برخی دیگر (مانند ژن POMC) را فراهم می‌آورند.

آثار بیوشیمیایی کورتیزول:

کورتیزول مانند سایر گلوکوکورتیکوئیدها دارای آثار متنوع و گسترده‌ای بر متابولیسم می‌باشد. این آثار در جهت بازگرداندن تعادل متابولیسم پس از بروز استرس و یا حین استرس مزمن هستند. آثار کورتیزول بر متابولیسم مواد سه‌گانه را بدین شرح می‌توان خلاصه نمود.

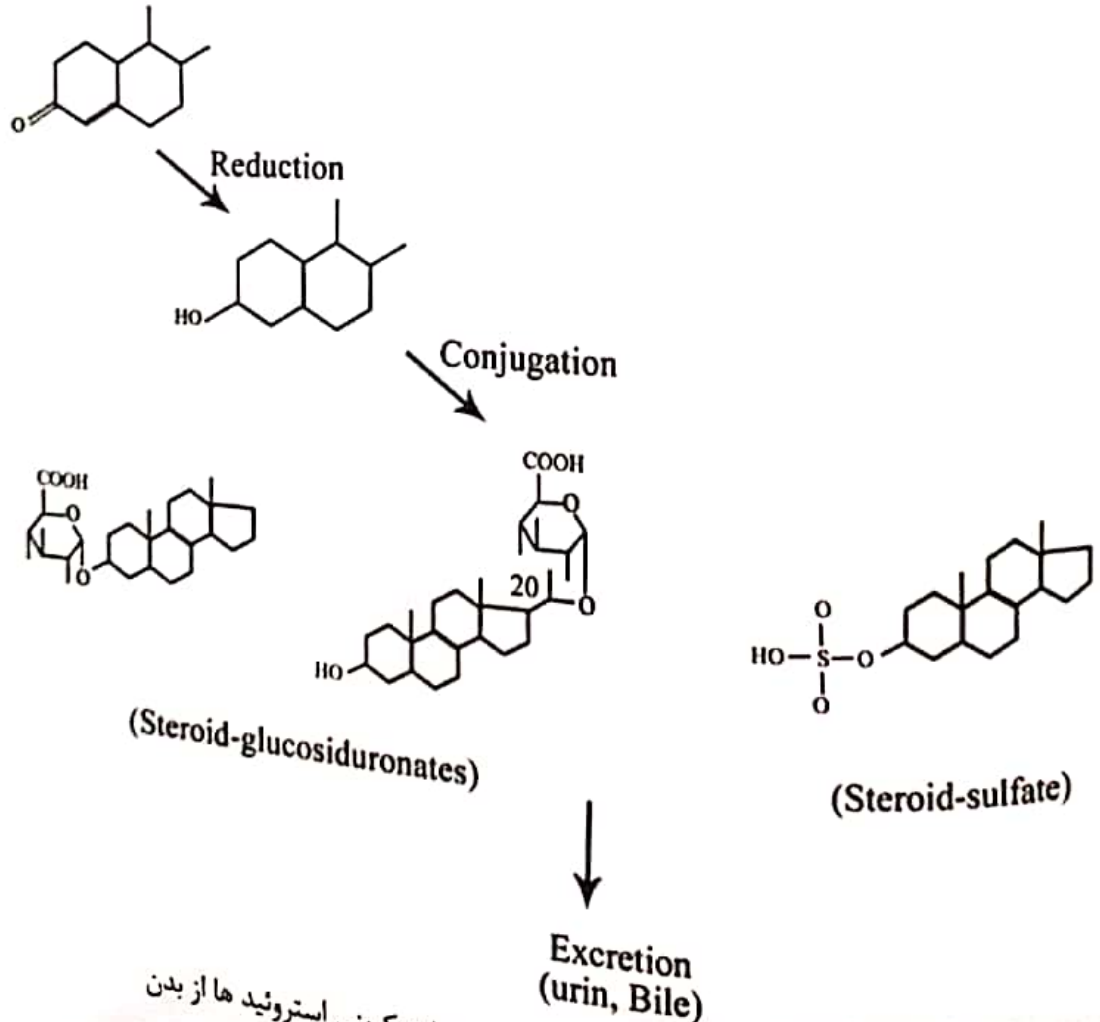
متابولیسم کربوهیدرات: تقویت جریان گلوکونئوژنز در سلول‌های کبد از آثار بارز کورتیزول می باشد. کورتیزول بیان ژن فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز در سلول‌های کبد را افزایش می‌دهد. همچنین تحت تأثیر کورتیزول آنزیم گلیکوژن

Scanned with CamScanner

سینتاز به فرم فعال خود تبدیل شده و بیوسنتز گلیکوژن در کبد افزایش می‌یابد. بروز مقاومت به انسولین از آثار مهم افزایش مزمن کورتیزول می‌باشد. بدین ترتیب ورود گلوکز به بافت‌های عضلات و چربی کاهش یافته و غلظت آن درخون افزایش می‌یابد.

متابولیسم چربی: گلوکوکورتیکوئیدها میزان اسیدهای چرب خون را افزایش می‌دهند. کاهش تبدیل اسید چرب به تری‌گلیسرید در سلول‌های چربی و افزایش فعالیت آنزیم لیپوپروتئین لیپاز در این راستا می‌باشد. با این وجود تداوم افزایش غلظت کورتیزول در خون منجر به افزایش میزان چربی در تنه و اطراف گردن می‌گردد. در مورد این اثر گلوکوکورتیکوئیدها نظریه‌های متفاوتی مطرح می‌باشد.

متابولیسم پروتئین: کورتیزول کاتابولیسم اسیدهای آمینه را افزایش می‌دهد. تأثیر کورتیزول بر افزایش میزان برخی آنزیم‌های مسیر کاتابولیسم اسیدهای آمینه مانند تیروزین آمینوترانسفراز مشخص شده است. تحت تأثیر کورتیزول غلظت اسیدهای آمینه در خون افزایش می یابد زیرا کورتیزول ورود اسیدهای آمینه به عضلات را کاهش داده و جریان تشکیل کلاژن و بیوسنتز پروتئین‌ها را مهار می‌نماید. اسیدهای



شکل ۱۷-۱۰: غیر فعال سازی و دفع اسکلت کربنی استروئید ها از بدن

Scanned with CamScanner

آمینه از جریان خون به کبد وارد شده و وارد مسیر کاتالولیسم گردیده اسکلت کربنی آن‌ها به جریان گلوکونئوژنز راه می‌یابد. بدین ترتیب اثر زیستی کورتیزول در جهت ایجاد تعادل منفی ازت (Negative nitrogen balance) می‌باشد.

تعادل ازت = ازت وارد شده به بدن – ازت خارج شده از بدن (ادرار، عرق و مدفوع)

۴-۴-۱۰ روند غیر فعالسازی استروئیدها

کبد جایگاه اصلی جریان غیرفعالسازی هورمون‌های استروئیدی است. این جریان شامل احیاء بعضی از اتصالات دوگانه در ساختمان هورمون و همچنین اضافه شدن عوامل هیدروکسیل به اسکلت کربنی هورمون می‌باشد. استروئیدها در کبد سوبسترای سیستم آنزیمی سیتوکرم P450 واقع شده و عوامل هیدروکسیل به اسکلت کربنی آن‌ها اضافه می‌گردد. بدین ترتیب حلالیت استروئیدها در آب افزایش میابد. در واکنش‌های بعدی بین عامل هیدروکسیل استروئیدها و عامل کربوکسیل اسید گلوکورونیک و یا اسید سولفوریک (به شکل سولفات) پیوندهای استری ایجاد می‌شود. با اتصال به این مولکول‌های بسیار قطبی حلالیت استروئیدها در آب بسیار افزایش میابد. کانژوگه شدن استروئیدها با اسید گلوکورونیک یا سولفات مهمترین راه دفع اسکلت کربنی آن‌ها از ادرار و صفرا می‌باشد. حدود ٪۲۰ کانژوگه‌های استروئیدها به صفرا و روده و حدود ٪۸۰ به جریان خون و ادرار وارد شده و دفع می‌گردند.

Scanned with CamScanner

۵-۱۰ سوالات نمونه

۱-۵-۱۰- متن زیر از کتاب بیوشیمی دولین (Devlin Textbook of Biochemistry, 7th edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه بخش های مربوط به دیابت، انتظار میرود بتوانید به سوالات ذیل پاسخ دهید. این مطالب در زمره بخش های ضروری در درس بیوشیمی هورمون ها محسوب می شوند.

Diabetes Mellitus, Type1

Type 1 diabetes mellitus usually appears in childhood or in the teens but it is not limited to these patients (see Clin. Corr. 15.4, p. 609). Insulin secretion is very low because of defective beta cell function, the result of an autoimmune process. Clinical trials of immunosuppression to prevent complete destruction of the islets are underway. Untreated, type I diabetes is characterized by hyperglycemia, hypertriglyceridemia (chylomicrons and VLDL), and episodes of severe ketoacidosis. Thus, there is severe derangement of carbohydrate, lipid and protein metabolism. The hyperglycemia results from the inabilityof the insulin-dependent tissues to take up glucose and from accelerated hepatic gluconeogenesis from amino acids derived from muscle protein. The ketoacidosis results from increased lipolysis in adipose tissue and accelerated fatty acid oxidation in liver. Hyperchylomicronemia results from low lipoprotein lipase activiry in adipose tissue capillaries, an enzyme dependent on insulin for its synthesis. Although insulin does not cure rype I diabetes, it markedly alters the clinical course. Insulin promotes glucose uptake and inhibits gluconeogenesis, lipolysis, and proteolysis. It is a difficult job to adjust the insulin dose to variable dietary intake and physical activity, the other major determinant of glucose disposal by muscle. Tight control of blood sugar requires several injections of insulin per day and close blood sugar monitoring by the patient, but it has now been proven to reduce the microvascular complications of diabetes (renal and retinal disease). Increasingly, patients with type I diabetes and renal failure are being treated by combined transplantation of a kidney and pancreas to provide an endogenous source of insulin. Islet cell transplantation remains largely experimental.

Atkinson,M . A., and MaclarenN, . K. The parhogenesoisf insulind ependent diaberems ellitusN. . EngIJ. . Med.33l:14281, 994;

Scanned with CamScanner

۱. تمامی مسیرهای زیر در کبد افراد مبتلا به دیابت نوع I نسبت به افراد سالم فعال تر می باشند **به استثنای:**

الف – گلوکونئوژنز

ب – کتوژنز

ج - گلیکولیز

د – لیپولیز

۲. تمامی عوامل زیرازعلل افزایش قند خون در دیابت نوع I می باشند **بجـــــز:**

الف – کاهش ورود گلوکز به عضلات

ب – کاهش ورود گلوکز به بافت چربی

ج - افزایش گلوکونئوژنز در کبد

د – افزایش تجزیه گلیکوژن در عضلات

۳. کدامیک از موارد زیر باعث بروز کتواسیدوز در دیابت نوع I می گردد

الف – کاهش گلوکونئوژنز در کبد

ب – کاهش اکسیداسیون اسید چرب در کبد

ج - افزایش گلیکولیز در کبد

د – افزایش لیپولیز در بافت چربی

۴. کدامیک از موارد زیر باعث افزایش شیلومیکرون و VLDL در خون فراد مبتلا به دیابت نوع I می گردد

الف – کاهش فعالیت لیپوپروتئین لیپاز

ب – افزایش سنتز اسید چرب در کبد

ج - کاهش گلیکولیز در کبد

د – کاهش لیپولیز در بافت چربی

Scanned with CamScanner

۲-۵-۱۰- متن زیر از کتاب بیوشیمی دولین (Devlin Textbook of Biochemistry, 7th edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه بخش های مربوط به دیابت، انتظار می رود بتوانید به سوالات ذیل پاسخ دهید. این مطالب در زمره بخش های ضروری در درس بیوشیمی هورمون ها محسوب می شوند.

Diabetes Mellitus, Type 2

Type 2 diabetes mellitus accounts for 80%-90% of the diagnosed Cases of diabetes. It usually occurs in middle-aged to older obese people and is characterized by hyperglycemia, often with hypertriglyceridemia and other features of the metabolic syndrome (see Clin. Corr.21.1, p. 840). The ketoacidosis characteristic of type I diabetes is usually not observed, although some patients can develop transient episodes of ketoacidosis. They tend to develop many of the same complications as type 1 diabetes patients (see Clin. Corr. 21.8, p. 868), that is, nerve, eye, kidney, and coronary artery disease. Increased levels of VLDL are probably the result of increased hepatic triacylglycerol synthesis stimulated by hyperglycemia and hyperinsulinemia. Insulin is present at normal to elevated levels in this form of the disease. Obesity often precedes the development of type 2 diabetes and is the major contributing factor. Obese patients are usually hyperinsulinemic and have high levels of free fatty acids, which impair insulin action. Recent data implicate increased levels of tumor necrosis factor α (TNF α) and resistin and reduced secretion of adiponectin by adipocytes of obese individuals as a cause of insulin resistance. The greater the adipose tissue mass, the greater the production of TNF α and resistin, which act to impair insulin receptor function. The higher the basal level of plasma insulin, the fewer receptors present on the plasma membranes of target cells, and there are defects within insulin-responsive cells at sites beyond the receptor, for example, the abiliry of insulin to recruit glucose transporters (GLUT4) from intracellular sites to the plasma membrane. As a consequence, insulin levels remain high, but glucose levels are poorly controlled. Even though the insulin level is high, it is not as high as in a person who is obese. In other words, there is a relative deficiency in the insulin supply from the pancreatic β cells. This disease is caused, therefore, not only by insulin resistance but also by impaired beta cell function resulting in relative insulin deficiency. Diet alone or bariatric surgery to induce weight loss can control the disease in the obese diabetic. If the patient can be motivated to lose weight, insulin receptors will increase in number, and the postreceptor abnormalities will improve, which will increase tissue sensitivity to insulin and glucose tolerance. There are now a multitude of medications that either sensitize peripheral tissue to insulin action (thiazolidinediones), reduce hpatic gluconeogenesis (metformin), or stimulate insulin secretion from beta cells (sulfonylureas), but ultimately many type 2 diabetes patients require exogenous insulin injections to control blood sugar. The most recent class of drugs to treat type 2 diabetes are based on the incretin effect, that is, the stimulation of beta cell growth and release of insulin caused by the gastrointestinal hormone incretin (also called glucagon-like peptide I or GLP-I). GLP-I and its analogs only augment glucose-stimulated insulin release which reduces the risk of hypoglycemia. GLP-I has a short plasma half-life because of degradation by dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). GLP-I analogs resistant to degradation, and inhibitors of DPP-4, which increase endogenous levels of GLP-1, are entering clinical practice.

Kahn,B . B.,a ndF lier,J . S.O besitya ndi nsulinr esistancfe .C lin.I nuest.106:473, 2000;

T rayhurn,P ., and Wood, I. S. AdipokinesI:n flammationa nd the pleiotropicr oleo f whitea diposeti sste.B rit.J . Nutr. 92:347,2004

Scanned with CamScanner

۵. اساس بیوشیمیایی عوارض دیابت نوع II و تفاوت برخی از آن عوارض با آنچه که در دیابت نوع I مشاهده می شود را شرح دهید.

۶. عوامل موثر در بروز مقاومت به انسولین را نام ببرید.

۷. مهار کدامیک از آنزیم های کبدی زیر در جهت کاهش قند خون در دیابت نوع II می باشد.

الف) Phosphoenolpyruvate carboxykinase

ب) Glycogen synthase

ج) Glucokinase

د) تمام آنزیم های فوق

۸. کدامیک از عوارض زیر در دیابت نوع II شایع است

الف) Diabetic ketoacidosis

ب) Hyperchylomicronemia

ج) Hypertriacylglycerolemia

د) Uncontrolled lipolysis

۹. افزایش سطح خونی کدامیک از موارد زیر در در هر دو نوع دیابت I و II شایع است

الف) beta-Hydroxybutyric acid

ب) Tumor necrosis factor alpha (TNF-α)

ج) VLDL

د) Resistin

۱۰. افزایش تولید تمامی موارد زیر در بافت چربی در افراد چاق مبتلا به مقاومت به انسولین مشاهده شده است **بجز:**

الف) Tumor necrosis factor-α

ب) Adiponectin

ج) Free fatty acids

د) Resistin

Scanned with CamScanner

۳-۵-۱۰-سوالات متفرقه

۱۱. گلوکاگون میزان تمامی پروتئین های زیر را در کبد افزایش می دهد بجز.

الف - PEPCK (Phosphoenolpyruvatecarboxykinase)

ب - Fatty acid synthase complex

ج - Glycogen phosphorylase

د - Pyruvate carboxylase

۱۲. به دنبال اتصال اپینفرین به گیرنده های خود در سلول های عضلات فعالیت (یا تعداد) تمامی پروتئین های زیر در این سلول ها افزایش می یابد بجز

الف - Adenylyl cyclase

ب -Gαs

ج- Protein Kinase A

د - Glycogen synthase

۱۳. در مواردی از یک بیماری خود ایمنی (Hashimoto's thyroditis) آنتی بادی بر علیه آنزیم تیروپراکسیداز در خون وجود دارد. کدامیک از واکنش های زیر در این بیماری مختل می گردد:

الف - I^- transport

ب -تبدیل T۴ به T۳

ج - تبدیل T۴ به rT۳

د - تبدیل Tyr به MIT

۱۴. در صورتی که انسولین به محیط کشت سلول های کبد اضافه شود در این صورت کدامیک از تغییرات زیر در این سلول ها مشاهده خواهد شد؟

الف - کاهش سرعت ورود سلول ها به فاز میتوز

ب - کاهش فعالیت آنزیم گلیکوژن سنتتاز

ج - افزایش فعالیت آنزیم های گلوکونئوژنز

د - افزایش فعالیت آنزیم گلوکو کیناز

Scanned with CamScanner

۱۵. تکنولوژی تولید آزمایشگاهی موش های ترانس ژنتیک امکان تولید موش هایی را فراهم ساخته است که در سلول های تیروئید آنها ژن سم وبا بیان گردد. انتظار دارید کدامیک از عوارض زیر در این موش ها مشاهده شود؟

الف – کاهش پروتئین Gαs-GTP

ب – افزایش شکل فعال پروتئین Gαi-GDP

ج – رشد بیش از حد غده تیروئید

د – کاهش سطح cAMP در سلول های تیروئید

۱۶. بیماری آدیسون (Addison's disease) بعلت ناتوانی غده آدرنال در ترشح میزان کافی گلوکوکورتیکوئیدها و مینرالوکورتیکوئیدها عارض می گردد. تمامی موارد زیر از عوارض بیماری آدیسون می باشند **باستثنای:**

الف - ضعف و کاهش وزن

ب ـ هیپوگلیسمی

ج- فشار خون پایین

د - مقاومت به انسولین

۱۷. فعالیت تمامی آنزیم های زیر تحت تاثیر کورتیزول افزایش می یابد باستثنای:

الف – پیروات کربوکسیلاز

ب – فسفوانول پیروات کربوکسی کیناز(PEPCK)

ج – لیپاز حساس به هورمون

د – پروتیین کیناز B

۱۸. در افراد مبتلا به عارضه مقاومت به هورمون های تیروئیدی (Thyroid hormone resistance) در نتیجه نوعی موتاسیون در ژن گیرنده های T3 تمایل این گیرنده ها به اتصال به لیگاند کاهش می یابد. به نظر شما کدامیک از عوارض زیر در افراد مبتلا بروز می نماید؟

الف- کاهش کلسترول در پلاسما

ب- گواتر goiter

ج- کاهش T3 و T4 در پلاسما

د- کاهش TSH در پلاسما

Scanned with CamScanner

۱۹. گیرنده های GHRH در سلول های سوماتوتروپ هیپوفیز پیشین به Gαs مرتبط می باشند. در بسیاری از موارد در بیماری اکرومگالی سلول های سوما توتروپ سرطانی بوده و بعلت یک موتاسیون، خاصیت GTPase زیر واحد αs در آنها مختل می باشد. بروز کدامیک از رویدادهای زیر در سلول های فوق به درستی پیش بینی می گردد.

الف - کاهش ترشح هورمون رشد

ب - افزایش غلظت cAMP

ج - افزایش میزان Gαs - GDP

د - کاهش فعالیت پروتئین کیناز A

۲۰. درکوتوله های نوع Laron-type dwarfism جهش در ژن گیرنده هورمون رشد گزارش شده است . بروز هر کدام از عوارض زیر در این افراد قابل پیش بینی است بجز:

الف- سطح سرمی پایین IGF-۱

ب- بروز حمله های هیپوگلیسمی

ج- غلظت پایین GH در خون

د- در حضور GH دیمر فعال STAT تشکیل نمی شود.

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	ج
۲	د
۳	د
۴	الف
۷	الف
۸	ج
۹	ج
۱۰	ب
۱۱	ب
۱۲	د
۱۳	د
۱۴	د
۱۵	ج
۱۶	د
۱۷	د
۱۸	ب
۱۹	ب
۲۰	الف

Scanned with CamScanner

۱۱

فصل یازدهم:

آنزیم شناسی بالینی

دکتر معصومه اکملی

پس از مطالعه این بخش انتظار می‌رود بتوانید:

- علل افزایش غلظت پلاسمایی آنزیم‌های غیراختصاصی پلاسما را شرح دهید.
- چند آنزیم که افزایش فعالیت آن‌ها در پلاسما در تشخیص سکته قلبی، بیماری‌های کبدی، ماهیچه‌ای و استخوانی ارزش تشخیص دارد را نام برده و ارزش تشخیص آن‌ها را شرح دهید.
- با ذکر دو مثال شرح دهید که چگونه تغییر فعالیت ایزوآنزیم‌ها در پلاسما، ارزش تشخیصی دارد.
- یک آنزیم اختصاصی پلاسما را که کاهش فعالیت آن در پلاسما ارزش تشخیص دارد را بدانید.
- مکانیسم‌های کنترل غلظت پلاسمایی کلسیم و فسفات را توضیح دهید.
- پیامدهای بالینی ناشی از کاهش و یا افزایش غلظت پلاسمایی کلسیم و فسفات و عناصر کمیاب (روی، مس، آهن و غیره) را بشناسید.
- مکانیسم جذب و دفع و انتقال آهن را دانسته و عوامل مؤثر در آن‌ها را بشناسید.

مقدمه:

آنزیم‌های پلاسمایی در دو دسته زیر قرار دارند.

۱. آنزیم‌های اختصاصی پلاسما (Plasma-specific) که دارای وظیفه و نقش خاصی در پلاسمای خون هستند و همیشه در گردش خون وجود دارند. آنزیم‌های کولین استراز کاذب (Pseudocholine estrase)، فرم‌های پیش ساز فاکتورهای انعقادی و لیپوپروتئین لیپاز (LPL) در این گروه جای دارند.

۲. آنزیم‌های غیراختصاصی پلاسما (Non-plasma specific) – که نقش و عملکرد خاصی را در گردش خون ایفاء نمی‌کنند. این آنزیم‌ها داخل سلولی هستند و در حالت طبیعی به مقدار کم و درنتیجه مرگ عادی(Turnover) سلول‌های بدن وارد خون می‌شوند. به دنبال آسیب‌های سلولی و بافتی ورود این دسته از آنزیم‌ها به گردش خون افزایش می‌یابد. لذا اندازه‌گیری میزان فعالیت آن‌ها می‌تواند در تشخیص ضایعات بافتی و تعیین شدت آسیب‌ها مفید باشد.

[مواردی مانند مرگ سلولی بر اثر کمبود اکسیژن (Hypoxia)، حضور ترکیبات سمی و تکثیر بیش‌ازحد سلولی (سرطان) موجب آزاد شدن آنزیم‌های خاصی در پلاسمای خون می‌گردد. همچنین مصرف بعضی از داروها مانند اتانل می‌تواند موجب القاء سنتز برخی از آنزیم‌های کبدی شده و نهایتاً غلظت پلاسمایی آن‌ها را افزایش دهد] مایعات بیولوژیکی که جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرند عبارت از خون، سرم (در بیشتر موارد) و پلاسما می‌باشند. در برخی موارد فعالیت آن‌ها در نمونه‌های بافتی نیز اندازه‌گیری می‌گردد. سطح فعالیت آنزیم‌های غیراختصاصی در پلاسما یا سرم می‌تواند وجود بیماری، نوع ارگان درگیر، شدت بیماری و روند بهبود بیماری را طی درمان نشان دهد. کاهش غیرطبیعی بعضی از آنزیم‌های اختصاصی سرم نیز می‌تواند نشانگر بیماری‌های خاصی باشد.

امروزه اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی در بیوشیمی بالینی جهت تشخیص بیماری‌ها کاربرد و اهمیت زیادی دارد. آنزیم‌های بالینی مهمی که به‌صورت جاری (routine) در آزمایشگاه‌ها جهت تشخیص بیماری‌ها اندازه‌گیری می‌شوند در جدول شماره ۱-۱۱ بعد آورده شده‌اند.

یک آنزیم می‌تواند به‌صورت ایزوآنزیم‌ها و یا ایزوفرم‌های مختلف وجود داشته باشد که از نظر توزیع بافتی (مغز، قلب، کبد و غیره) و یا جایگاه سلولی (سیتوزولی و میتوکندریایی) متفاوت باشند. این تفاوت در پلاسما نیز خود را نشان خواهد داد. در ادامه به بحث آنزیم‌های غیراختصاصی پلاسمایی پرداخته می‌شود.

۱-۱-۱۱ آسپارتات آمینوترانسفراز (Aspartate aminotransferase, AST)

یا گلوتامات اگزالواستات ترانس آمیناز (Glutamate Oxaloacetate Transaminase, sGOT)

AST کاتالیزور واکنش زیر یعنی انتقال گروه آمینی از اسید آسپارتیک (ASP) به آلفاکتوگلوتارات (α-KG) است.

$$ASP + \alpha - KG \quad \longleftrightarrow \quad Glu + OAA$$

آنزیم	منبع بافتی
آسپارتات آمینوترانسفراز (AST)	قلب – کبد – عضلات
آلانین آمینوترانسفراز (ALT)	کبد
لاکتات دهیدرژناز (LDH)	ماهیچه- کبد- قلب-اریتروسیت‌ها
آلکالین فسفاتاز (ALP)	استخوان – کبد – روده- جفت
کراتین فسفوکیناز (CPK)	ماهیچه – قلب – مغز
اسید فسفاتاز (ACP)	غده پروستات
آلفا آمیلاز (α-AMS)	غده بزاقی - پانکراس
لیپاز	پانکراس
گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)	کبد
نوکلئوتیداز (5′-NT)	کبد
آلدولاز ALD	کبد – قلب

جدول ۱-۱۱: آنزیم‌هایی که اندازه‌گیری آن‌ها از نظر بالینی اهمیت دارد

این آنزیم به مقدار زیاد در بافت‌های قلب، کبد و عضلات وجود دارد. لذا در بیماری‌های مربوطه به ضایعات ماهیچه‌ای، قلبی و کبدی فعالیت آن در پلاسما افزایش می‌یابد. بعد از وقوع سکته قلبی(Myocardial infarction, MI) در عرض ۱۲ – ۶ فعالیت آن در سرم افزایش می‌یابد که بعد از ۴۸ – ۲۴ ساعت به حداکثر رسیده و پس از ۶ – ۴ روز به حدود طبیعی برمی‌گردد. در بیماری‌های کبدی نیز فعالیت آنزیم در سرم زیاد می‌شود. این آنزیم دارای دو ایزوآنزیم سیتوزولی و میتوکندریایی است. لذا در آسیب‌های خفیف سلول‌های کبدی فرم سیتوزولی و در ضایعات شدید بافت کبد (سیروز کبدی) فرم میتوکندریایی آن نیز وارد جریان خون می‌شود.

۲-۱-۱۱ آلانین آمینوترانسفراز(Alanine aminotransferase, ALT) یا گلوتامات پیروات ترانس آمیناز

ALT (Glutamate Pyruvate Transaminase, sGPT) کاتالیزور واکنش زیر می‌باشد.

$$\text{L- Ala} + \alpha\text{-KG} \leftrightarrow \text{pyr} + \text{L- Glu}$$

آنزیم ALT به مقدار فراوان در بافت کبد وجود دارد و بیشتر به فرم سیتوزولی است.

★ لذا در تشخیص بیماری‌های کبدی بکار می‌رود. نسبت AST/ ALT نسبت دری تیس (De ritis) نامیده می شود در شرایط نرمال حدود ۱ می باشد. در آسیب های خفیف سلولهای کبدی ورود ALT (به مقدار بیشتر) و فرم سیتوزولی ترانس آمیناز AST به جریان خون افزایش می یابد اما در ضایعات شدید بافت کبدی (سیروز) فرم میتوکندریایی آنزیم (AST) نیز وارد جریان خون می شود. بنا براین در ضایعات حاد کبدی مانند هپاتیت ویروسی افزایش ALT بیشتر از AST می باشد لذا نسبت دری تیس کمتر از ۱ می شود ولی در MI و سیروز کبدی نسبت دری تیس بیشتر از

۱ می شود. همچنین در الکلیسم و هپاتیت الکلی (Alcoholic hepatitis) بعلت ضایعات شدید کبدی فعالیت AST بیشتر از ALT در سرم افزایش می یابد.

۳-۱-۱۱ لاکتات دهیدروژناز (Lactate dehydrogenase, LDH)

LDH کاتالیزور واکنش زیر است.

$$Pyr + NADH + H^{+} \rightleftharpoons Lactate + NAD^{+}$$

لاکتات دهیدروژناز آنزیم سیتوزولی است که در تمام سلول‌های بدن وجود دارد. منابع عمده این آنزیم بافت‌های قلب، کبد، عضلات اسکلتی، اریتروسیت‌ها و کلیه‌ها می‌باشند. LDH یک تترامر است و از دو نوع زیر واحد H و M تشکیل شده است. LDH دارای پنج ایزوآنزیم LD_1, LD_2, LD_3, LD_4 و LD_5 می‌باشد که منشأ بافتی مختلف دارند. LD_1 در سلول‌های عضله قلب وجود دارد و در جریان الکتروفورز بیشترین حرکت را به سمت آند دارد. LD_5 در بافت کبد وجود دارد و در الکتروفورز آهسته‌تر از بقیه ایزوآنزیم‌ها به سمت آند حرکت می‌کند. در ضایعات قلبی فعالیت LD_1 و در ضایعات کبدی فعالیت LD_5 در سرم افزایش می‌یابد. ایزوآنزیم‌های پلاسمایی از نوع LD_1 و LD_2 هستند. در سکته قلبی (MI) فعالیت آنزیم طی ۲۴ – ۱۲ ساعت بعد از وقوع سکته شروع به افزایش می‌نماید و ۷۲ – ۴۸ ساعت بعد به حداکثر فعالیت می‌رسد و تا ۱۴ – ۱۰ روز فعالیت آن در سرم بالا می‌ماند.

۴-۱-۱۱ کراتین فسفوکیناز (Creatine phosphokinase, CPK)

CPK کاتالیزور واکنش زیر است

$$Creatine + ATP \leftrightarrow Creatine\text{-}P + ADP$$

آنزیم CPK یک دیمر است که از دو نوع زیر واحد M (Muscle) و B (Brain) تشکیل شده است. این آنزیم به مقدار فراوان در عضلات اسکلتی، قلب و مغز وجود دارد. فرم‌های ایزوآنزیمی آن عبارتند از:

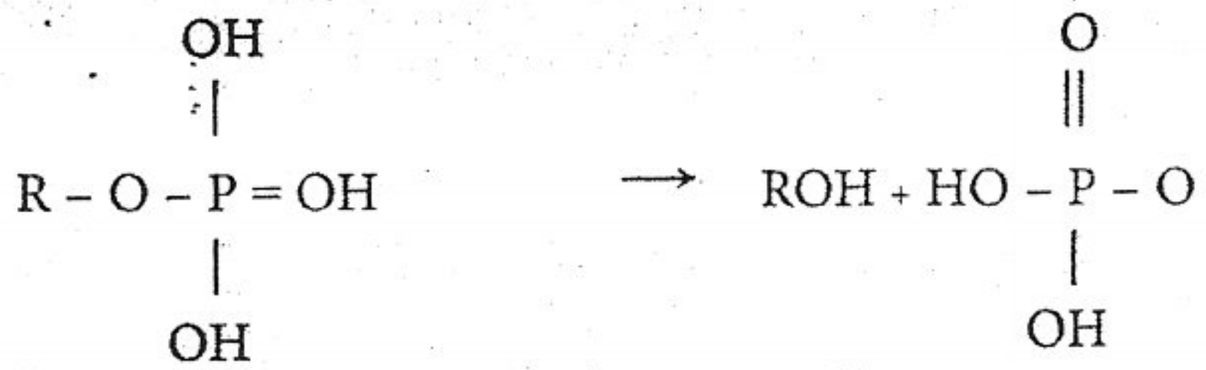
CPK_1	BB
CPK_2	MB
CPK_3	MM

فرم ۱ (مغزی، BB) بیشترین حرکت را در جریان الکتروفورز به سمت آند دارد. فرم ۳ (MM) به بیشترین مقدار در سلول‌های ماهیچه‌ای اسکلتی و قلب وجود دارد و ایزوآنزیم اصلی در پلاسما است. فرم MB در سلول‌های ماهیچه قلب وجود دارد.

اولین آنزیمی که پس از وقوع سکته قلبی افزایش می‌یابد CPK است. ۶ – ۳ ساعت بعد از وقوع MI فعالیت CPK در پلاسما نسبت به حدود طبیعی افزایش یافته، بعد از ۲۴ ساعت به حداکثر رسیده و پس از ۴ – ۳ روز به حدود طبیعی بازمی‌گردد؛ بنابراین اندازه‌گیری ایزوآنزیم MB در پلاسما جهت تشخیص سریع سکته‌های قلبی در مقایسه با آنزیم‌های

AST و LDH از اهمیت بیشتری برخوردار است. در بیماری‌های عضلانی مانند دیستروفی عضلانی یا سندروم دوشن (Duchene syndrome) فعالیت نوع MM (CPK_3) در پلاسمای خون زیاد می‌شود. همچنین فعالیت نوع BB (CPK1) در ضایعات مغزی، سکته مغزی و یا ضربه‌های مغزی در مایع مغزی نخاعی (CSF) افزایش می‌یابد. CPK می‌تواند به‌صورت ماکرومولکول همراه با ایمینوگلوبولین‌ها (CPK_3 + IgA یا CPK_1 + IgG) در خون دیده شود که نوع I (Macro CK type 1) نامیده می‌شود و بیشتر در زنان دیده می‌شود. فرم دیگری که نوع II (Macro CK type 2) گفته می‌شود فرم الیگومری از نوع میتوکندریایی است و در سرطان دیده می‌شود.

۵-۱-۱۱ آلکالین فسفاتاز (Alkaline phosphatase, ALP) آنزیم غشایی است که واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید.



ALP از گروه آنزیم‌های هیدرولاز است و استرهای منوفسفات را در pH قلیایی حدود ۱۰ هیدرولیز می‌کند. این آنزیم به‌وسیله یون‌های دو ظرفیتی مانند Mg^{2+} فعال می‌شود و توسط آنیون‌های اگزالات و فسفات غیرفعال می‌گردد. ALP دارای ایزوآنزیم‌های مختلف (کبدی، استخوانی، روده‌ای و جفتی) می‌باشد که بر اساس خواص مختلف آن‌ها می‌توان آن‌ها را از هم جدا نمود. مثلاً با روش الکتروفورز، تفاوت در مقاومت حرارتی و یا استفاده از ترکیبات مهارکننده از یکدیگر تشخیص داده می‌شوند. در جریان الکتروفورز به ترتیب سرعت، ایزوآنزیم‌های کبدی، استخوانی، جفت و روده‌ای به سمت آند حرکت می‌کنند. ایزوآنزیم جفتی که رگان (Regan) نامیده می‌شود بیشترین مقاومت حرارتی را در ۶۵°c دارد. ایزو آنزیم کبدی در ۵۵°c مقاومت بیشتری نسبت به نوع استخوانی دارد.

اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم جهت تشخیص و بررسی بیماری‌های انسدادی (Hepatobiliavy) کبد و استخوانی اهمیت دارد. میزان فعالیت ALP در سنین رشد (کودکان) در پلاسما زیاد است. همچنین در بیماری‌های استخوانی و انسداد مجاری صفراوی (Bile duct obstruction) فعالیت آن در پلاسما افزایش می‌یابد. ایزوآنزیم رگان در دوران بارداری و در سرطان سلول‌های جنسی در خون دیده می‌شود. در بیماری‌های پارانشیمی کبد (Hepatitis) فعالیت ALP نیز به میزان کمی افزایش می‌یابد.

۶-۱-۱۱ اسید فسفاتاز (Acid phosphatase, ACP)

ACP کاتالیزور واکنش هیدرولیز استرهای منوفسفات در pH اسیدی (۵-۴) است. این آنزیم به مقدار زیاد در سلول‌های اپی تلیال غده پروستات، اریتروسیت‌ها، طحال و مغز استخوان وجود دارد. اسید فسفاتاز موجود در سرم از غده پروستات و گلبول‌های قرمز منشأ می‌گیرد. فعالیت ACP در سرم آقایان بیشتر از خانم‌ها است که از غده

پروستات منشأ می‌گیرد. ایزوآنزیم پروستاتی به یون تارتارات حساس بوده و در حضور آن فعالیت آنزیم مهار می‌شود. لذا برای تشخیص سرطان پروستات فعالیت آنزیم در حضوروغیاب تارتارات اندازه‌گیری می‌شود. PSA (Prostate specific antigen) یک مارکر بهتری برای تشخیص سرطان غده پروستات است.

۷-۱-۱۱ آلفا – آمیلاز (α–AMY)

آنزیم آلفا – آمیلاز موجب هیدرولیز باند گلیکوزیدی در نشاسته می‌گردد که تولید مالتوز، دکسترین و مالتوز تریوز می‌نماید. منشأ آنزیم در پلاسما دستگاه گوارش است. دو ایزوآنزیم آلفا آمیلاز با منشأ بزاقی (S) و پانکراس (P) در پلاسما وجود دارد. پس از التهاب حاد لوزالمعده (Acute pancreatitis) فعالیت آنزیم در پلاسما افزایش می‌یابد و لذا اندازه‌گیری فعالیت این آنزیم در تشخیص التهاب حاد لوزالمعده کاربرد بالینی دارد. به دنبال پانکراتیت حاد فعالیت آمیلاز سرم در عرض ۱۲ – ۲ ساعت افزایش یافته و بعد از ۲۴ ساعت به حداکثر رسیده در عرض ۵ – ۳ روز به حدود طبیعی بازمی‌گردد. آمیلاز دارای وزن مولکولی پایین بوده (۴۰،۰۰۰ دالتون) که از گلومرول‌های کلیه عبور نموده و در ادرار یافت می‌شود. در نارسائی‌های کلیوی دفع آن کاهش یافته و میزان آن در سرم افزایش می‌یابد.

۸-۱-۱۱ لیپاز

آنزیم لیپاز در پانکراس ساخته می‌شود و باند استری در تری‌گلیسریدها (TG) را هیدرولیز می‌کند. لیپاز برای تشخیص پانکراتیت حاد شاخص بهتری نسبت به آمیلاز است. چون پایداری بیشتری نسبت به آمیلاز در سرم دارد. در تشخیص اختلالات پانکراس توصیه می‌گردد که هر دو آنزیم با هم اندازه‌گیری شوند.

۹-۱-۱۱ گاما گلوتامیل ترانسفراز (Gamma-glutamyltransferase, GGT)

GGT آنزیم متصل به غشاء پلاسمایی است که موجب انتقال بنیان گلوتامیل از گلوتاتیون به اسیدهای آمینه و یا پپتیدهای دیگری می‌شود. نقش اساسی آن در متابولیسم گلوتاتیون و انتقال اسیدهای آمینه از غشاء سلول است. GGT به مقدار زیاد در کلیه‌ها، کبد، ریه و پانکراس وجود دارد. کاربرد بالینی آنزیم بیشتر منحصر به ارزیابی اختلالات انسدادی کبدی – صفراوی است و ازاین‌جهت ویژگی بیشتری نسبت به ALP دارد. در بیماری‌های انسدادی کبدی (Obstructive Jaundice) و الکلسیم فعالیت آن در پلاسما افزایش می‌یابد. با مصرف برخی داروها مثل فنی توئین و فنوباربیتال فعالیت این آنزیم در پلاسما افزایش می‌یابد. اندازه‌گیری GGT برای تشخیص بیماری‌های کبدی از استخوانی؛ که ALP در هر دو افزایش می‌یابد مفید است.

۱۰-۱-۱۱ ۵′ – نوکلئوتیداز (۵′–nucleotidase, ۵′ – NT)

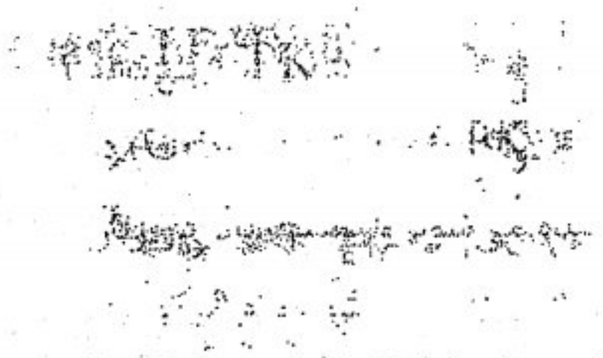
۵′ – NT فسفاتازی است که طبق واکنش زیر، موجب جدا شدن گروه فسفات از نوکلئوتیدها می‌گردد:

$$5' - AMP \longrightarrow Adenosine + Phosphate$$

نوکلئوتیداز آنزیم غشایی دیگری است که در بیماری‌های کبدی صفراوی همراه با ALP و GGT در پلاسما افـــزایش می‌یابد؛ بنـــابراین آنزیـــم‌های ALP، GGT و 5' – NT ارزش تشخیصی در بیماری‌های کبدی – مجاری صفراوی(Hepatobiliary) دارند.

۱۱-۱-۱۱ آلدولاز (ALD)

آلدولاز یک تترامر است که واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید:

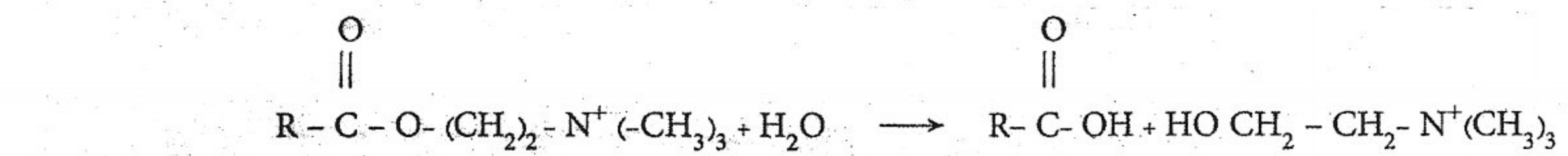


D-fructose 1,6-bisphosphate ⟶ Dihydroxyacetone phosphate + Glyceraldehyde 3-phosphate

ALD به مقدار زیاد در عضلات اسکلتی و کبد وجود دارد. فعالیت آن در بیماری‌های مربوط به تحلیل عضلات مانند دستروفی عضلانی (سندرم دوشن) در سرم افزایش می‌یابد. همچنین در اختلالات کبدی و قلبی (MI) نیز افزایش می‌یابد. در تشخیص تحلیل عضلانی اندازه‌گیری فعالیت ALD و CPK_3 (MM) در سرم اهمیت دارد.

۱۲-۱-۱۱ استیل کولین استراز (Cholinesterase, CHE)

آنزیم CHE واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید.



$$R - C(=O) - O - (CH_2)_2 - N^+(-CH_3)_3 + H_2O \longrightarrow R - C(=O) - OH + HO\,CH_2 - CH_2 - N^+(CH_3)_3$$

دو نوع آنزیم CHE وجود دارد یک نوع CHEI یا نوع حقیقی که در سیستم عصبی و اریتروسیت‌ها وجود دارد که استیل کولین را هیدرولیز می‌نماید. ($R = -CH_3$) و جایگاه عمل آن در سیناپس‌های عصب به عضله می‌باشد. نوع II آنزیم نوع کاذب یا Pseudocholinestrase است که در کبد سنتزمی شود و در پلاسما وجود دارد و سوبسترای آن دیگر استرهای کولین است؛ که R گروه‌های اکلیل یا آریل می‌باشد. فعالیت CHEII در موارد زیر در پلاسما کاهش می‌یابد.

۱- ترکیبات موسوم به ارگانوفسفات ها مانند ضد آفتهای نباتی و حشره کشها فعالیت آنزیم CHE را بطور برگشت ناپذیر مهار می نمایند. در موارد مسمومیت با این ترکیبات فعالیت این آنزیم در پلاسما کاهش می یابد. بنابراین اندازه گیری فعالیت این آنزیم در در تشخیص ومسمومیت با ارگانوفسفات ها برای بررسی وضعیت بیمار اهمیت دارد.

۲- اندازه‌گیری CHEII برای مشخص نمودن افرادی که از نظر ژنتیکی فرم موتانت CHEII را دارند نیز کاربرد دارد. در این افراد فرم جهش‌یافته آنزیم قادر به هیدرولیز سوکسینیل کولین نیست. سوکسنیل کولین به‌عنوان شل کننده عضلات هنگام جراحی مورداستفاده قرار می‌گیرد. در افرادی که دارای فرم جهش‌یافته هستند در صورت استفاده از این ترکیب، دچار وقفه تنفسی به مدت طولانی می‌شوند؛ زیرا قادر به هیدرولیز سوکسنیل کولین نیستند. کاهش فعالیت آنزیم‌ها در پلاسما در مورد بیماری‌های دیگری نیز ارزش تشخیص دارد. مثلاً کمبود گلوکز ۶- فسفات

دهیدروژناز G6PD و گالاکتوز ۱-فسفات یوریدیل ترانسفراز به ترتیب در بیماران مبتلابه فاویسم و یا گالاکتوزومی اندازه‌گیری می‌شوند. جهت تشخیص بهتر بیماری‌ها باید چندین آنزیم که شاخص بافت خاصی هستند اندازه‌گیری شوند. استفاده از ایزوآنزیم‌ها نیز به تشخیص ضایعات بافتی خاص کمک می‌کند.

۲-۱۱ متابولیسم مواد معدنی(Mineral Metabolism)

مواد معدنی از نظر مقداری شامل دو دسته «عناصر اصلی»(Macrominerals) و «عناصر کمیاب» (Trace elements) هستند.

عناصر اصلی که نیاز روزانه بیش از ۱۰۰ mg است. در این دسته به‌جز الکترولیت‌ها الکترولیت‌های مهم پلاسما (Cl^-, HCO_3^-, K^+, Na^+) ، عناصری مانند کلسیم، فسفات و منیزیم هستند. این عناصر به مقدار زیاد در بدن وجود دارند که بیشترین مقدار در بافت استخوانی وجود دارند. بافت استخوانی از دو قسمت تشکیل شده است.

۱. ماتریکس خارج سلولی (Extracellular matrix) که شامل دو قسمت آلی و معدنی است. فاز آلی که ۴۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد از کولاژن Type I، پروتئو گلیکان‌ها و ترکیبات دیگر تشکیل شده است. فاز معدنی که ۶۰ درصد آن را تشکیل می‌دهد از کریستال‌های فسفات کلسیم و هیدروکسی آپاتیت $Ca_{10}(PO4)_6(OH)_2$ تشکیل شده است.

۲. سلول‌های استخوانی: شامل سلول‌های استئوبلاست‌ها (osteoblasts)، استئوکلاست‌ها (osteoclasts) و استئوسیت‌ها (osteocytes) می‌باشند و به ترتیب در تشکیل سلول‌های استخوانی جدید تحلیل استخوان و تنظیم کلسیم هموستاز بدن نقش دارند.

۱-۲-۱۱ کلسیم:

- کاتیون دو ظرفیتی است که بیشتر در خارج سلول وجود دارد و ۲ درصد وزن بدن را تشکیل می‌دهد. در یک فرد ۷۰ کیلوگرمی حدود ۱/۳ کیلوگرم کلسیم وجود دارد که ۹۹ درصد آن در بافت‌های استخوانی، ۱ درصد داخل سلول‌ها و حدود ۰/۱ درصد در مایع خارج سلولی وجود دارد. در مایع خارج سلولی یا گردش خون کلسیم به سه فرم زیر وجود دارد.
- فرم یونیزه (Ca^{2+}) که ۵۰ درصد کلسیم خارج سلولی را تشکیل می‌دهد و تنها فرم دارای فعالیت بیولوژیکی است.
- متصل به پروتئین‌های پلاسما (۴۰ درصد) که قسمت بیشتر آن به آلبومین متصل است.
- متصل به آنیون‌ها (سیترات، فسفات، بیکربنات) (۱۰ درصد). کلسیم در بسیاری از پروسه‌های داخل و خارج سلولی مانند انتقال پیام‌های عصبی، انقباض عضلانی، انعقاد خون، فعال شدن آنزیم‌های هیدرولیز کننده و غیره نقش دارد. کلسیم داخل سلول به‌عنوان یک پیامبر ثانویه در فرایندهای سلولی نیز نقش دارد. میزان کلسیم موردنیاز روزانه ۱۰۰۰ میلی‌گرم است.

۲-۲-۱۱ فسفات:

در بدن میزان ۷۰۰ – ۵۰۰ گرم فسفات وجود دارد که ۸۵ درصد آن در استخوان‌ها، ۱۵ درصد در بافت‌های نرم (داخل سلول) و حدود ۱ درصد آن در خارج سلول وجود دارد. فسفات آنیون اصلی داخل سلولی است که هم به‌صورت آزاد (معدنی) و هم به‌صورت ترکیب و به‌صورت کمپلکس‌های آلی فسفات (آلی) وجود دارد. در مایع خارج سلولی (پلاسما) ۵۰ درصد آن به‌صورت آزاد، ۱۰ درصد متصل به پروتئین‌ها و ۳۵ درصد متصل به کاتیون‌های Na^+, Ca^{2+} و Mg^{2+} می‌باشد.

نقش بیولوژیکی:

ترکیباتی مانند ATP، فسفوانول پیروات و کراتین فسفات که فرم‌های ذخیره‌ای انرژی در بدن هستند فسفات را در ساختمان خود دارند. این ترکیبات دارای پیوندهای پرانرژی فسفات هستند. بعلاوه فسفات جزء ساختمانی ماکرو مولکول‌هایی مانند DNA، RNA نیز می‌باشد. فسفات به‌عنوان آنیون اصلی داخل سلولی نقش مهمی در تنظیم pH داخل سلول دارد. هورمون PTH نقش اصلی در تنظیم فسفات خون دارد.

تنظیم متابولیسم کلسیم و فسفات:

هورمون‌های مختلفی مانند PTH، کلسی تریول و کلسی تونین در تنظیم متابولیسم کلسیم و فسفات نقش دارند.

۱. **PTH**: پلی پپتید تک‌رشته‌ای است که دارای ۸۴ اسیدآمینه می‌باشد و توسط سلول‌های اصلی (chief cells) غده پاراتیروئید ساخته می‌شود. این هورمون از یک مولکول پیش ساز که مولکول بزرگ‌تر است ساخته می‌شود و در وزیکول‌های ترشحی ذخیره می‌گردد.

محرک اصلی ترشح هورمون PTH از وزیکول‌ها، کاهش غلظت کلسیم یونیزه (iCa^{2+}) است. پس از ترشح PTH به‌طور مستقیم بر بافت‌های هدف (استخوان و کلیه‌ها) و غیرمستقیم (روده) اثر می‌کند. PTH در استخوان‌ها موجب افزایش فعالیت استئوکلاست‌ها و آزادسازی کلسیم و فسفات در خون می‌شود. این هورمون در کلیه‌ها موجب باز جذب کلسیم و دفع فسفات در لوله‌های کلیوی می‌شود. همچنین در کلیه‌ها موجب تحریک سنتز فرم فعال Vit.D (Calcitrial) می‌شود و از این طریق موجب افزایش جذب کلسیم و فسفات در روده می‌شود.

اثر کلی PTH افزایش غلظت کلسیم یونیزه و کاهش فسفات سرم می‌باشد.

۲. **ویتامین D (Cholecalciferal)**

ویتامین D از طریق منابع غذایی وارد بدن می‌شود و یا در زیرپوست تحت تأثیر اشعه UV از 7.dehydrocholesteral ساخته می‌شود. Vit D بر اساس واکنش‌های زیر در کبد و کلیه‌ها به فرم فعال درمی‌آید.

7-Dehydrocholesterol ⟶ (کلیه) 25-OH Vit.D ⟶ (۱- هیدروکسیلاز کبد) Calcitriol

۱- هیدروکسیلاز توسط PTH فعال می‌شود.

کلسی تریول در سلول‌های مخاطی زوده موجب افزایش جذب روده‌ای کلسیم و فسفات می‌شود. در کلیه‌ها فرم فعال ویتامین Dموجب افزایش باز جذب کلسیم و فسفات در لوله‌های کلیوی می‌شود. این هورمون موجب افزایش رهاسازی کلسیم و فسفات از سلول‌های استخوانی می‌شود؛ بنابراین اثر کلی کلسی تریول افزایش غلظت کلسیم یونیزه و فسفات پلاسما می‌باشد.

۳. کلسی تونین(calcitonin):

یک‌رشته پلی پپتیدی دارای ۳۲ اسیدآمینه است که توسط سلول‌های C غده تیروئید ساخته می‌شود و در پاسخ به غلظت بالای کلسیم یونیزه ترشح می‌شود.

هورمون کلسی تونین موجب مهار فعالیت استئوکلاست‌ها و درنتیجه موجب کاهش رهاسازی Ca^{2+} و فسفات از استخوان‌ها به پلاسما می‌شود. همچنین در کلیه‌ها موجب افزایش دفع کلیوی کلسیم و فسفات می‌شود؛ بنابراین اثر کلی این هورمون کاهش غلظت کلسیم یونیزه و فسفات پلاسما است.

موارد تغییرات کلسیم یونیزه سرم:

کاهش کلسیم سرم (Hypocalcemia) در حالات زیر دیده می‌شود.

۱. کاهش پروتئین‌های سرم (hypoalbuminemia)

۲. نارسایی‌های پیشرفته کلیه‌ها (Chronic renal Failure) که با کاهش دفع فسفات موجب کم شدن Ca^{2+} سرم می‌شود.

۳. کمبود Mg پلاسما – منیزیوم موجب تحریک ترشح PTH می‌شود.

۴. کم‌کاری غده پاراتیروئید(Hypoparthyroidism)

۵. Pseudohypoparathyroidism (ترشح PTH طبیعی است) ولی عملکرد ندارد.

۶. کمبود Vit. D (راشیتیسم و استئومالاسی)

افزایش کلسیم سرم(Hypercalcemia) در موارد زیر دیده می‌شود.

۱. Hyperparathyroidism اولیه و ثانویه

۲. مسمومیت با ویتامین D3 و مصرف زیاد شیر در شرایط قلیایی (Milk – alkali syndrome) موجب افزایش جذب روده‌ای کلسیم می‌گردد.

۳. وجود تومور در غده پاراتیروئید.

۳-۲-۱۱ منیزیوم (Mg^{2+})

از نظر فراوانی Mg^{2+} چهارمین کاتیون اصلی در بدن و دومین کاتیون داخل سلول است. میزان منیزیوم بدن حدود ۲۵ گرم است که ۵۵ درصد آن در استخوان‌ها و بقیه در عضلات و سایر بافت‌هاست. در داخل سلول Mg^{2+} به پروتئین‌ها و ATP متصل است. در خارج سلول (خون) منیزیوم به صورت‌های آزاد (۵۵ درصد)، متصل به پروتئین‌ها (۳۰ درصد) و متصل به آنیون‌ها (سیترات، فسفات و...)، (۱۵ درصد) وجود دارد. منیزیوم در ترشح PTH و آزادسازی نوروترانسمیترها نقش دارد. کاهش غلظت منیزیوم موجب پایین آمدن آستانه تحریک نورون‌ها می‌گردد. Mg^{2+} به‌عنوان کوفاکتورآنزیم‌های Kinase نیز عمل می‌نماید.

۴-۲-۱۱ عناصر کمیاب(Trace elements)

به مقدار کم در بدن وجود دارند و برحسب مقدار موردنیاز و یا غلظت پلاسمایی دو دسته‌اند.

۱. Trace elements: مقدار موردنیاز روزانه در حد mg/day و غلظت پلاسمایی آن‌ها در حدود µg/ dl است؛ مانند Cu و Zn.

۲. Ultra trace elements: مقدار نیاز روزانه در حد µg/day و غلظت پلاسمایی آن‌ها در حد ng/dl است مانند (Cr, Se, Co).

آهن (Fe):

فراوان‌ترین عنصر کمیاب بدن است. ۲/۳ آهن موجود در بدن در ساختمان Hb و ۱/۳ آن در ذخائر آهن بدن (فریتین) و پروتئین‌های دیگر دارای آهن مانند Mb و آنزیم‌های زنجیره انتقال الکترون است. روزانه برای تشکیل طبیعی سلول‌های خونی ۲۵ - ۲۰ میلی‌گرم آهن موردنیاز است که قسمت اعظم آن از تجزیه گلبول‌های قرمز (RbC) به دست می‌آید. جذب روزانه آهن حدود ۱mg است که برای جبران دفع روزانه آن است. جذب آهن در خانم‌ها (۱/۵ mg/day - ۱) به دلیل دفع ۴۰ - ۳۰ میلی‌گرم در ماه، بیشتر از آقایان (۱ mg/day) می‌باشد. در دوران کودکی، بلوغ و زنان باردار میزان نیاز روزانه بیشتر است. جایگاه ذخیره آهن کبد، طحال و مغز استخوان است. پروتئین‌های دارای آهن دو دسته‌اند.

۱. پروتئین‌های دارای Heme شامل Mb, Hb، کاتالاز، پراکسیداز و سیتوکروم‌های زنجیره انتقال الکترون

۲. پروتئین‌های غیر Heme، شامل ترانسفرین (ناقل آهن)، فریتین، هموسیدرین (فرم‌های ذخیره آهن) و پروتئین‌های دارای آهن در زنجیره انتقال الکترون (پروتئین‌های سولفور- آهن). پروتئین‌های دارای Heme به علت وجود آهن ۲ ظرفیتی جذب بهتری در مقایسه با پروتئین‌های غیر Heme (آهن سه ظرفیتی) در روده دارند.

پس از جذب آهن دو ظرفیتی در سلول‌های مخاطی روده به‌صورت ۳ ظرفیتی

درمی‌آید و ممکن است در همان‌جا به‌صورت فریتین ذخیره گردد و به جریان خون وارد شود. در پلاسما به‌صورت Fe^{3+} توسط ترانسفرین حمل می‌شود. هر مولکول ترانسفرین ۲ اتم آهن را متصل می‌کند. توانایی یا ظرفیت اتصال آهن به ترانسفرین (Total iron binding capacity, TIBC) نامیده می‌شود که این ظرفیت در حالت طبیعی حدود ۳۰ درصد است. در کمبود شدید آهن، جذب روده‌ای و TIBC هر دو افزایش می‌یابد. آهن متصل به ترانسفرین از طریق گیرنده‌های آن وارد سلول‌های خونی و مغز استخوان می‌شود و بعد از تبدیل‌شدن به Fe^{2+} مورداستفاده قرار می‌گیرد. مازاد آهن به فرم فریتین در کبد و بافت‌های دیگر ذخیره می‌شود. فریتین یک مولکول کروی دارای ۲۴ زیر واحد است و دارای ۴۰۰۰ - ۲۰۰۰ یون Fe^{3+} است. مقدار فریتین نشانگر مقدار آهن در بدن است. در کمبود آهن مقدار فریتین سرم کاهش می‌یابد و در صورت افزایش برعکس است.

جذب زیاد آهن در روده موجب افزایش ظرفیت ذخیره‌ای فریتین و درنتیجه دناتوره شدن آن می‌گردد که منجر به از دست دادن بخشی از پروتئین خود می‌شود. هموسیدرین تجمعی از مولکول‌های پروتئین است که بخشی از پروتئین خود را ازدست‌داده است؛ بنابراین زیادی آهن به‌صورت Hemosiderosis رسوب می‌نماید. هنگام نیاز به آهن، یون‌های Fe^{3+} از فریتین جدا و توسط ترانسفرین به RBC ها منتقل می‌شود. کمبود آهن تولید کم‌خونی Hypochromic microcytic می‌نماید؛ که در آن آهن سرم، فریتین بافتی و سرم پایین می‌آید و TIBC افزایش می‌یابد. کمبود آهن را با تجویز خوراکی سولفات آهن دو ظرفیتی (Ferrous sulfate) می‌توان درمان نمود.

افزایش بیش‌ازحد آهن (Iron overload) در موارد زیر دیده می‌شود.

۱. Hemosidrosis، تجمع آهن در بافت‌ها بخصوص مغز استخوان، ماکروفاژها، کبد و طحال است که بدون آسیب بافتی است.

۲. Hemochromatosis، تجمع آهن در بافت‌هایی مانند کبد و یا سلول‌های عضله قلب همراه با آسیب‌های بافتی است.

۳. افزایش زیاد آهن در شرایطی مانند تجزیه زیاد RBC ها (Hemolytic anemia) و یا جذب زیاد آهن وجود دارد.

کرم (Cr):

کرم به‌صورت Cr^{3+} و یا Cr^{6+} وجود دارد. Cr^{6+} یک اکسیدان قوی است و ایجاد ضایعات بافتی می‌کند. Cr^{3+} موجب تقویت فعالیت انسولین می‌شود. کمبود شدید Cr در موش‌های آزمایشگاهی موجب اختلال در رشد و کم شدن طول عمر آن‌ها می‌شود.

کبالت (Co):

در ساختمان $Vit.B_{12}$ وجود دارد. فرمهای کوآنزیمی آن در تشکیل و تکامل گلبول‌های قرمز و متابولیسم اسیدهای چرب با تعداد فرد کربن نقش دارد.

مولیبدان (Mo):

برای فعالیت آنزیم xanthine oxidase لازم است.

منگنز (Mn):

به‌عنوان کوفاکتور در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و چربی‌ها، تشکیل بافت پیوندی و استخوان‌ها و رشد و تولیدمثل نقش دارد. کمبود آن منجر به اختلال در رشد و تولیدمثل، عدم تحمل گلوکز و ناهنجاری‌های استخوانی می‌شود.

سلنیم (Se):

در پروتئین‌ها به‌صورت سلنوسیستئین وجود دارد که جایگزین سولفور در Cys می‌شود. سلنیم در ساختمان گلوتاتیون پراکسیداز و Thyroxine-Deiodinase نقش دارد. کمبود آن در تولید T3 از T4 اختلال ایجاد می‌کند.

فلوراید (F):

فلوراید در حوزه حفظ بهداشت عمومی و از نظر فارماکولوژیک برای جلوگیری از پوسیدگی دندان‌ها (Dental decay) حائز اهمیت است. F می‌تواند بجای OH در ساختار هیدروکسی آپاتیت قرار بگیرد که موجب استحکام استخوان و دندان‌ها می‌شود.

مس (Cu):

بدو صورت Cu^{1+} و Cu^{2+} در ساختمان تعدادی از پروتئین‌ها وجود دارد. سرولوپلاسمین، پروتئینی است که در کبد ساخته می‌شود و ۹۵ درصد مس پلاسما در ساختمان آن وجود دارد. البومین ناقل اصلی مس در پلاسما است مس پس از جذب در روده توسط آلبومین به کبد منتقل می‌شود و در ساختمان Cuproenzymes و یا پروتئین‌های دیگر قرار می‌گیرد. بعضی از آنزیم‌هایی که در ساختمان آن‌ها مس وجود دارد عبارتند از:

- Lysyl oxidase در تشکیل کولاژن طبیعی نقش دارد.
- Cu-Zn superoxide dismutase (Cu-Zn SOD)، از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است.
- سیتوکروم اکسیداز در زنجیره انتقال الکترون و در سنتز ATP نقش دارد.
- Tyrosinase، در تشکیل ملانین (رنگ‌دانه پوست و مو) نقش دارد.
- دوپامین - بتا هیدروکسیلاز، در تشکیل کاتکول آمین‌ها نقش دارد.

کمبود ارثی سرولوپلاسمین موجب تجمع مس در بافت‌های بدن می‌شود و ایجاد ضایعات کبدی و عصبی (neurodegenerative) می‌کند.

کمبود مس ایجاد کم‌خونی هیپوکرومیک - میکروستیک می‌نماید. سرولوپلاسمین خاصیت فرواکسیدازی دارد ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) و در انتقال آهن به ترانسفرین نقش دارد. از دیگر عوارض کمبود مس - استئوپروز (پوکی استخوان) و اختلال در تشکیل ملانین در پوست و مو (Depigmentation) می‌باشد.

روی (Zn یا Zinc):

بعد از آهن دومین عنصر کمیاب است که در سیتوپلاسم وجود دارد، Zn در ساختمان متالو آنزیم‌های زیر وجود دارد.

Carbonic anhydrase, Carboxy peptidase, ALP, RNA polymerase, DNA polymerose, Alcohol dehydrogenase.

روی در رشد و تکثیر سلولی نقش دارد و موجب بیان ژن و سنتز پروتئین می‌شود. ۸۰ درصد روی در پلاسما توسط آلبومین و بقیه توسط α_2-macroglobulin منتقل می‌شود. درصد کمی به اسیدهای آمینه‌ای مانند Cys و His متصل می‌شود که توسط سلول‌ها به همین صورت گرفته می‌شود. غلظت روی در سرم و یا مو اندازه‌گیری می‌شود.

کمبود روی ایجاد عوارضی مانند کم‌خونی، اختلال در رشد، کوتاهی قد، ریزش مو و کاهش فعالیت غدد جنسی می‌گردد.

۳-۱۱ سؤالات چند گزینه ای

۱- برای فعالیت آنزیم های کیناز وجود کدامیک از عناصر زیر لازم است.

الف- مس ب- کرم

ج- سلنیم د- منگنز ه- منیزیوم

۲- فعالیت سرمی آنزیم Cholinestrease II(CHE) در کدامیک از موارد زیرنسبت به حدود طبیعی کاهش می یابد.

الف- دیستروفی عضلانی

ب- سکته قلبی

ج- بیماری استخوانی

د - درمسمومیت باترکیبات Organopohsphate

ه- سکته مغزی

۳- درساختمان کدامیک از پروتئین های زیر Cu وجود دارد.

الف- Lysyl oxidase ب- Transferrin

ج- Carbonic anhydrase د- Catalase

۴- کدامیک از هورمونهای زیر دفع کلیوی فسفات را افزایش می دهد.

الف- PTH ب- Calcitriol

ج- Calcitonin د- موارد الف + خ

کلید سئوالات:

۱- ه

۲- د

۳- الف

۴-د

۱۲

فصل دوازدهم:

لیپوپروتئین‌های پلاسما و تصلب شرایین

دکتر علی اکبر اوجی

پس از مطالعه این فصل انتظار می‌رود بتوانید:

- اهمیت زیستی لیپوپروتیین ها و نقش آنها در جلوگیری از ایجاد امبولی چربی را ا شرح دهید
- ساختار بیوشیمیایی لیپوپروتیین ها را توضیح دهید.
- اساس طبقه بندی لیپوپروتیین ها را ذکر کنید.
- نقش شیلومیکرون در انتقال مواد چربی غذایی به خون و سرنوشت آن را توضیح دهید.
- نقش VLDL در انتقال مواد چربی کبدی به خون و سرنوشت آن را توضیح دهید.
- نقش زیستی HDL و پدیده انتقال معکوس کلسترول را شرح دهید.
- بیماری های دیس لیپیدمی را از نظر چگونگی تغییرات طرح لیپیدی پلاسما در آنها و ناهنجاری های ژنتیکی شناخته شده موجد آنها توضیح دهید.
- یک مورد از بیماری های کبد چرب را از نظر علائم و سبب شناسی توضیح دهید.
- نقش اندوتلیوم آسیب دیده، لیپوپروتئین های اکسید شده و واکنش های التهابی را در ایجاد پلاک های تصلب شرایین شرح دهید.
- روش های آزمایشگاهی برای ارزیابی شانس ابتلا به تصلب شرایین را ذکر کنید.

Scanned with CamScanner

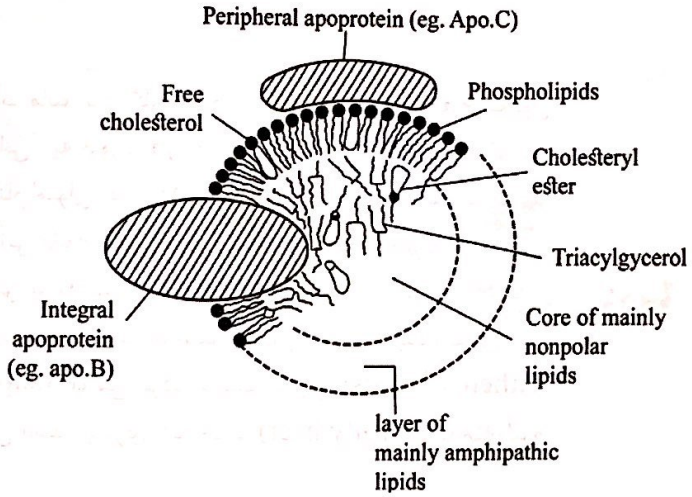
مقدمه

مواد چربی نامحلول در آب مانند تری گلیسریدها، کلسترول و ویتامین های محلول در چربی در صورت راه یابی، به صورت فاز جداگانه چربی در خون حرکت کرده و ایجاد وضعیت خطرناکی بنام امبولی چربی (Fat embolism) می نمایند. به منظور نقل و انتقال ایمن در فاز آبی مایعات بدن (خون، لنف و آب میان بافتی)، مواد چربی به صورت ذرات لیپوپروتئین بسته بندی شده و به این شکل در فاز آبی مایعات بدن امکان تردد ایمن را می یابند. اختلال در متابولیزم لیپوپروتئین‌ها سبب بیماری های دیس لیپیدمیا (Dyslipidemia) می گردد. تصلب شرایین (Atherosclerosis) در زمره این بیماری ها می باشد. بیماری کبد چرب (Fatty liver) نیز با متابولیزم لیپوپروتئین‌هامرتبط است.

۱-۱۲ لیپوپروتئین‌ها

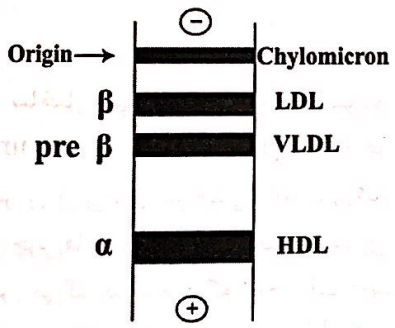
ساختار کلی لیپوپروتئین‌ها: لیپوپروتئین‌ها ذرات میکروسکوپی به قطر تقریبی ۵-۱۲۰۰nm می‌باشند (شکل ۱ـ۱۲). هر ذره لیپوپروتئین به‌صورت کره‌ای است که در آن چربی‌های غیر قطبی مانند تری‌گلیسیریدها و استر کلسترول در ناحیه مرکزی و چربی‌های آمفی پاتیک مانند کلسترول آزاد و فسفولیپیدها در ناحیه قشری کره قرار می‌گیرند. به‌نحوی‌که نواحی آب دوست مولکول‌های آمفی پاتیک با آب محیط اطراف تعامل ایجاد نموده و نواحی آب‌گریز آن‌ها در ناحیه مرکزی قرارگرفته و از آب پنهان می‌گردند. به‌این‌ترتیب ذرات لیپوپروتئینی از پایداری ترمودینامیکی برخوردار شده و امکان الحاق آن‌ها به یکدیگر منتفی می‌گردد. علاوه بر چربی‌های آمفی پاتیک مولکول‌های پروتئینی ویژه‌ای به نام اپوپروتئین‌ها (Apoproteins) نیز در ساختمان لیپوپروتئین‌ها وجود دارند که به پایداری ذره لیپوپروتئین کمک می‌نمایند. به این صورت که نواحی از زنجیره پلی پپتیدی آن‌ها که بیشتر از اسیدهای آمینه غیر قطبی (اسیدهای آمینه دارای R غیر قطبی) تشکیل‌شده در نواحی مرکزی ذره قرار گرفته و با چربی‌های غیر قطبی تعامل ایجاد می‌نمایند و نواحی از زنجیره پلی پپتیدی که بیشتر از اسیدهای آمینه قطبی تشکیل شده‌اند در سطح ذره قرار گرفته و با آب محیط اطراف تعامل ایجاد می‌کنند. آپوپروتئین‌ها انواع مختلفی دارند که با حروف بزرگ لاتین نمایش داده می‌شوند. (apoA, apoB, apoC, apoE) آپوپروتئین‌ها علاوه بر شرکت در پایداری لیپوپروتئین‌ها دارای نقش‌های بیوشیمیایی دیگری هم هستند. بعضی از آپوپروتئین‌ها مانند apoC به‌عنوان کوفاکتور پروتئینی بعضی آنزیم‌های شرکت‌کننده در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها عمل می‌نمایند. برخی دیگر مانند apoE و apoB100 دارای گیرنده‌های خاص خود در سطح سلول‌های بدن بوده و به واسطه همین گیرنده‌ها لیپوپروتئین‌ها جذب سلول‌های بدن می‌گردند.

Scanned with CamScanner



شکل ۱ـ۱۲ ساختمان فرضی یک ذره لیپوپروتئین

تقسیم‌بندی لیپوپروتئین‌ها: در ابتدا بر اساس دانسیته و سرعت ته‌نشین شدن آن‌ها در جریان اولترا سانتریفیوژ انجام شد. چون دسته‌های مختلف لیپوپروتئین‌ها از نظر نسبت پروتئین به چربی متفاوت هستند بنابراین هر چه نسبت پروتئین به چربی یک لیپوپروتئین بیشتر باشد دانسیته آن بیشتر بوده و سریع‌تر ته‌نشین می‌شود (جدول ۱-۱۲).



شکل ۲-۱۲: الکتروفوروگرام لیپوپروتئین‌های پلاسما

لیپوپروتئین‌ها بر اساس رفتار آن‌ها در جریان الکتروفورز نیز تقسیم‌بندی می‌شوند (شکل ۲-۱۲). هنگامی‌که مخلوط لیپوپروتئین‌های پلاسما بر روی نوار استات سلولز قرار داده شود و روش الکتروفورز در pH قلیایی انجام بگیرد، در این صورت HDL سریع‌تر از سایرین به سمت قطب مثبت مهاجرت نموده و در ناحیه‌ای موسوم به آلفا قرار می‌گیرد. در مراتب بعد به ترتیب VLDL (در ناحیه pre β) و

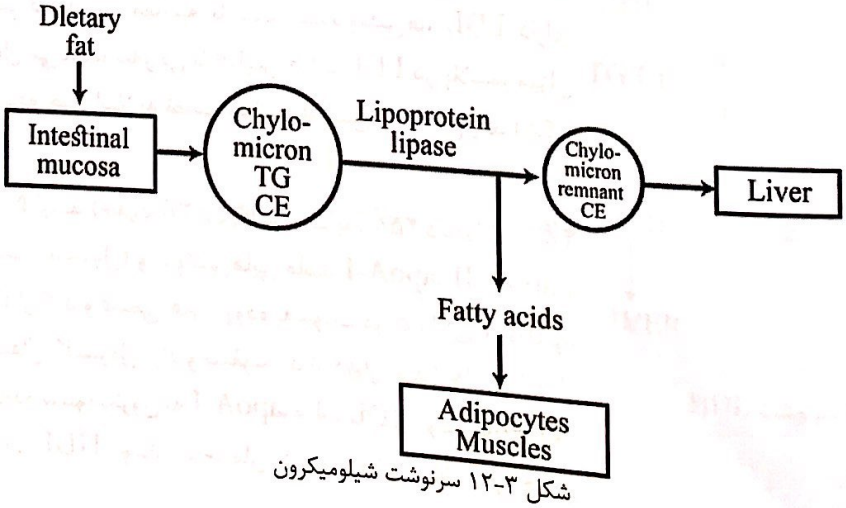
جدول ۱-۱۲ تقسیم بندی لیپوپروتئین های پلاسما

Lipoprotein	Density range (g/ml)	Size range (nm)	Major lipids	Electrophoretic mobility	Apoproteins	
					Major	Some other
Chylomicron	<۰.۹۴	۷۵-۱۲۰۰	Triglyceride	(origin)	B-۴۸	C-I, CII CIII, E
Very Low density (VLDL)	۰.۹۴-۱.۰۰۶	۳۰-۸۰	Triglyceride	Pre -β	B-۱۰۰	C-I, CII CIII, E
Intermediate Density (IDL)	۱.۰۰۶-۱.۰۱۹	۲۵-۳۵	Triglyceride and cholesteryl esters	Slow Pre-β	B-۱۰۰	C-I, CII CIII, E
Low density (LDL)	۱.۰۱۹-۱.۰۶۳	۱۸-۲۵	cholesteryl esters	β	B-۱۰۰	
High density (HDL)	۱.۰۶۳-۱.۲۱	۵-۱۲	Phospholipids and cholesterol	α_1	A-I	A-II, E, CIII

Scanned with CamScanner

LDL (در ناحیه β) قرار می‌گیرند. شیلومیکرون حرکت چشمگیری نداشته و معمولاً در محل نمونه گذاری باقی می‌ماند. ذیلا سرنوشت و نقش زیستی لیپوپروتئین های اصلی پلاسما شرح داده شده اند.

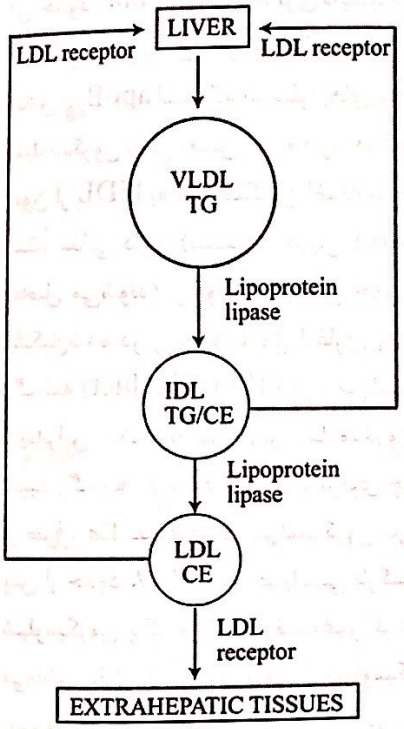
شیلومیکرون (Chylomicrons): از همه لیپوپروتئین‌ها سبک‌تر و میزان چربی آن حدود ٪۹۸ است (٪۸۶ تری‌گلیسیرید و مابقی چربی‌هایی مانند استر کلسترول، فسفولیپید و ویتامین‌های محلول در چربی). بخش مهمی از حدود ٪۲ پروتئین آن شامل $apoB_{48}$ است که در سلول‌های مخاطی روده ساخته شده و در تکوین و ترشح شیلومیکرون نقش تعیین‌کننده دارد. دو آپوپروتیئن apoC-II و apoE نیز در جریان خون از HDL به شیلومیکرون اضافه می‌شوند. شیلومیکرون مواد چربی را که عمدتاً منشأ غذایی دارند (بیشتر از جریان reesterification در سلول‌های مخاطی روده حاصل می‌شوند) از روده به جریان خون منتقل می‌نماید. درواقع شیلومیکرون‌های تشکیل‌شده در روده به عروق لنفاوی ریز روده ترشح‌شده و از آنجا به بزرگ سپید رگ تنه (Thoracic duct) وارد می‌شوند. ذرات شیلومیکرون نور را منعکس نموده و بنابراین رنگ مایعات حاوی شیلومیکرون شیری است. ذرات شیلومیکرون از بزرگ سپید رگ تنه به سیاهرگ تحت ترقوی چپ وارد می‌شوند. در حدود پنج ساعت پس از صرف غذا تعداد ذرات شیلومیکرون در جریان خون به حداکثر رسیده و متعاقباً پس از حدود ۸ ساعت به حدپایینی بازگشت نموده و پس از۱۲ ساعت خون از ذرات شیلومیکرون پاک می‌گردد. نیمه‌عمر هر ذره شیلومیکرون در خون حدود ده دقیقه می‌باشد. علت پاک شدن خون از شیلومیکرون وجود یک عامل پاک‌کننده (Clearing Factor) به نام لیپوپروتئین لیپاز (Lipoprotein lipase) می‌باشد. این آنزیم در جداره مویرگ‌ها لنگر انداخته و واکنش تبدیل تری‌گلیسریدهای موجود در شیلومیکرون به گلیسرول و اسید چرب را کاتالیز می‌نماید. اسیدهای چرب حاصله در pH کمی قلیایی خون (۷.۲ – ۷.۴) به‌صورت $RCOO^-$ (صابون) درآمده و می‌توانند به غشاء سلول‌ها آسیب برسانند، بنابراین اسیدهای چرب آزاد به آلبومین متصل می‌شوند تا بتوانند بدون زیان در جریان خون گردش نموده و پس از جدایی از آلبومین به بافت‌هایی نظیر قلب، عضله و چربی وارد می‌شوند. apoC-II به‌عنوان



شکل ۳-۱۲ سرنوشت شیلومیکرون

Scanned with CamScanner

کوفاکتور پروتئینی لیپوپروتئین لیپاز عمل می‌نماید. تحت تأثیر لیپوپروتئین لیپاز شیلومیکرون از بار تری‌گلیسیریدی خود تا حدود زیادی تهی شده و به ذره کوچک‌تری بنام جزء باقیمانده شیلومیکرون (Chylomicron remnant) تبدیل می‌گردد. این ذره دارای apoE بوده و لذا به گیرنده‌های apoE واقع در سطح سلول‌های کبد (عمدتاً) و یا برخی سلول‌های دیگر بدن متصل شده و بدین‌وسیله استر کلسترول، فسفولیپیدها و ویتامین‌های محلول در چربی غذا به کبد وارد می‌گردند. (شکل ۳-۱۲)



شکل ۴-۱۲: سرنوشت VLDL و LDL

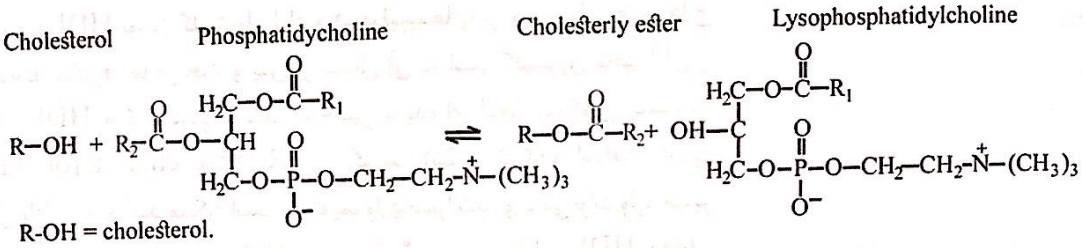
VLDL: حاوی تقریباً ۹۰٪ چربی است (۵۵٪ تری‌گلیسرید و مابقی چربی‌هایی نظیر فسفولیپید و استر کلسترول). پروتئین‌های آن شامل apoB100 و apoC-II است. apoC-II در جریان خون از HDL به VLDL اضافه می‌گردد اما apoB100 در کبد سنتز شده و دارای نقش اساسی در تکوین و ترشح VLDL است. apoB100 و $apoB_{48}$ دارای یک ژن واحد بوده که یک mRNA واحد حاصل انجام روندهای نسخه‌برداری از روی آن ژن می‌باشد. در سلول‌های مخاطی روده یک تغییر جزئی بر روی این mRNA ایجاد می‌شود به‌نحوی‌که حاصل جریان ترجمه آن پلی پپتیدی ($apoB_{48}$) است که تنها ۴۸٪ اسیدهای آمینه apoB100 را دارا می‌باشد. نقش VLDL انتقال مواد چربی ساخته‌شده در کبد به جریان خون می‌باشد. این مواد شامل تری‌گلیسیریدهایی هستند که از تبدیل قند به اسیدهای چرب در سلول‌های کبد حاصل می‌شوند (شکل ۴-۱۲).

LDL: حاوی تقریباً ۸۰٪ چربی است (شامل حدود ۲۸٪ تری‌گلیسرید و فسفولیپید ، ۸٪ کلسترول آزاد و۴۲٪ استر کلسترول). اپوپروتئین عمده این لیپوپروتئین apoB100 است. LDL در پلاسما از VLDL تولید می‌شود. VLDL در پلاسما تحت تأثیر لیپوپروتئین لیپاز از بار تری‌گلیسریدی خود تا حدودی تهی شده به IDL تبدیل می‌گردد. ضمن این جریان مقداری استر کلسترول نیز از HDL به VLDL اضافه می‌شود، IDL نیز تحت تأثیر لیپوپروتئین لیپاز مقداری از بار تری‌گلیسریدی خود را از دست داده به LDL تبدیل می‌گردد. حدود نصف LDL پلاسما از طریق گیرنده‌های apoB100 جذب سلول‌های کبد و بقیه به‌واسطه همین گیرنده ها جذب سایر سلول‌های بدن می‌گردند. در مقایسه با سایر لیپوپروتئین‌ها، LDL دارای بیشترین میزان کلسترول می‌باشد؛ بنابراین با افزایش ذرات LDL در پلاسما میزان کلسترول پلاسما و درنتیجه خطر ابتلا به تصلب شرایین افزایش می یابد (شکل ۴-۱۲).

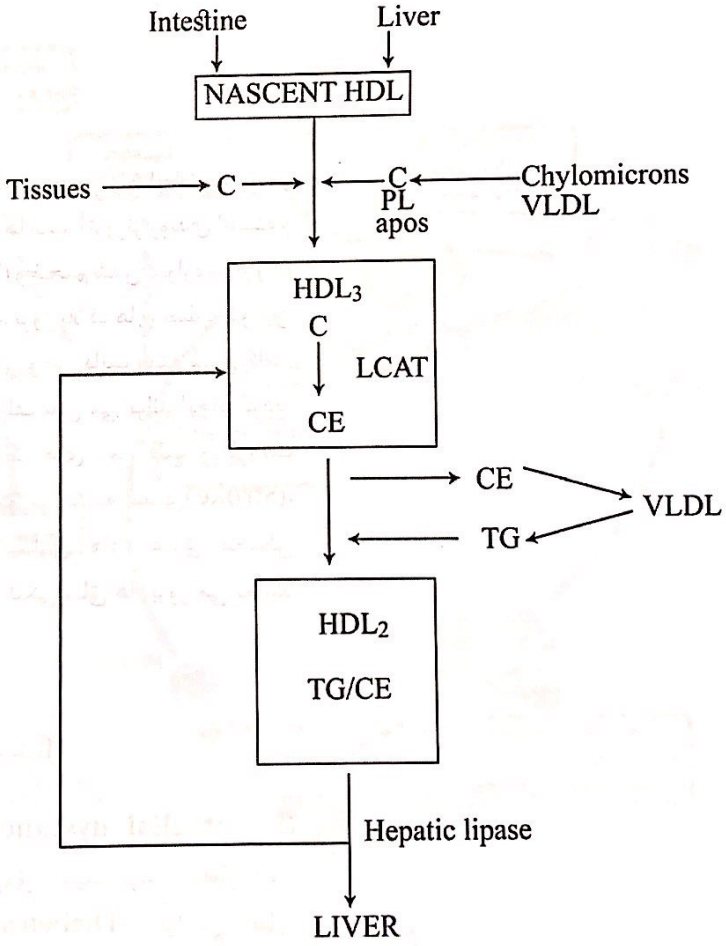
HDL: دارای حدود ۵۰٪ لیپید (حدود ۳٪ تری‌گلیسرید، ۲۵٪ فسفولیپید، ۴٪ کلسترول آزاد و۱۳٪ استر کلسترول) و پروتئین‌هایی مانند apoA-I، apoC-II و apoE می‌باشد. HDL از کبد و قسمی هم از روده به‌صورت ذرات دارای apoA-I ترشح می‌شود. با انتقال کلسترول آزاد و فسفولیپید از دیواره سلول‌های خارج از کبد، LDL و جزء باقیمانده شیلومیکرون به apoA-I، ذرات HDL نوساز(Nacent HDL) پدیدار می‌شوند. HDL نوساز ساختمان دیسک مانند داشته و حاوی

Scanned with CamScanner

فسفولیپید، کلسترول آزاد و آنزیمی به نام **LCAT** (Lecithine cholesterol acyltransferase) می‌باشد. این آنزیم که در سلول‌های کبد سنتز می‌شود واکنش زیر را کاتالیز می‌نماید



بخشی از استر کلسترول حاصل از فعالیت LCAT به VLDL و LDL منتقل و بخشی دیگر در مرکز HDL نوساز تجمع نموده و درنتیجه HDL نوساز دیسک



شکل ۵-۱۲ سرنوشت HDL: و پدیده انتقال معکوس کلسترول

Scanned with CamScanner

مانند به HDL_3 کروی شکل تبدیل می‌گردد. HDL_3 نیز سوبسترای آنزیم LCAT واقع گردیده و ضمن دریافت مقداری تری‌گلیسرید از VLDL به HDL_2 که نسبتا پر چرب تر است تبدیل می‌گردد. سرنوشت HDL_2 کاملا مشخص نیست ولی بر اساس شواهد موجود بخش اعظم HDL_2 جذب سلول‌های کبد می‌گردد. بدین ترتیب HDL نوساز کلسترول آزاد و فسفولیپیدها را از غشاء سلول‌های خارج از کبد مانند ماکروفاژها دریافت و پس از تبدیل آن به استر کلسترول مجدداً آن را در شکل HDL_2 به کبد بازمی‌گرداند. به چنین پدیده ای انتقال معکوس کلسترول (Reverse cholesterol transfer) می گویند. (شکل ۵-۱۲). اسکلت کربنی کلسترول بازگشته به کبد ممکن است مستقیما وارد صفرا شده و یا می‌تواند وارد مسیر تبدیل به املاح صفراوی گشته و نهایتاً از مدفوع دفع گردد. با این قیاس HDL به‌عنوان رفتگر کلسترول (Cholesterol scavenger) از جدار سلول‌ها عمل نموده و درنتیجه با افزایش HDL در جریان خون خطر ابتلا به تصلب شرایین کاهش می یابد. لذا به کلسترول موجود در HDL کلسترول خوب و به کلسترول موجود در LDL کلسترول بد اطلاق می‌شود.

۲-۱۲ آتروژنز (Atherogenesis)

آتروژنز روند ایجاد مواد خمیری (Athero) از جنس چربی و ضایعات بافتی در فضای زیر لایه اندوتلیوم(intima) دیواره سرخ رگ ها ست. آتروژنز روندی آهسته و تدریجی است که در نهایت منجر به سفت (Skleros) و ضخیم شدن دیواره سرخ رگ ها (تصلب شرایین، Atherosclerosis) می گردد. بروز پلاک های تصلب شرایین (Atherosclerotic plaques) باعث باریک شدن و در نهایت بسته شدن کامل رگ ها می شود. تصلب شرایین در اندام های مختلف بدن می تواند ایجاد گردد. **عوارض بالینی** شدید این پدیده هنگامی که رگ های مغز، قلب و یا بافت های محیطی در گیر می شوند به ترتیب به صورت سکته مغزی(Stroke)، سکته قلبی(Myocardial infarction) و بیماری های عروق محیطی (Peripheral vascular disease) مثلا درد و لنگی ساق ها بروز می نمایند

ارکان اصلی بروز تصلب شرایین عبارتند از:

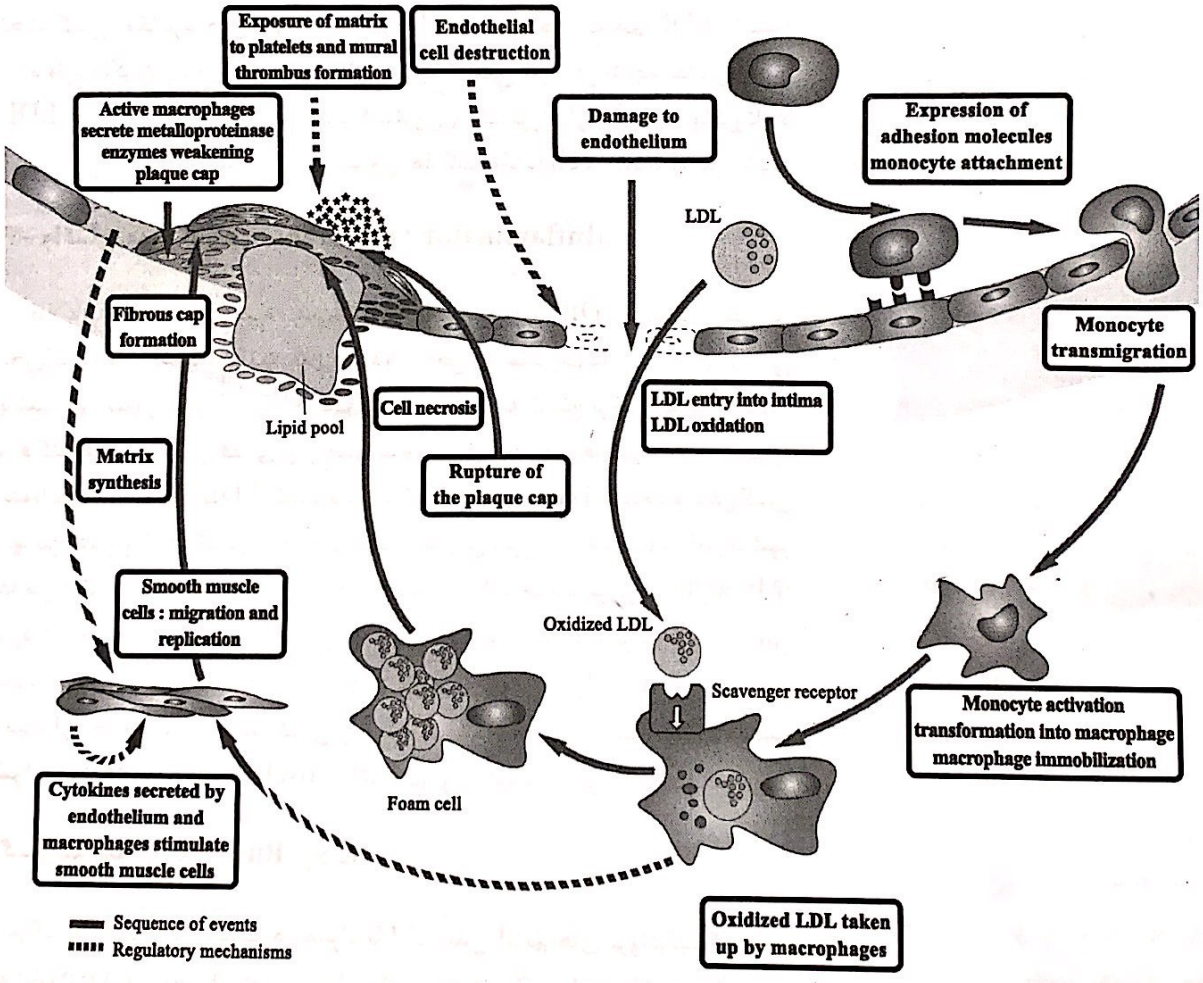
۱ - اختلال درعملکردطبیعی سلول های اندوتلیال

(Endothelial dysfunction)

عواملی که می توانند به اندوتلیوم عروق آسیب بزنند شامل فشار خون بالا (Hypertension)، بیماری قند(Diabetes)، افزایش غلظت برخی لیپوپروتئین های خون، بعضی از اجزاء دود سیگار و تعدادی از واسطه گرهای التهاب موجود در خون(Circulating inflammatory media-tors) می شوند. از اعمال طبیعی اندوتلیوم عروق می توان کنترل قطر رگ

Scanned with CamScanner

ها و ایجاد و حفظ یک غشاء و لایه ضد انعقاد در جداره داخلی عروق را نام برد. علاوه بر این، غشاء سالم سلول های اندوتلیال داری دافعه نسبت به سلول های خونی می باشند. با آسیب به سلول های اندوتلیال اعمال طبیعی آنها مختل می گردند. از جمله، اندوتلیوم آسیب دیده نه تنها دافعه طبیعی خود نسبت به عناصر سلولی خون را از دست میدهد، بلکه مولکول هایی در سطح سلول های اندوتلیال پدیدار می شوند که ممکن است پایگاهی برای اتصال لکو سیت ها باشند. در نتیجه سلول هایی از قبیل لنفو سیت ها و منوسیت ها می توانند به سلول های اندوتلیال متصل شده و از طریق دیاپدز (Diapedesis) از پوشش اندوتلیوم عروق عبور کرده و به فضای زیرین آن (Subendothelial) مهاجرت کنند. منوسیت ها در این محیط تمایز انجام داده و به ماکروفاژها تبدیل می شوند. از طرفی نفوذ پذیری اندوتلیوم آسیب دیده به لیپوپروتئین های LDL خون افزایش می یابد تا



شکل ۶-۱۲: عوامل شرکت کننده در شروع و گسترش روند ایجاد پلاک های تصلب شرایین

Scanned with CamScanner

این ذرات نیز بتوانند از قشر اندوتلیوم عبور و به زیر فضای زیر آن نفوذ کنند.

۲- تجمع چربی در فضای زیر اندوتلیوم
(Lipid deposition in the intima).

ظرفیت آنتی اکسیدانی در فضای زیر اندوتلیوم پایین تر از پلاسما است. از طرفی عوامل اکسیدکننده هم فراوان تر هستند. این عوامل شامل رادیکال های آزاد مانند گونه های فعال اکسیژن می شوند که می توانند توسط ماکرو فاژ ها تولید گردند. بنابراین در چنین فضایی، مولکول های موجود در LDL مانند اسیدهای آمینه، اسیدهای چرب غیر اشباع و کلسترول اکسیده شده ودر نتیجهLDL تبدیل به ذره ای به نام "LDL اکسید شده (Oxidized LDL) " می گردد. ذرات LDL اکسیده شده از طریق پینوسیتوز و یا به واسطه اتصال به گیرنده هایی غیر اختصاصی به نام رفتگر (Scavenger receptors) جذب ماکروفاژها می شوند. لازم به ذکر است که برخلاف گیرنده هایapo B۱۰۰، جریان پینوسیتوز و یا تعداد گیرنده های رفتگر تحت کنترل مکانیزم های پس خورد نمی باشند، یعنی هر چه هم LDL اکسیده شده وارد ماکروفاژ شود از تعداد این گیرنده ها کم نمی شود. در نتیجه مقادیر زیادی LDL اکسیده شده و محتویات استرکلسترول و کلسترول آزاد آنها در ماکروفاژها انباشته می شود تا جایی که این سلول ها کف مانند(Foam cell) می شوند

۳- واکنش های التهابی (Inflammatory reactions).

اطلاعات زیادی در زمینه نقش ترکیبات موجود در LDL اکسیده شده در تحریک لنفوسیت ها و نیز فعال کردن برخی از ماکروفاژها در دسترس می باشد. این سلول های ایمنی تحریک شده مبادرت به ترشح برخی عوامل التهاب و فاکتورهای رشد در فضای زیر اندوتلیوم می نمایند. در حاشیه ۱-۱۲ نقش اندوتلیوم آسیب دیده، LDL اکسید شده، فاکتور های رشد، عوامل التهاب و میان کنش آنها در شروع و شکل گیری پلاک های تصلب شرایین شرح داده شده است. این فاکتور ها می توانند باعث شوند که سلول های عضلات صاف جداره عروق (Myocytes) وارد فاز میتوز شده، تکثیر یافته و به فضای زیر اندوتلیوم مهاجرت کنند. در این فضا، میوسیت ها تجمعات چربی حاصل از سلول های کف را احاطه کرده و مواد زمینه ای خارج سلولی مانند کلاژن را ترشح می نمایند. بدین ترتیب **پلاک تصلب شرایین** (Atherosclerotic plaque) در زیر اندوتلیوم عروق تکوین می یابد

گسیخته شدن (Rupture) پلاک

مرگ تعدادی از میو سیت ها همراه با آزاد شدن آنزیم های پروتئولیتیک مانند کلاژناز(Collagenase) که از سلول های حاشیه پلاک مانند ماکروفاژها منشاء می گیرند باعث گسیخته شدن حاشیه پلاک می شوند. بدین ترتیب مواد موجود

Scanned with CamScanner

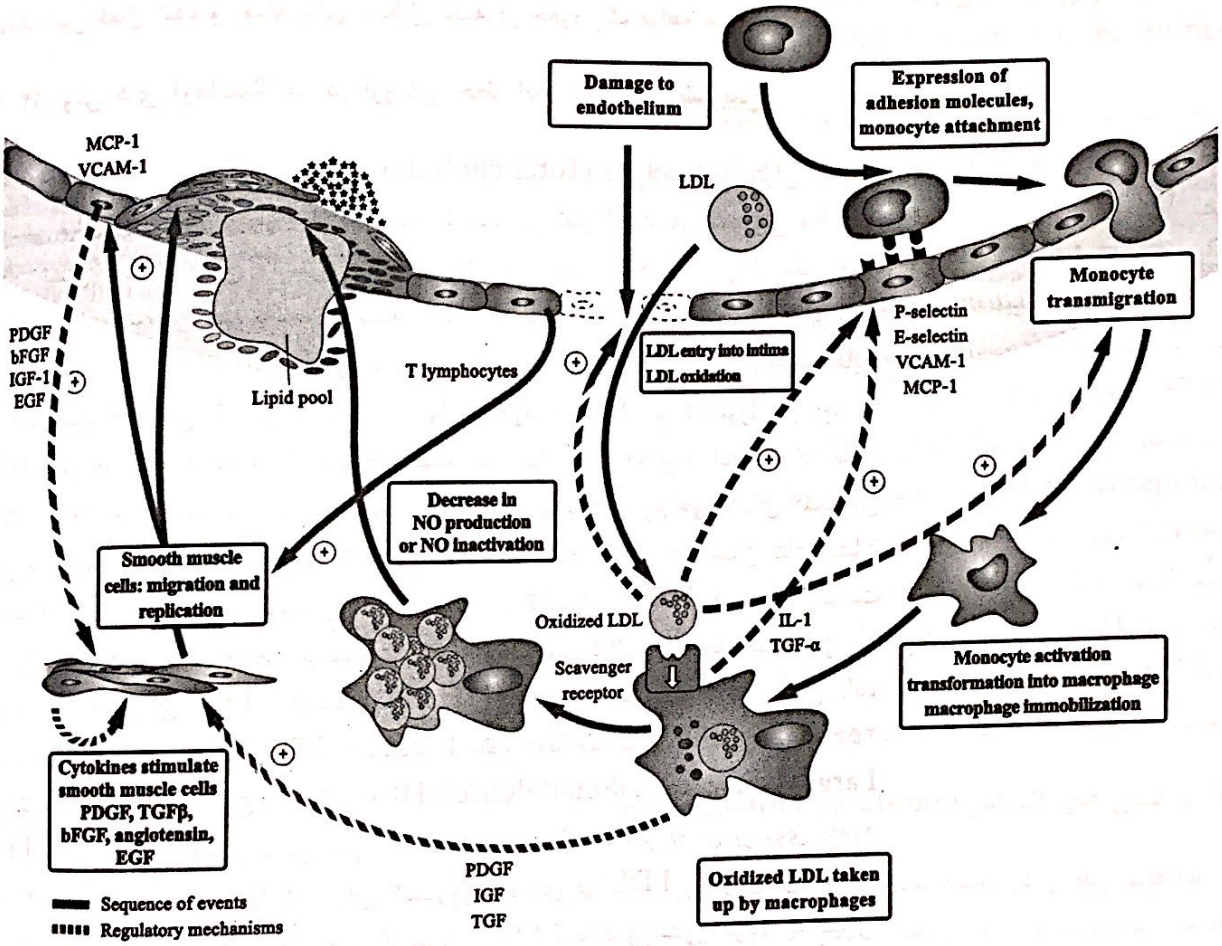
در مرکز پلاک که شامل کلاژن و یرخی دیگر از عواملی است که میتوانند پلاکت های و فاکتور های انعقادی خون را خون فعال نمایند در معرض قرار می گیرند. در نتیجه روند انعقاد خون فعال شده و زمینه برای تشکیل لخته در حفره رگ فراهم می گردد.

۳-۱۲ روش های آزمایشگاهی در ارزیابی خطر ابتلا به تصلب شرایین

اگر چه قبلا میزان کلسترول تام (Total cholesterol) در پلاسما به عنوان شاخص مناسبی برای پیش بینی خطر ابتلا به تصلب شرایین در نظر گرفته می شد ولی مطالعات بعدی نشان داد که سطح کلسترول تام در پلاسما بهترین شاخص برای ارزیابی خطر ابتلا به تصلب شرایین نمی باشد. از جمله میتوان به نتایج یک مطالعه آینده نگر بر روی تعداد زیادی افراد داوطلب سالم اشاره نمود. این افراد ظرف ۲۶ سال از نظر شاخص هایی از جمله سطوح سرمی کلسترول تام، کلسترول موجود در LDL و کلسترول موجود در HDL زیر نظر قرار گرفته شدند. نتایج حاصله نشان داد که ٪۸۰ از افرادی که در طول مدت مطالعه دچار تصلب شرایین در عروق کرونر قلب شدند، در سرم خود دارای کلسترول تامی برابر یا کمتر از افرادی بودند که به این بیماری مبتلا نشدند. اما همین نتایج نشان دادند که افراد مبتلا دارای کلسترول LDL بالاتر و کلسترول HDL پایین تری نسبت به افراد سالم هستند. در نتیجه مرسوم شد که برای ارزیابی شانس ابتلا به تصلب شرایین دو شاخص کلسترول LDL و کلسترول HDL را در نظر داشته باشند. بعدا نشان داده شد که ذرات لیپوپروتئینی LDL را میتوان از نظر قطر (بالاتر و یا پایین تر از ۲۵۶ انگسترم) و چگالی به دو نوع ریز چگال (Small dense LDL) و درشت شناور (Large buoyant LDL) تقسیم بندی نمود. نتایج تحقیقات آینده نگر بعدی بر روی حدود ۲۰۰۰ مرد نشان داد که آنها که دارای کلسترول بالاتری در LDL ریز و چگال موجود در خون خود می باشند (در مقایسه با کلسترول LDL درشت و شناور خود) به میزان ۲.۲ بر ابر بیشتر شانس ابتلا به بیماری های ایسکمی قلبی را دارند. بنابراین به نظر می رسد که میزان کلسترول موجود در LDL ریز و چگال شاخص بهتری برای ارزیابی خطر ابتلا به تصلب شرایین باشد. با این وجود، در این ارتباط امروزه مرسوم است که به طور جاری و روزمره طرح لیپیدی پلاسما (Lipid profile) شامل سطوح پلاسمایی کلسترول تام ، کلسترولLDL ، کلسترول HDL و تری گلیسیرید را مد نظر قرار می دهند. لازم به تذکر است که نتایج گزارش های زیادی دلالت بر وجود ارتباط معکوس بین سطوح کلسترول HDL و تری گلیسرید در پلاسما وجود دارد. به عبارت دیگر معمولا افزایش در میزان تری گلیسرید با کاهش در سطح کلسترول HDL در پلاسما و افزایش بروز بیماری های قلبی عروقی همراه است. امروزه علاوه بر طرح لیپیدی پلاسما، آزمایش hsCRP یا (High-sensitivity C-reactive protein) نیز برای ارزیابی شانس ابتلا به تصلب شرایین انجام می شود. CRP پروتئینی است که در شرایط التهاب تولید آن در کبد و ترشح آن در خون افزایش می یابد. اما ثابت شده است که ارتباط مستقیمی بین افزایش بسیار کم ولی معنی دارCRP و بروز تصلب شرایین وجود دارد. تغییرات بسیار جزئی در میزانCRP در خون تنها با به کار گیری روش های آزمایشگاهی بسیار حساس امکان پذیر است. به همین دلیل این آزمایش hsCRP نام دارد.

Scanned with CamScanner

حاشیه ۱-۱۲ نقش اندوتلیوم آسیب دیده، LDL اکسید شده، فاکتور های رشد، عوامل التهاب و میان کنش آنها در شروع و شکل گیری پلاک های تصلب شرایین.



در سلول های اندوتلیوم آسیب دیده گلیکو پروتئین های غشایی به نام سلکتین ها (Selectins) بیان می شوند. سلول های سفید خون سلکتین ها را شناسایی و به واسطه آنها به غشاء سلول های اندوتلیوم آسیب دیده متصل می گردند. همچنین افزایش بیان گلیکو پروتئین دیگری به نام (VCAM-۱(Vascular cell adhesion molecule ۱ در غشاء اندوتلیوم آسیب دیده نقش کلیدی در اتصال مونوسیت ها و لنفو سیت ها به این غشاء ایفا می نماید. مطالعات بر روی حیوانات نشان می دهد که ایجاد کاهش در بیان VCAM-۱ با کاهش در بروز تصلب شرایین همراه است. پروتئین MCP۱ یا (Monocyte chemotactic protein ۱) واقع در غشاء سلول های اندوتلیوم آسیب دیده نیز نقش مهمی در فراخوانی و عبور مونوسیت ها از اندوتلیوم ایفا می نماید. در هر ناحیه از شریان که در آن روند تشکیل پلاک تصلب شروع شده باشد، در فضای اینتیمای آن ناحیه همواره مقادیر زیادی از سیتوکین ها (پروتئین های واسطه گر التهاب) و فاکتورهای رشد گوناگون وجود دارند. مثال های بارز این مولکول ها عبارتند از: (Tumor necrosis factor-α, TNF-α)، (Interleukins, IL)، (Insulin-like growth factor-۱, IGF-۱)، (Epidermal growth factor, EGF)، (Transforming growth factor beta, TGF-β) و (Platelet-derived growth factor, PDGF). بعضی از این مولکول ها از ماکروفاژها ترشح می شوند. برخی دیگر از این مولکول ها از ماکروفاژهایی ترشح می شوند که گیرنده های رفتگر (Scavenger receptors) را بیان نموده و از نظر اندوسیتوز فعال شده اند. برخی نیز از سلول های اندوتلیال و پلاکت ها ترشح می شوند. این مولکول ها نقش پیچیده ای در تکوین و توسعه پلاک ها ایفا می نمایند. از جمله سیتوکین ها (IL-۱, TGF-β) سلول های اندوتلیال را تحریک به بیان مولکول هایی می نمایند که چنانچه فوقا ذکر شد در چسبیدن سلول های سفید خون به اندوتلیوم دخالت دارند. برخی از فاکتورهای رشد (PDGF,EGF,TGF-β,IGF-۱) نیز باعث تحریک میتوز در سلول های عضلات صاف جداره عروق و تکثیر آنها می شوند. این سلول میوسیت ها نیز به نوبه خود مبادرت به ترشح برخی سیتوکین ها و فاکتورهای رشد می نمایند که ممکن است به صورت اتوکرین(Autocrine) بر میوسیت ها عمل نمایند.

Scanned with CamScanner

۴-۱۲ سوالات نمونه

۱۲-۴-۱ Hyperplioproteinemias

متن زیر از کتاب بیوشیمی دولین (Devlin Textbook of Biochemistry 7th edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه این متن، انتظار می رود بتوانید موارد ذیل را توضیح داده و به سوالات زیر پاسخ دهید. این مطالب در زمره بخش های ضروری در درس متابولیسم چربی ها محسوب می شوند.

Hyperplioproteinemias

Hyperlipoproteinemias (OMIM 608083)* are disorders of the rates of synthesis or clearance of lipoproreins from the blood stream. Usually they are detected by measuring plasma triacylglycerol and cholesterol and are classified on the basis of which class of lipoproteins is elevated.

Type I hyperlipoproteinemia is due to accumulation of chylomicrons. Two genetic forms are known: lipoprotein lipase deficiency and ApoCII deficiency. ApoCII is required by lipoprotein lipase for full activity. Patients with type I hyperlipidemia have exceedingly high plasma triacylglycerol concentrations (over 1000 mg/dl) and suffer from eruptive xanthomas (yellowish triacylglycerol deposits in the skin) and pancreatitis.

Type II hyperlipoproteinemia is characterized by elevated LDL levels. Most cases are due to genetic defects in the synthesis, processing, or function of the LDL receptor. Heterozygotes have elevated LDL levels; hence the trait is dominantly expressed Homozygous patients have very high LDL levels and may suffer myocardial infarctions before age 20.

Type III hyperlipoproteinemia is due to abnormalities of ApoE, which interfere with the uptake of chylomicron and VLDL remnants. Hypothyroidism can produce an increased risk of very similar hyperlipoproteinemia. These patients have atherosclerosis.

Type III hyperlipoproteinemia is due to abnormalities of ApoE, which interfere with the uptake of chylomicron and VLDL remnants. Hypothyroidism can produce a very similar hyperlipoproteinemia. These patients have an increased risk of atherosclerosis.

Type IV hyperlipoproteinemia is the commonest abnormality. The VLDL levels are increased, often due to obesity, alcohol abuse, or diabetes. Familial forms are also known.

Type V hyperlipoproteinemia is, like type I, associated with high chylomicron triacylglycerol levels, pancreatitis, and eruptive xanthomas.

Hypercholesterolemia also occurs in certain types of liver disease in which biliary excretion of cholesterol is reduced. An abnormal lipoprotein called lipoprotein X accumulates. This disorder is not associated with increased cardiovascular disease from atherosclerosis.

* An OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man) number is a way of cataloguing human genes and genetic conditions. See the following link for more information:
(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/)

Scanned with CamScanner

۱ـ در بیماری هیپرلیپو پروتئینمی نوع I (Hyperlipoproteinemia type I) نیمه عمر شیلومیکرون در جریان خون افزایش می یابد. شکل ظاهری پلاسمای ناشتا کدر بوده، میزان تری‌گلیسرید آن افزایش یافته و پس از ۲۴ ساعت نگهداری در یخچال یک قشر خامه در سطح آن تشکیل می‌گردد. نقص ارثی کدامیک از پروتئین‌های زیر علت بروز این بیماری است:

الف ـ Lipoptotein lipase　　ب ـ apo CII

ج ـ apo B100　　د – apo B48

ه ـ الف و ب

۲- در بیماری هیپولیپوپروتئینمی نوع IIa (Familial Hypercholesterolemia) میزان کلسترول خون بعلت افزایش تعداد ذرات LDL افزایش میابد. به نظر شما نقص ارثی کدامیک از پروتئین های زیر علت این بیماری است:

الف – apo B100　　ج – LDL receptor

ب - apo C　　د – Lipoprotein lipase

ه - الف و ج

۳- در بیماری هیپرلیپوپروتئینمی نوع III (Familial type III hyperlipoproteinemia) ذرات باقیمانده شیلومیکرون (Chylomicron remnants) از جریان خون پاک نشده و میزان کلسترول خون افزایش میابد. به نظر شما نقص ارثی کدامیک از پروتئین های زیر علت بروز این بیماری است:

الف – Lipoprotein lipase

ب – apo E3

ج - apo CII

د – الف و ج

۴- در بیماری هیپرلیپوپروتئینمی نوع IV (Endogenous Hyperlipemia) تولید VLDL و میزان تری گلیسیرید پلاسمای ناشتا افزایش میابد. غالبا" این بیماری با دیابت نوع II (غیر وابسته به انسولین) و هیپر انسولینمی همراه می‌باشد. کدامیک از توصیه‌های زیر در تسکین بیماری مفید خواهد بود.

الف – حذف کامل چربی (بجز اسیدهای چرب ضروری) از غذا

ب - کاهش جدی میزان کربوهیدرات غذا

ج - مصرف بیشتر اسیدهای چرب کوتاه و متوسط زنجیره

د – مصرف بیشتر اسیدهای چرب امگا ۳

Scanned with CamScanner

Fatty Live ۱۲ -۴- ۲

متن زیر از کتاب بیوشیمی هارپر (Harpers Illustrated Biochemistry, 29th Edition) انتخاب شده است. پس از مطالعه، به سوالات ذیل پاسخ دهید

Imbalance in the Rate of Triacylglycer Formation & Export Causes Fatty Liver

For a variety of reasons, lipid-mainly as triacylglycerol-can accumulate in the liver (Figure 25-6). Extensive accumulation is regarded as a pathologic condition. **Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD)** is the most common liver disorder worldwide. When accumulation of lipid in the liver becomes chronic, inflammatory and fibrotic changes may develop leading to **nonalcoholic steatohepatitis (NASH),** which can progress to liver diseases including **cirrhosis, hepatocarcinoma and liver failure.**

Fatty livers fall into two main categories. The first type is associated with **raised levels of plasma free fatty acids** resulting from mobilization of fat from adipose tissue or from the hydrolysis of lipoprotein triacylglycerol by lipoprotein lipase in extrahepatic tissues. The production of VLDL does not keep pace with the increasing influx and esterification of free fatty acids, allowing triacylglycerol to accumulate, which in turn causes a fatty liver. This occurs during **starvation** and the feeding of **high-fat diets**. The ability to secrete VLDL may also be impaired (eg, in starvation). In uncontrolled **diabetes mellitus, twin lamb disease**, and **ketosis in cattle**, fatty infiltration is sufficiently severe to cause visible pallor (fatty appearance and enlargement of the liver with possible liver dysfunction.

The second type of fatty liver is usually due to a metabolic **block in the production of plasma lipoproteins,** thus allowing triacylglycerol to accumulate. Theoretically, the lesion may be due to (1) a block in apolipoprotein synthesis (or an increase in its degradation before it can be incorporated into VLDL), (2) a block in the synthesis of the lipoprotein from lipid and apolipoprotein, (3) a failure in provision of phospholipids that are found in lipoproteins, or (4) a failure in the secretory mechanism itself.

Scanned with CamScanner

۵ - کدامیک از شرایط زیر در بروز Nonalcoholic steatohepatitis دخالت دارند؟
الف) التهاب
ب) افزایش کلاژن در بافت پیوندی کبد
ج) تجمع تری گلیسیرید در سلول های کبد
د) تمام شرایط فوق

۶ - در یک نوع کبد چرب (Fatty liver) غلظت اسید های چرب آزاد در خون افزایش میابد. کدامیک از شرایط زیر علت ایجاداین وضعیت است
الف) کاهش سرعت لیپولیز
ب) مصرف غذاهای پر کربوهیدرات
ج) کاهش فعالیت لیپوپروتیین لیپاز
د) دیابت

۷ - نوع دیگری از کبد چرب به علت اختلال در تولید لیپوپروتیین ها عارض می گردد. اختلال در کدامیک از روند های زیر در کبد منجر به این وضعیت می شود.
الف) کاهش ورود apoC-II به VLDL
ب) افزایش سنتز فسفولیپید ها
ج) کاهش سنتز apoB100
د) اختلال در سنتز apoA1

۲-۴-۱۲ سوالات متفرقه

۸-کدامیک از شرایط زیرر در جهت تقویت Reverse cholesterol transport می باشد
الف –کاهش کلسترول LDL در پلاسما
ب – افزایش میزان apoA-I در پلاسما
ج –کاهش فعالیت LCAT
د – افزایش تعداد گیرنده های apoB100 در سطح سلول های عضلات

۹-در کدامیک از شرایط زیر خطر بروز تصلب شرایین افزایش می یابد ؟
الف – کاهش تعداد Small dense LDL در پلاسما
ب – افزایش کلسترول H DL
ج – کاهش Reverse cholesterol transport
د – کاهش تعداد scavenger receptors در ماکروفاژها

۱۰-کدامیک از عبارات زیر در مورد گیرنده های رفتگر صحیح است
الف-به عوامل دیگری غیر از LDL نیز متصل می شوند
ب- درسطح سلول های اندوتلیال و جود دارند
ج- پس از اتصال به LDL تعداد آنها درسطح سلول کاهش می یابد
د-باعث ورود LDL به میوسیت ها و کف مانند شدن آنها می شوند

پاسخ نامه

شماره سوال	پاسخ
۱	ه
۲	ه
۳	ب
۴	ب
۵	د
۶	د
۷	ج
۸	ب
۹	ج
۱۰	الف

Scanned with CamScanner