

الباب الثاني عشر

الآليات الجزيئية لموت الخلية
السمية الخلوية

الآليات الجزيئية لموت الخلية: السمية الخلوية :

Molecular mechanisms of cell death : Gytotoxicity : cell toxicity

ليس فقط لتطور الفروع المساعدة (auxiliary disciplines) في مجال الكيمياء الحيوية والعضوية والتحليلية وفي مجال البيولوجي كعلم الفسيولوجي وعلم الخلية المساهمة في تطور علم السمية (Toxicology) بل أيضا تساهم في تطور الفروع المختلفة المساعدة لعلم السمية خاصة علم الخلية وذلك للأسباب التالية :

- عديد من السموم المسببة لضرر أو تخريب عضو أو نسيج فإنها في نفس الوقت تؤدي لضرر للخلايا الفردية لأنسجة هذه الأعضاء .
- يمكن اختبار تأثير السموم على المزارع الخلوية (cell cultures) في وقت قصير وهو ما يتيح اختصار مدة الدراسة .
- لا توجد مشاكل في دراسات السمية الخلوية مع سلوك مركبات السم المعقدة (complex toxico kinetic behaviour) فلا تتمن آليات جهازية لتنظيمها (Systemic regulatory mechanisms).
- يمكن استخدام المزارع الخلوية في أبحاث السمية من الدراسة المباشرة لآليات التأثيرات المميزة للخلية أو العضو وهو ما غيرنا بشكل عام وخاص بالأسس العلمية لتفهم أكثر أدراكا ومنطقية لقياس الخطورة (Risk assessment) إلا أنه في بعض حالات معينة سيكون الاستنتاج من الخلية لصالح الكائن الحي صعبا.

والعوامل الرئيسية المحددة لحدوث موت خلوي هي :

١. طبيعة العامل السام النشط والذي في اغلب الحالات يكون مادة وسيطة نشطة (Reactive intermediate) ومكانية تواجدها بمكان الجزيئات المستهدفة وأنواع هذه الوسيطات التي له أثرها في موت الخلية .
٢. دور الجزيئات المستهدفة بالخلية من حيث وظيفتها وتوظيف الخلية والتي يمكن وأن تقرر وبشكل عام الأداء الوظيفي والذي يعتمد أساسا على سلامة مكوناتها وأغشيتها وأنزيماتها واحتياجها للأمداد بمصدر الطاقة الذي يؤمن الإتمام الملانم لعمليات الانتقال والتخليق والإصلاح

فعلى سبيل المثال عدم ازواج تفاعل القفرة التأكسدية ربما يؤدي لموتها
 ٣. طبيعة وإمكانية تواجد النواتج السامة والمتحررة من الخلية بعد موتها
 ٤. آليات الدفاع الخلوى الغير مؤثر فى إزالة السمية والوسطيات النشطة
 والأصلاح المبدئى للضرر (كإزالة السمية للوسطيات أو الممثلات
 الأكسجينية النشطة وصيانة وأصلاح الضرر فى حمض الدبروكس نيوكليك.

تكوين المواد الوسطية النشطة المحدثة للسمية وآلية إزالة سميتها

أظهرت نتائج الأبحاث فى الآونة الأخيرة تقدم كبير فى أظهار الدور
 الهام للمواد الوسطية (الوسطيات النشطة) (Reactive intermediates) للمواد
 الغريبة والعقاقير (Drugs) والسموم والملوثات البيئية المختلفة خاصة المبيدات
 بأنواعها مثل التراكيب الإليكتروفيلية والشقوق الحرة وأنواع الأكسون النشطة
 فى أحداث السمية الخلوية وآلياتها .

وترتبط المواد النشطة الوسطية ارتباطاً تساهمياً مع الجزئيات الخلوية
 (Cell molecules) كالأحماض النووية والبروتينات والعوامل المساعدة
 والليبيدات والسكريات العديدة والتي فى النهاية تؤدي لموت الخلية ، جدول
 رقم (١٢-١) .

جدول رقم (١٢-١) : أمثلة لبعض المركبات الغريبة (xenobiotics) وممثلاتها
 النشطة :

المادة	الممثل النشط المقترح	مكان ارتباط المستهدف
بروموبنزين	٤,٣ - أبوكسيد و/أو أوتركينون	خلايا الكبد
اسيتامينوفين	كينون إيمين	خلايا الكبد
رابع كلوريد الكربون	تراى كلوروميثيل أو فوسجين	خلايا الكبد
بلرا أمينوفينول	كينون إيمين	خلايا الكلية
ايبو مينول	إيبوكسيد	خلايا الرئة

١- التراكيب الإليكتروفيلية (Electrophilic structures)

فعادة ما يلامس العمليات المؤدية لتكوين هذه التراكيب الإليكتروفيلية
 المشابهات الإنزيمية للسيتوكروم ب - ٤٥٠ (Cytochrome b-450) ، ومن أمثلة
 هذه التراكيب :

١-١- الأبيوكسيدات (Eponides) :

فعند تعاطي حيوانات التجارب والمسابق معاملة لها بالفينوباربيثال مركب ٤٣ - أيبوكسيد بروموبنزين فإنه يؤدي إلى زيادة معدل التمثيل فيها وإفراز المواد الوسطية النشطة التالية في البول :

- ٤٣ - داي هيدروديول بروموبنزين
- ٤٣ - داي هيدروديول بروموبنزين جليكورونيد
- ٤ - هيدروكسي بروموفينيل جليكورونيد
- ٤ - هيدروكسي بروموفينيل سلفات
- ٤ - بروموفينيل ميركابتويوزيك

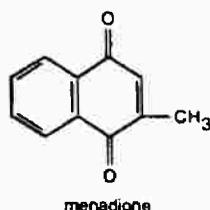
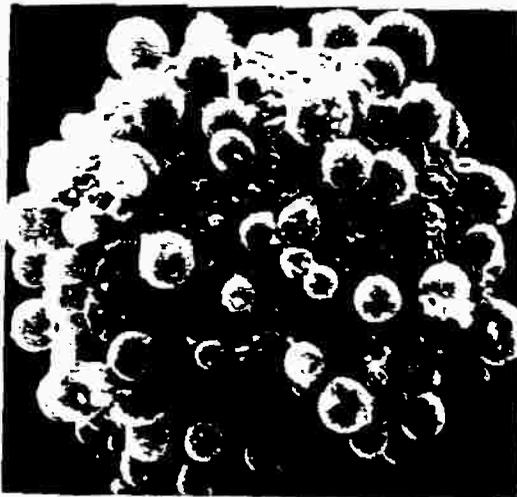
حيث أدت الجرعات الزائدة من البروموبنزين والاسيتامينوفين لأستفاد الجلوتاثيون في الخلايا الكبدية خارج وداخل الجسم (In-vivo & In vitro) حيث يلعب نظام الجلوتاثيون دوراً هاماً في انهيار سمية مثل هذه الوسطيات النشطة السامة فأستفاد الجلوتاثيون من الجسم لاتحاده معها يحمي مجاميع الثيول بالبروتينات خاصة البروتينات الأنزيمية (الأنزيمات) من مهاجمة هذه الممثلة الوسطية السامة .

وبزيادة الجرعات عن ذلك تؤدي بأستفاد مجاميع الثيول متنوعة بزيادة في تركيز أيونات الكالسيوم في السيتوسول (حيث تتوزع أيونات الكالسيوم بين الأندريلازم الشبكي والميتوكوندريا والسيتوسول بتركيز ١٠٠ مول/لتر وكذلك البروتينات) حيث تلعب مجاميع الثيول دورها الهام في نقل ايون الكالسيوم معتمدة على أنزيم (Ca²⁺/Mg²⁺ ATPase)، وهو ما أدى للاقتراح بأن اضطراب اتزان ايون الكالسيوم (C²⁺ - Homeostasis) يرتبط بأضطراب في اتزان مجاميع الثيول وهو ما لوحظ واضحاً في تحصيلن خلايا الكبد ورابع كلوريد الكربون أيضاً .

وتعد زيادة مستوى ايونات الكالسيوم بالسيتوسول خطراً على الخلية لأنها تؤدي إلى

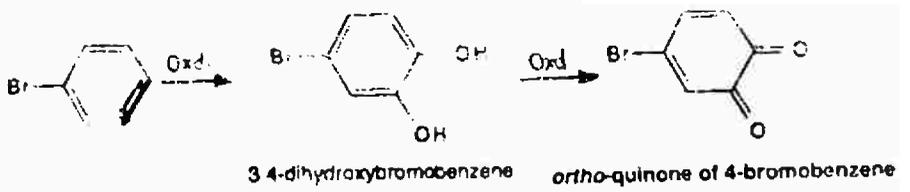
- زيادة في نشاط انزيم الفوسفوليبيز بالأغشية
- علاوة على تغيرات في تركيب و نفاذية الأغشية الخلوية (كتخريب الحاجز الواقى بين الخلايا وانطلاق الأنزيمات الليوسومية المحللة

وزيادة الأوكسدة الفوقية للأحماض الدهنية الغير مشبعة وتكوين بثرات حويصلية (Vesicle formation : blebbing) خاصة بخلايا الأغشية الكبدية المعزولة .

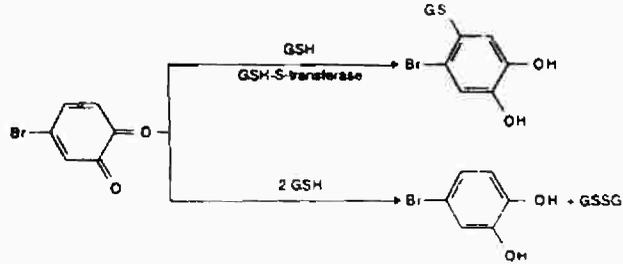


شكل رقم (١٢-١): تكوين بثرات حويصلية بعد تحضين الخلايا الكبدية المعزولة بثلاثين دقيقة مع مركب ميناديون (Menadione)

٢-١ الكينونات (Quinones) :
 معاملة الخلايا الكبدية (السابق معاملتها بالفينوباريتال بالكينونات أدى ذلك إلى موت موضعي: تتكزز (Necrosis) في الخلايا وهو ما يعزى إلى التفاعلات الوسطية للكيتون وتكوين التراكيب الكينونية (quinoid structures) كما بالمعادلة التالية :



وهنا يمكن حمض الجلوتاثيون من ازالة سميتها في المسارين التاليين :



٣-١ أيونات النترينيم (Nitrenium ions) :

حيث تؤدي المعاملة بمركب ٢-أسيتيل أمينوفلورين (2-Acetyl Amino Fluorene : AAF) والمستخدم كمبيد نيتروجيني (بذرة نيتروجين محاطة بحلقة من ٦ إلكترونات بدلا من ثمانية) وأوقف استخدامة لكونة مسرطن كبدى إلى موت موضعى بالخلايا الكبدية نتيجة ارتباط الموقع (C8) بجزئى الجوانين نيوكليوتير الخلوى نتيجة حدوث عملية أكسدة يلامسها المشابهة الأنزيمى سيتوكروم ب - ٤٤٨ يتبعها عملية كبرتة (sulfation) فتؤدي لتكوين أيون النترينيم النشط المطفر المسرطن (mutagenic carcinogen)

أما إذا ارتبط المشتق الهيدروكسيلي بحمض الجيكورونيك بدلا من السلفات فإنه بعد مسار لإزالة السمية أو من خلال عملية الهيدروكسلة العطرية (hydroxylation) المتبوعة بالاقتران الجليكورونيدى .

٢- الشقوق (Radicals) :

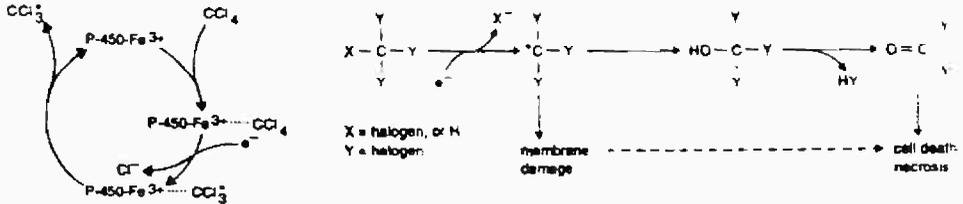
وهي مجموعة هامة من المواد الوسيطة النشطة العضوية أو الغير عضوية (جزيئات أو ذرات لها الكترون غير مزدوج) وتتكون من خلال:

- إضافة أو انفراد الكترون خلال الكسر المتجانس للرابطة التساهمية
- أختزال الكترون واحد وفي ملامسة انزيم (Microsomal NADPH C₁₀p- 450)

وتحدث النوق مدى واسع من التأثيرات السامة :

- كتخريب الأغشية
- وقف أو تثبيط فاعلية الأنزيمات
- موت الخلية أو السرطانات ثم الموت

وبدرس دور هام في احداث هذه التأثيرات بعناية عند دراسة الموت الموضوعي : تتكزز خلايا الكبد بمركبات الميثان الهالوجينية كلوروفورم (CHCl₃) ، رابع كلوريد الكربون (CCl₄) ، بروموتراي كلوروايثان (Br CCl₃) خاصة رابع كلوريد الكربون وسمية للخلايا الكبدية والتي أظهرت تكوير الشق : تراي كلوروميثيل (CCl₃) عند تحصين ميكروسومات الكبد معه وفي وجود (NAPPH) حيث يعتمد التنشيط التمثيلي لرابع كلوريد الكربون على NADPH وليس على الأكسجين تحت تأثير السيتوكروم ب- ٤٥٠ ، شكل رقم (٢-١٢) :



الآلية المحتملة لإزالة هالوجين رابع كلوريد الكربون بالسيتوكروم ب - ٤٥٠

تطور التأثيرات السامة المحتملة لرابع كلوريد الكربون (مركبات الميثان الكلورة)

شكل رقم (٢-١٢): تطور التأثيرات السامة لرابع كلوريد الكربون و الآلية المحتملة لإزالته

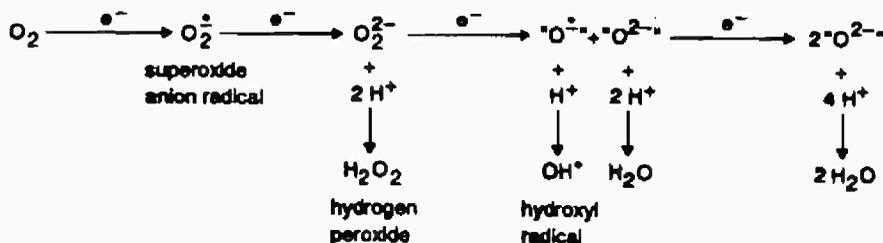
وأما عند تحضين ميكروسومات الكبد مع الكلوروفورم أو رابع كلوريد الكربون ولكن في وجود الجلوتاثيون فأدى لتكوين جلوتاثيونيل كربونات (GS-C(GS)=O) حيث كان للجلوتاثيون اثره الهام في منع الموت الموضعي بخلايا الكبد : التتركز .

٣-أنواع الأوكسجين النشط (Reactive Oxygen Species) :

تلعب أنواع الأوكسجين النشطة دورها في احداث :

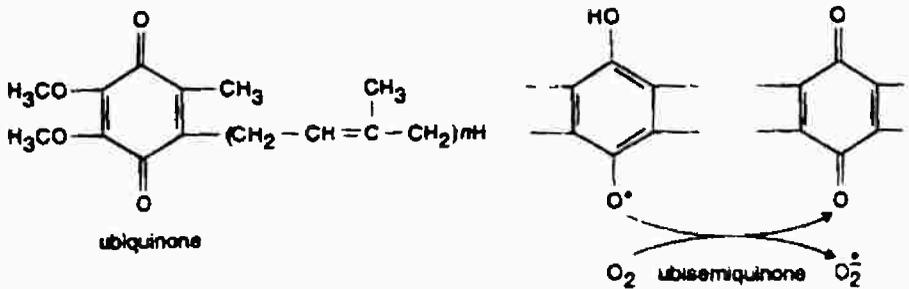
- التخریب بالأغشية الخلوية المختلفة
- علاوة على السمية القلبية (Cardio toxicity)
- والسمية العصبية (Neuro toxicity)
- وضغط التأكسد الخلوي (Oxidative stress)
- والسرطانات (cancers) .

حيث يعمل الأوكسجين في حالة الثابتة الأساسية (Ground state) كمستقبل للألكترونات (O-O : Electron acceptor) بناء على التوزيع الفراغي للألكترونات حيث تحتوى مداراته الجزيئية الخارجية (مدارات التكافؤ) على أليكترون واحد وتبعاً لقاعدة باولي (Pauli exclusion) يمكن الدخول في تفاعلات اختزال أحادية ولهذا يكون الأختزال الكامل للأوكسجين إلى ماء من خلال إضافة أربعة إليكترونات و يتم في ٤ خطوات متتابعة أحادية الإليكترون وأثنائها تتكون الأنواع الأوكسجين النشطة :

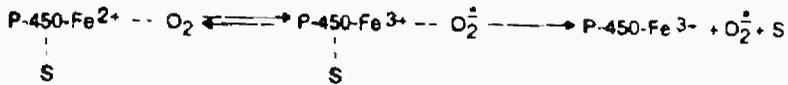


٣-١- تكوين الشق الأيوني فوق الأوكسيد بين الخلايا (Super oxide anion radical)

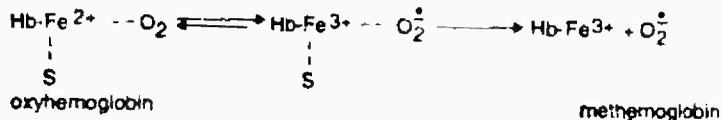
يتكون بنزع اليكترون واحد من المدار باى ($\pi 2p$) : حيث تكون ٧٥ % مئة بأختزال الأوكسجين في وجود المرافق الأتريمي أوبكتيون حيث يلفظ واحد من كل ٢٥ جزئى أوكسجين تختزل في نهاية السلسلة التز الكترون من الأوبيكتيون فيعطى ٢٤ ناتومول شق أيتوني فوق أوكسدى / جم كبد :



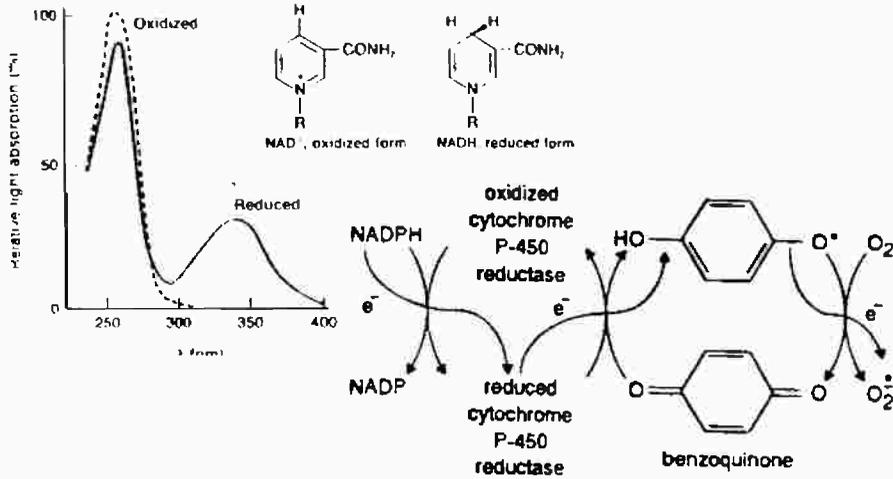
كما يتكون من الأوكسدة التلقائية لبروتينات الهيم المختزلة والتي تعد المصدر الداخلى المنشأ الثانى له حيث تتشق مادة التفاعل الأساسية للأوكسجين فيروسينوكروم ب ٥٠ : الى (نورة عدم أزواج السيتوكروم للنشاط التأكسدى) .



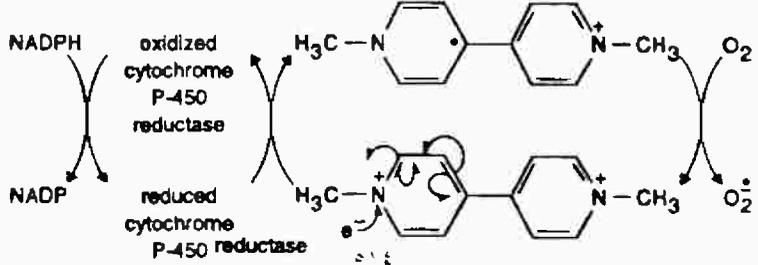
كذلك يخدم الاكسى هيموجلوبين كمصدر ثالث للشق الأيوني فوق الأوكسيد كما يلى بالأوكسدة التلقائية :



- كما يتضمن تكوين هذه الشقوق مواد غريبة مثل :
 - الكينونات : حيث تبدأ بالاختزال بإلكترون واحد (أوبيكينون) ويكون الناتج سيمكينون والتي بدورها تمرر الكترون يتسلمه الأكسجين الجزيئي ويلامسها إنزيم (NADPH-dependent cyt. P-450 Reductase) كما يلي بدورة الأكسدة والاختزال



- الهيدروكينونات : فيلزم دخولها أولاً في خطوة تأكسدية بلامسة إنزيمية كما يحدث في تحليق البروستاجلاندين (Prostaglandin).
- مشتقات البيبيريديل (Bipyridyl) : كما في مبيد الباراكووات والمؤثر على خلايا أنسجة الرئة بالإنسان والحيوان فتحدث عملية تنشيط حيويًا كما يلي بدورة أكسدة واختزال



٢-٣ فوق أكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide : H₂O₂) :
وهو مركب وسطي لأخترال الأكسجين يتكون بلامسة إنزيم
(SOD : Super Oxide Dismutase) وهنا يكون الأكسجين المتكون في حالة
الأساسية أو يتكون تلقائياً :

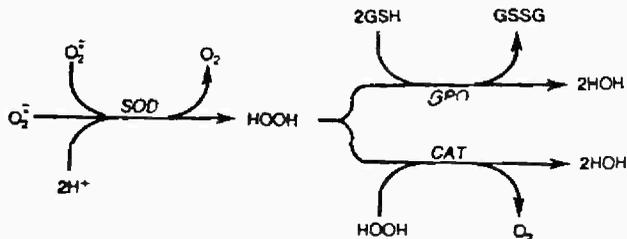


وهنا يتكون أكسجين فردي شديد النشاط لأن الإليكترونين غير
المزدوجين في الحالة الأساسية يصبحا مزدوجين ويتكون مدار جزئي فارغ
وزوج من الأليكترونات الحرة التي يمكنها أن يشغله .
وهنا تنظم الخلية الطبيعية بعدد من آليات الدفاع الأنزيمية واللا أنزيمية
ضد أنواع الأكسجين النشطة حيث توجد ثلاثة أقسام من الأنزيمات تعطى
حماية للخلية ضد أنواع الأكسجين النشطة السابقة (أى أقسام من الأنزيمات
المضادة للتأكسد (Antioxidant) كخط دفاع أول لها فتمنع تحول أنواع
الأكسجين الأقل نشاط (كشق الأنيون فوق أكسيدي H₂O₂ الى أنواع أكثر
تنشيطا مثل شق الهيدروكسيل OH وهى :

الدفاع الإنزيمي :

فوق أكسيد ديميوثير (Super oxide dismutase SOD) :

بروتينات تحتوى على معادن تلامس تحول الشق الأنيوني فوق الأكسيد
إلى أكسجين جزئى في حالة الأساسية وفوق أكسيد الهيدروجين تبعاً لنوع
أيون المعدن الموجود بها حيث يوجد بكميات كثيفة بداخل الخلايا وتظهر
كميات صغيرة منه في البلازما والليمف وله أهميته البالغة فأي خلل تمثلي
يتضمن إنفراد شق أنيوني فوق أكسيدي أو زيادة في تركيزه بأي سائل خارج
الخلايا يكون في منتهى الخطورة بالنسبة للكائن الحي :



١-٢- كاتاليز (Catalase) :

وهو إنزيم يحتوى على الهيم ويتفاعل بشكل متخصص مع فوق أكسيد الهيدروجين ويحوله لماء وأكسجين كما يعمل مساعد للإنزيم (SOD) فى إزالة فوق أكسيد الهيدروجين الناتج مع تفاعل التطفر السابق ويوجد فى معظم الأنسجة داخل خلايا كالكبسولات (Peroxisomes) ويتطلب أقصى نشاط لة تركيزات عالية من فوق أكسيد الهيدروجين وهو ما يميزه عن الأنزيمات الأخرى .

١-٣- جلوتاثيون بيروأكسيديز :

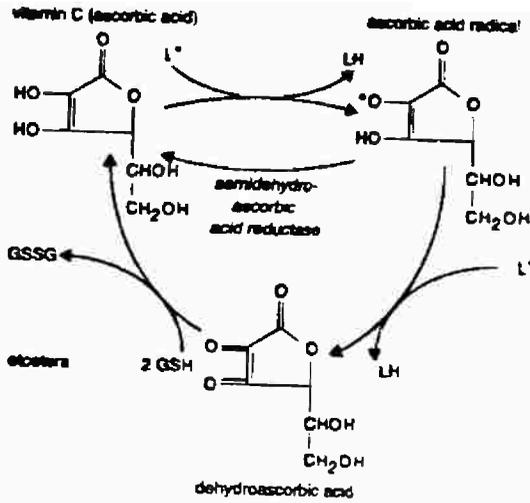
وهو إنزيم يتفاعل وبشكل متخصص مع فوق أكسيد الهيدروجين يحتوى على السيلينيوم ويحول فوق أكسيد الهيدروجين والبيروأكسيدات العضوية وهو إنزيم متخصص للجلوتاثيون وليس لمواد التفاعل البادئة التى تتهار سميتها (هيدروبيرو أكسيدات اللييدات) ويوجد بمعظم الأنسجة بكلا من السائل الخلوى (السيتوسول) بحويصلات خاصة وفى الميتوكوندريا وأعلى مستويات له فى كرات الدم الحمراء والكبد ثم القلب والرئة . وكلا الإنزيمين يعتمدا على أيونات معدن النحاس وأشباه الفلزات كالسيلينيوم كعوامل مساعدة وهو ما يعنى أن المركبات المتداخلة مع تمثيل العناصر الدقيقة ربما تحرك التحكم جزئيا أو كليا فى سمية الخلية فالفضة تثبت إنزيم الجلوتاثيون بيروأكسيديز بالفئران .

٢- الدفاع غير الأنزيمى :

أو خط الدفاع الثانى فيتمثل فى مواد تريل أو تكنس (savers) الشقوق فى الخلية مثل :

٢-١ فيتامين ج (حمض الأسكوربيك) :

الذائب فى الماء ويوجد فى السائل الخلوى (سيتوسول) والمتفاعل بسرعة مع الشق الأنيونى فوق الاكسيدى وفوق أكسيد الهيدروجين وبسرعة اكبر مع شقوق الهيدروكسيل والاكثر من ذلك فهو يزيل الأوكسجين الفردى كما بالشكل رقم (١٢-٣) . وهو كمادة مانعة للتأكسد يظهر تأثيره الدفاعى فى عدسات العين التى لا تحتوى على أنزيمات SOD وفى السائل المحيط بالحبيصلات الرئوية حيث يكمل عمل (SOD) والكاتاليز



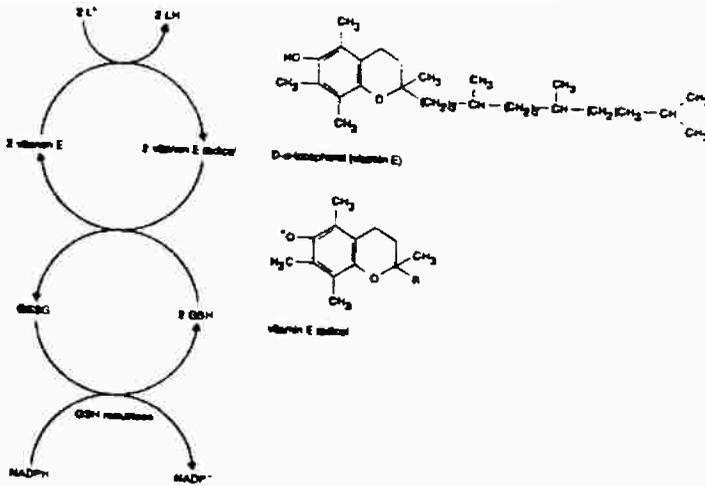
شكل رقم (١٢-٣): إزالة سمية الشقوق الليبيدية (L) بفيتامين ج

٢-٢ فيتامين E (α-توكوفيرول) :

الليوفيللي والمندمج في الأغشية البيولوجية حيث سلاسل الأحماض الدهنية الغير مشبعة غالباً التي بذلك تكون عالية الحساسية للأكسدة بالأكسجين الفردى أو شقوق الهيدروكسيل (سلسلة تفاعلات الأكسدة الفوقية للليبيدات (lipid peroxidation) المسببة لضرر بالغ بالأغشية الخلوية وربما موت الخلية والتي يمكن للأغشية مع مساندة تأثير المواد الضارة للأكسدة على سلسلة هذه التفاعلات .

فيتفاعل α - توكوفيرول مع شقوق الليبيد ليعطى شقوق α توكوفيرول + حمض دهني غير ضار وفي نفس الوقت يمكن وأن تختزل شقوق α -توكوفيرول الى α -توكوفيرول بالجلوتاثيون . ويوجد الفيتامين بتركيز عالي بأغشية العين .

ويحتمل أن يكون α -توكوفيرول هو الليبيد الوحيد الذائب المضاد للأكسدة في بلازما دم الإنسان ويوضح الشكل التالي رقم (١٢-٤) تفاعله مع الشقوق الليبيدية ويلاحظ أن الشقوق الناتجة من تفاعل كلا الفيتامينين أثناء تفاعلات إزالة السمية أقل نشاطاً لتباينها نتيجة الرنين كما أنها تتحول مرة أخرى للفيتامينات الأصلية بالأنظمة المعتمدة على الجلوتاثيون :



شكل رقم (١٢-٤) : إزالة سمية الشقوق الليبيدية بفيتامين (E)

تفاعلات المواد الوسيطة النشطة مع الجزيئات الخلوية :

١- الأرتباط التساهمي وتضمناته السامة (Covalent binding Toxic implications)

ترتبط المواد الوسيطة النشطة تساهميا مع الجزيئات الخلوية كالأحماض النووية والبروتينات والعوامل المساعدة والليبيدات والسكريات العديدة . وقوة تأثيرات العديدة كنقص انتاج الطاقة والتغيرات في نفاذية الأغشية وتثبيط تخليق الجزيئات الكبيرة سبق التعرض لها حيث سيقصر هنا على الأرتباط التساهمي لها مع البروتينات وموت الخلية ، جدول رقم (١٢-٢) .

جدول رقم (١٢-٢) : أمثلة لبعض المركبات القرينة ومملائتها النشطة

ومكان أرتباطها

المادة الغريبة	الممثل النشط المقترح	العضو المستهدف مكان الارتباط
بروموبنزين	٣ و٤ - ايبوكسيد و/أو أوثوكينون	الكبد
أستيامينوفين	كينون إيمين quinonimun	الكبد
رابع كلوريد الكربون	تراي كلوروميثيل أو فوسجين	الكبد
بارا أمينوفينول	كينون إيمين	الكلية
ايبومينول ipomcanol	ايبوكسيد	الرئة

ولقد أدى التأثير المبكر للجرعات الزائدة من البروموبنزين والأسيتامينوفين لإستفاد الجلوتاثيون فى الخلايا الكبدية خارج وداخل الجسم حيث يلعب نظام الجلوتاثيون دورا هاما فى انهيار السمية للموسطيات النشطة لكلا المركبين وهو نفس مسار انهيار سمية كينون ايمين ، وبكلتا الحالتين فإن الدراسات على خلايا الكبد المعزولة برهنت حقيقة حماية الجلوتاثيون لمجاميع الثيول بالبروتينات من مهاجمة الممثلات السامة النشطة .

ولكن عند تحضين خلايا الكبد مع تركيزات عالية من البروموبنزين والأسيتامينوفين أستفدت مجاميع الثيول متبوعة بزيادة فى تركيزات أيونات الكالسيوم (Ca) فى السيتوسول بتركيز ١٠^{-٧} مول /لتر وكذلك البروتينات ، حيث تلعب مجاميع الثيول والمعتمدة على إنزيم ATP ase (Ca²⁺ / Mg²⁺) دورا هاما فى نقل أيون الكالسيوم بين الحجيرات الخلوية وهو ما أدى للاقتراح بأن اضطراب إتران أيون الكالسيوم (Ca- Homeostasis) يرتبط مع الاضطراب فى إتران مجاميع الثيول (وهو ما لوحظ مع تحضين خلايا الكبد مع رابع كلوريد الكربون أيضا) ولزيادة مستوى أيون الكالسيوم فى السيتوسول خطر على الخلية فأرتباط إنزيمات الفوسفوليز بالأغشية يعتمد على أيون الكالسيوم وعليه فأى زيادة فى تركيز أيون الكالسيوم السيتوسولى سيؤدى الي :

- زيادة فى نشاط إنزيم الفوسفوليبيز
- وربما يؤدى الخلل فى إتران أيونات الكالسيوم لتغيرات فى تركيب ونفاذية الأغشية الخلوية والتي تحدث بها أضرار :

- كتحريب الحاجز الواقى بين الخلية وبيئتها
- أنطلاق الأنزيمات الليموسومية المحللة
- زيادة الأكسدة الفوقية للأحماض الدهنية الغير مشبعة .

ولقد وجد أن البروموبنزين والاسيتامينوفين يكونا بثرات حويصلية لخلايا الأغشية (Vesicle formation : blabbing) الكبدية المعزولة وفيما يلي ترتيب العمليات المعتقد أنها تؤدي لموت الخلية :

- تنشيط حيوى
- ثم تتداخل مع جزئيات الخلية الداخلية المنشأ .
- الارتباط التساهمي و هو ما يؤدي إلي اضطراب إتزان الثيول
- و الذي يؤدي بدوره إلي اضطراب أيونات الكالسيوم
- فتتشط إنزيمات الليباز مؤدية لتغيرات مورفولوجية بالخلية في صورة بثرات تنتهي بموت الخلية .

٢-التدخل التأكسدى : ضغط الأوكسدة والأوكسدة الفوقية لليبيدات :

٢-١-الضغط التأكسدى (Oxidative stress) :

حيث التفاعل المستمر للعوامل المؤكسدة داخل الكائن وبمعنى آخر الحالة والتي بها تستخدم مكافئات اختزالية عن مثيلتها بالخلية التي تقوم بوظيفتها الطبيعية .

والأسباب الأولية للضغط التأكسدى هي أنواع الأوكسجين النشطة والتركيبات الكينويدية حيث يدخل الشق الأنيونى فوق الأوكسيدى فى تفاعل مباشر مع مجاميع الثيول :



وربما يكون الشق الأنيونى فوق الأوكسيدى أيضا فوق أكسيد الهيدروجين والذي يقود بدوره لأستخدام المكافئات الاختزالية كنتيجة لأنهيال سمية بأنزيم جلوتاثيون بيروأوكسيداز . فإذا كانت الكفاءة الواقية لأنزيم سوبر

أكسيد ديسميوتيز والكاتاليز غير كافية وتتكون شقوق الهيدروكسيل وأكسجين بحالة فردية .

والشق الأنيوني فوق الأكسدي وفوق أكسيد الهيدروجين ليس نشطين في المحاليل المائية ولهذا يتفاعل معا أى لا يمكنهما تكوين شقوق الهيدروكسيل أو الأكسجين الفردي خلال تفاعل هابر فاس .

ويمكن كئس فوق أكسيد الهيدروجين بفيتامين ج وأتريز جلوتاثيون بيروأكسيديز وكلا من شق الهيدروكسيل والأكسجين الفردي يمكنها أكسدة مجاميع الثيول .

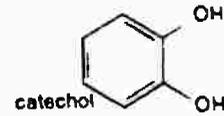
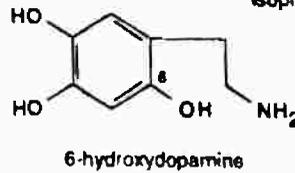
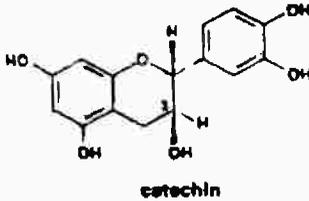
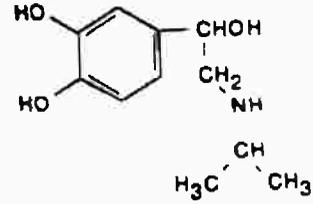
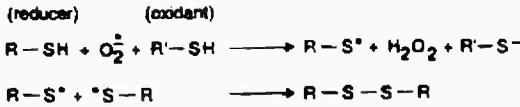
وإنتاج أنواع الأكسجين النشطة وأستخدامها فى اختزال المكافئات يمكن أعتبارها عظيمة بالمواد المأخوذة من هذه المواد يمكنها أيضا التفاعل مباشرة مع مكونات نظام الدفاع الأختزالى (الأختزال بواسطة NADPH والثيول ثم الأقتزان مع الثيول) : فعلى سبيل المثال مركب الأسيتامينوفين يدخل فى تغيرات سواء بالأكسدة أو الأقتزان فى حين 5×10^{-3} - داي ميثيل أسيتامينوفين تختزل فقط .

والسمية الخلوية للأسيتامينوفين و كنيون إيمن مقارنة بالمركب الأصيل حيث لوحظ إستنزاف الجلوتاثيون يعقبه موت الخلية بينما الأسيتامينوفين والكنيون إيمن والإشتقاق منه ليس لهما سمية خلوية . وبالرغم من أن هذا يؤكد أهمية الدور الذى يلعبه الأرتباط التساهمى فى الأستدلال على موت الخلية فإنه يبدو أن ضغط الأكسدة يتبع بإستنزاف مكافئات الأختزال والتي لها تأثيرات مدمرة على الخلية : كأضافة المادة المانعة للأكسدة كاتيكين (Catechin) مع تحضينات خلايا الكبد مع الأسيتامينوفين والتي منعت موت الخلية ولكن بصعوبة كان لها تأثير على الأرتباط التساهمى .

وإستنزاف الجلوتاثيون يخلق ظروف جيدة للأكسدة العالية (الضغط التأكسدى) وهذا ما ظهر فى تتابع الحوادث : التداخل مع المكونات الخلوية والذى يحل محله أستنزاف الجلوتاثيون واضطراب الأتزان الثيولى والضغط التأكسدى المتبوع بإستنزاف المكافئات الأختزالية والذى ربما ينتج من زيادة تركيز أيون الكالسيوم بعدة طرق أولها تثبيط نشاط أتريز ($Ca^{2+}/Mg^{2+} ATPase$) بأكسدة مجاميع الثيول وتخريب الميتوكوندريا الناجم من أكسدة نيوكليوتيدات

البيريدين وزيادة أيونات الكالسيوم السيوسولية بواسطة (NADPH & NADH)

و الأنواع الأكسجينية النشطة المعتقد تضمنها في التأثيرات السيوسولية للفينولات عديدة الهيدروكسيل كالكاتيكول أمين (Catechol amine) في الخلايا العصبية وخلايا العضلات القلبية والتي تأخذ مكانها في درجات الأكسدة والأختزال خلال الأكسدة الذاتية (Auto oxidation)



وكمثال لدراسة آلية السمية العصبية لمركب 6-هيدروكسي دوبامين لتوضيح هل السمية تعود للأكسدة الذاتية له إلى أورثو - كينون أو إلى التداخل مع مجاميع الثيول حيث نفذت الدراسة على خلايا البلاستوما العصبية (Neuro blastoma cells) . فتشيط التيميددين والمنظم للنيكوتين أميد داي نيوكليوتيد (NAD) أستخدم كمقياس للسمية الخلوية . ولقد قورن مركب 6-هيدروكسي دوبامين مع عدد من المركبات قريبة التركيب مثل الإيبينفرين والنوراييبينفرين و ٥,٤,٢ - تراى هيدروكسي فينيل الأنين حيث ظهر أن المركب الأول أكثرها سمية ويدخل في تفاعلات الأكسدة الذاتية بينما مركب أورثوكينون ومركب 6-هيدروكسي دوبامين يتفاعلا فقط مع مجاميع الثيول بدرجة ضعيفة .

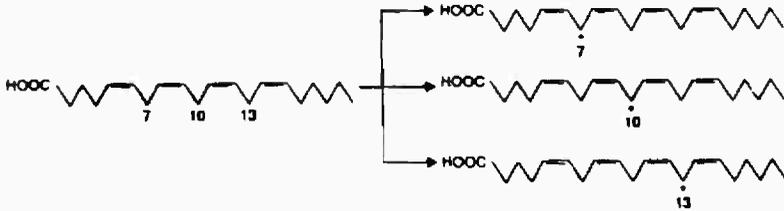
وبتحضين خلايا العضلات القلبية مع المركب الأدريناليني (Sympatho mimetic : Isoproterenol) أدى لزيادة في تركيز أيون الكالسيوم

السيٲوسولى مٲبوع بٲخريب خلوى والذى أمكن منعة بأضافة فيٲامين ج للٲحضين .

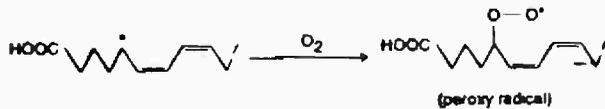
٢-٢ الأكسدة الفوقية للبيدات (Lipid peroxidation):

بالإضافة للخلل فى أٲزان أيون الكالسيوم فإن الضغط الأوكسدى والذى يٲبغ أستزاف المكافئات الأختزالية ربما يقود لسبب آخر لٲخريب الغشاء والمسمى بالأكسدة الفوقية للبيدات فالأكسدة الفوقية وموت الخلية عادة ما يسيرا معا . وهنا سنتاول بعض العمليات بالتفصيل والٲى من خلالها تسبب هذه المركبات الوسطية ٲخريب الخلية :

- فعند تجريد ذرة الهيدروجين من سلسلة الأحماض الدهنية الغير مشعبة العديدة بأكسجين فردى وشق هيدروكسيلي (تكوين الشقوق -المبادرة) . حيث يٲم النزاع عند أماكن تقابل مجموعتين الليلتين (١٠و٧)، ١٣ :



- تفاعل نواتج شقوق الأحماض الدهنية مع الأكسجين الجزينى :أكسجة (oxygenation) أو الأكثر ٲخصصا (الأكسدة الفوقية) أما بالنسبة لعملية الأكسجة فلو كان الجزينى الفوقى فى موقع متأخم للرابطة الزوجية بهيكل الحمض (موقع ١٥) يٲنٲج هيدروبيروكسيد :



- ومن شقوق الهيدروبيروكسيدات الناتجة ربما تتكون تحت تأثير أيون الحديد (Fe²⁺) خلال تفاعل هابر فايس أو ربما تتشق هذه الشقوق فى

وبكسر فوق الأكسيد الداخلي ينتج مالون داى أدهيد ونواتج أخرى .
وإذا ما أتمتت العمليات السابقة الأغشية الحيوية (كأغشية الخلايا
الإندوبلازمية الشبكية وأغشية الميتوكوندريا وأغشية الليسوسومال) فانها
تسبب تخريب أو هدم قوى لهذه الأغشية .

كذلك يؤثر الشق الهيدروكسيلي الأكسيجيني الفردى على تركيب الغشاء
بطريقة غير مباشرة من خلال نواتج الأكسدة الفوقية لليبيد مثل مالون داى
أدهيد. وبتكثيف الربط العرضى (cross-linking) والمالون داى أدهيد مع
مجاميع الأمين الأولية فى البروتينات والفوسفوليبيدات فينتج نواتج
فلوروسنتية ذات أوزان جزئية عالية عند طول موجى ٤٧٠ نانوميتر عقب
أثارها بطول موجى ٣٦٠-٣٨٠ نانوميتر وهو ما يسمى بقاعدة شيف (Schiff
base).

ولدرجة هذه الرابطة علاقة مع العمر فنسيج الرئة لكبار السن يظهر
إحتوانه على كثير من النواتج ذات الأوزان الجزئية العلية و التي تظهر
إشعاع فلوروسيني أكثر قوة عن الأشخاص الأصغر سنا و يرجع السبب أنه
يتقدم العمر فإن القدرة على عزل أنواع الأكسجين النشطة تقل . وكما سبق
فإن الأكسدة الفوقية لليبيدات وموت الخلية عادة ما يسيرا جنبا لجنب ومع
ذلك فليس واضحا أن موت الخلية ينتج من الأكسدة الفوقية لليبيدات أو
العكس .

فعند دراسة السمية على مركب أسيتامينوفين فى خلايا الكبد المعزولة
فالعامل المختزل داى سفليد داى ثيوثريتول (Disulfide dithio thretol) يعطى
الحماية ضد التأثيرات السامة ولكن ليس ضد الأكسدة الفوقية لليبيدات .

**طرق تقدير الموت الموضعي: التتركز والإرتباط التساهمي والأكسدة الفوقية
للدهون :**

ثبات مستوى التتركز (Establishing the Necrosis level) :

بعد الموت الموضعي : التتركز مرحلة متقدمة وعادة ما تكون مرحلة
غير عكسية لتلف (فساد) الخلايا ومحتوياتها كالميتوكوندريا والليسوسومات
والشبكة الإندوبلازمية الناعمة (SER) والخشنة (RER) وتتميز بوجود أجزاء
الخلية (Cell fragment) مثل الأجزاء الميتوكوندرية والليسوسومية وأغشية
الخلية والإندوبلازم الشبكي الخشنة المحببة وأنوية الخلية والخلايا الميتة .

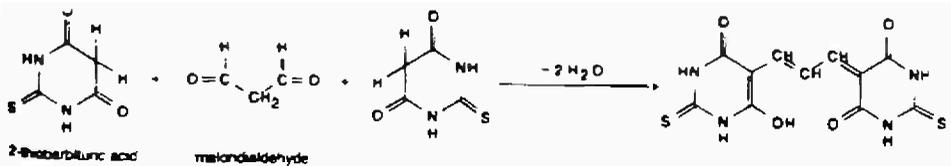
ومن الأهمية في أبحاث السمية الخلوية دراسة التغيرات المورفولوجية باستخدام الميكروسكوب الإلكتروني وهناك أدلة تشير بأن نتائج الأبحاث المورفولوجية ربما تعزى للأبحاث الآلية وعلى سبيل المثال :

المواد ذات السمية الكبدية تحدث بثرات (blabbing) لأغشية الخلايا الكبدية وبدراسة الأسباب المحتمل أنها السبب في تكوين البثرات مقارنة بثالث بيوتيل هيدروبيروكسيد $\{(CH_3)_3C-COOH\}$ والليل أيسوسيانات $\{CH_2=CH-CH_2N=CS\}$. وتظهر البثرات نتيجة لتلف الميتوكوندريا عدا حالة أليل أيسوسيانات وكنتيجة لهدم الخلايا ومكوناتها تنفرد أنزيمات مثل بيتا جليكورونيديز من الليسوسوم كما ينفرد الفوسفاتيز الحامضى والقاعدى واللاكتيك ديهيدروجينيز (LDH) والأثيلين أمينوترانس فيريز (AIT) والأسبارتات أمينوترانس فيريز (APT) والأيزوستيرات ديهيدروجينيز من السيوسول ويصاحب هذا الأنفواد زيادة في نشاطهم في بيئة التحضين وهذه الزيادة عموما تستخدم كدلائل في تقدير السمية الخلوية كمقياس حساس .

تقدير الارتباط التساهمي والأكسدة الفوقية للبييدات :

لتقدير الأرتباط التساهمي لمادة مع البروتين يلزم أن تكون المادة معلمة وبعد التحضين معها تعزل وتجانس الخلايا وبالطرد المركزى يتكشف المتجانس ويعطى الأجزاء المتكون منها البروتين والتى بإحداها تكون المادة المعلمة مرتبطة. وتستخدم طرق مختلفة لتقدير الأكسدة الفوقية للبييدات كطريقة حمض الثيو باربيتيوريك ومنها تكون نواتج الأكسدة الفوقية للبييدات مثل مالون داى ألدهيد تتكثف مع الحمض كما بالمسار ، شكل رقم (١٢-٧) : ونواتج التكتيف الناتجة لها أقصى امتصاص عند ٥٣٥ نانوميتر وهذه الطريقة غير متخصصة بالنسبة للمالون داى ألدهيد (MDA) ومن عيوبها أن المالون داى ألدهيد يدخل في تفاعل تمثيل داخل الخلية .

أما الطريقة الثانية فهى تقدير أسبكتروفوتومتري للدابين (Dicnes) الناتجة من الأكسدة الفوقية حيث أقصى امتصاص عند ٢٣٣ نانوميتر . وطريقة أخرى حيث النواتج ذات الوزن الجزيئى العالى الناتجة من (Cross linking) مع المالون داى ألدهيد تقدر فلوريا (fluorimetrically) .



شكل رقم (٧-١٢): التفاعل التكتيقي للمالون داي الدهيد مع ٢-ثيو
باربيتيوريك