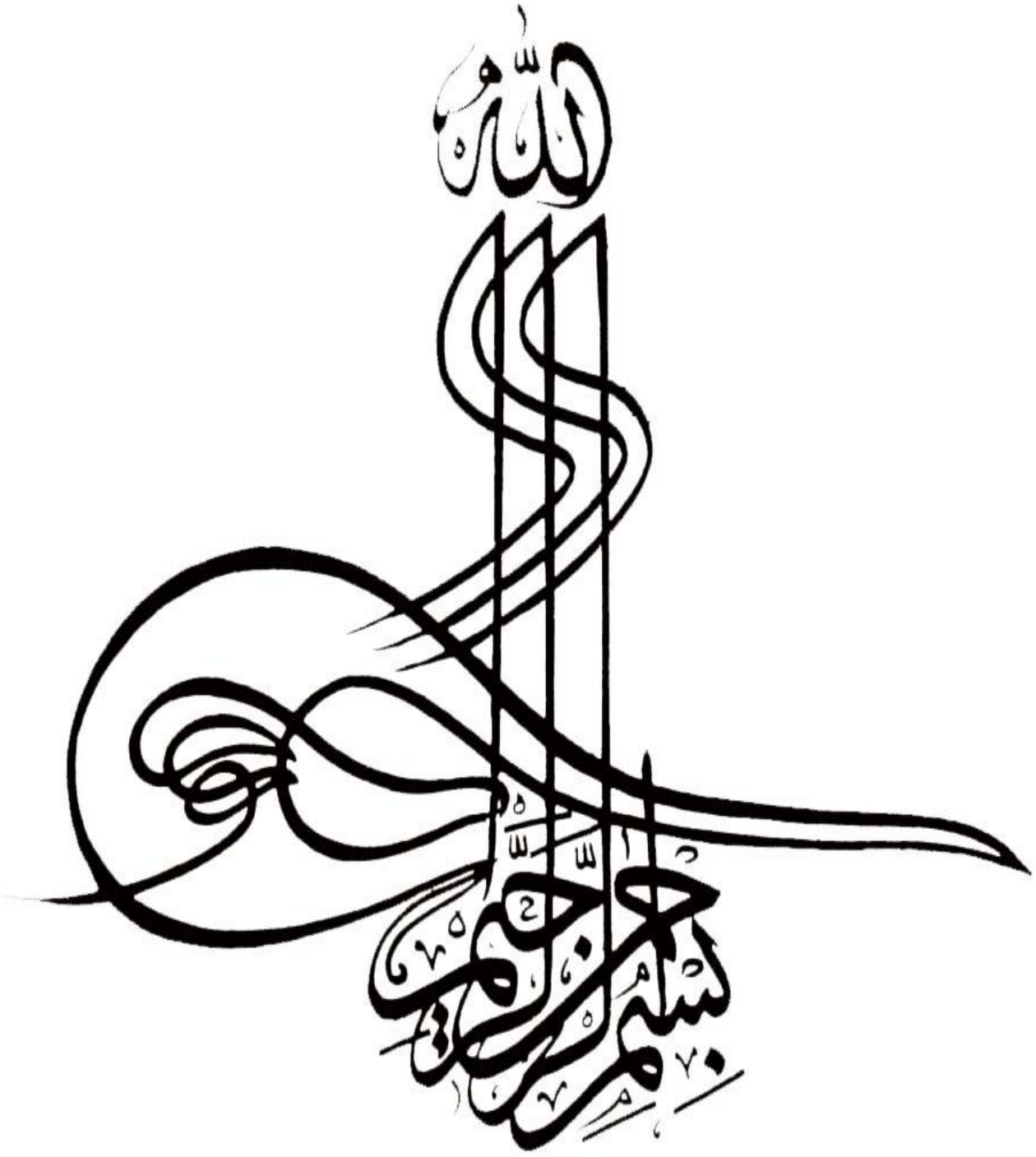
الله
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه شهید چمران اهواز
دانشکده دامپزشکی

۹۲۵۸۹۷۳

پایان‌نامه دکترای عمومی دامپزشکی

عنوان:

بررسی فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز در سرطان پستان

استاد راهنما:

دکتر علی شهریاری

استاد مشاور:

دکتر عبدالحسن طلایی زاده

نگارش:

نجمه السادات ابطحی

بهمن ماه ۱۳۹۲

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه‌ی دکتری عمومی)

پایان‌نامه‌ی آقای/ خانم **نجمه السادات ابطحی** دانشجوی رشته: **دامپزشکی** از دانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی: **۸۷۵۸۰۲** تحت عنوان: **بررسی فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز در سرطان پستان** جهت اخذ مدرک: **دکتری عمومی دامپزشکی** در تاریخ: **۱۳۹۲/۱۱/۳۰** توسط هیأت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه: **عالی** به تصویب رسید.

۱	اعضای هیأت داوران	مرتبه علمی	سمت	امضا
۲	دکتر علی شهریاری	دانشیار	استاد راهنمای اول	
۳	دکتر عبدالحسن طلایی زاده	دانشیار	استاد مشاور	
٤	دکتر محمد راضی جلالی	استاد	استاد داور	
٥	دکتر محمد شفیعی	استادیار	استاد داور	
٦	دکتر نغمه بختیاری	استادیار	استاد ناظر	
۷	دکتر سید رضا فاطمی طباطبایی	دانشیار	مدیر گروه	
۸	دکتر بابک محمدیان	دانشیار	معاون پژوهشی دانشکده	
۹	دکتر عبدالرحمان راسخ	استاد	مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه	

گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان‌نامه: **بررسی فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز در سرطان پستان**

اینجانب **نجمه السادات ابطحی** دانشجوی **دکترای عمومی رشته‌ی دامپزشکی** دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران به شماره دانشجویی **۸۷۵۸۰۲** تحت راهنمایی **دکتر علی شهریاری** و مشاوره **دکتر عبدالحسن طلایی زاده**، گواهی می‌دهم که:

۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان‌نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تایید می‌کنم.

۲- در صورت استفاده از آثار دیگران، مشخصات کامل آن‌ها را در منابع ذکر نموده‌ام.

۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان‌نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری به منظور اخذ هر نوع مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.

٤- در تدوین متن پایان نامه، شیوه‌نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده‌ام.

۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن، ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز (Shahid Chamran University of Ahvaz) به چاپ خواهد رسید.

٦- حقوق معنوی تمامی افرادی که در این پایان‌نامه تاثیرگذار بوده‌اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد.

۷- در صورت استفاده از موجودات زنده یا بافت‌های آن‌ها، کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور موازین و اصول اخلاق پژوهش وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.

در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هر گونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح بر عهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران هیچ مسئولیتی بر عهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضییع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده و اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارات وارده خواهم بود.

نجمه السادات ابطحی

تاریخ ۱۳۹۲/۱۱/۳۰

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه‌ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامه‌های رایانه‌ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

تقدیم به

این پایان نامه را با کمال افتخار تقدیم می کنم

به پادشاه و ملکه زندگیم

که در قلعه آنها آرامش را یافتم

و

نغمه و محمد عزیزم، یاوران همیشگی من

سپاسگزاری

با تشکر از دکتر علی شهریاری

و دکتر عبدالحسن طلایی زاده

و تشکر ویژه

از دکتر سیاوش منصوری که با تلاششان این پایان نامه جان گرفت.

نام خانوادگی: ابطحی	نام: نجمه السادات	شماره دانشجویی: ۸۷۵۸۰۲
عنوان پایان نامه: بررسی فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز در سرطان پستان		
استاد/ استاد راهنما: دکتر علی شهریاری		
استاد/ استاد مشاور: دکتر عبدالحسن طلایی‌زاده		
درجه تحصیلی: دکترای حرفه‌ای	رشته: دامپزشکی	
دانشگاه: شهید چمران اهواز	دانشکده: دامپزشکی	گروه:علوم پایه
تاریخ فارغ التحصیلی: ۱۳۹۲/۱۱/۳۰	تعداد صفحه: ۵۸	
کلید واژه ها: فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز، سرطان پستان		

چکیده

مالات دهیدروژناز دارای نقش محوری در متابولیسم سلول است. مالات دهیدروژناز در سیتوزول از طریق شاتل مالات آسپارتات NADH تولیدی در مسیر گلیکولیز را وارد میتوکندری کرده و آن را اکسید می‌کند و از این نظر با لاکتات دهیدروژناز رقابت می‌کند. با در نظر گرفتن متابولیسم متفاوت انرژی در سلول سرطانی در مقایسه با سلول سالم, هدف این مطالعه مقایسه کینتیک آنزیم مالات دهیدروژناز به عنوان یک آنزیم کلیدی در متابولیسم انرژی در بافت سرطانی پستان و بافت سالم است.

نمونه ها به طور مستقیم از اتاق عمل گرفته شده وبلافاصله در نیتروژن مایع قرار داده شدند. بررسی فعالیت آنزیم بر روی نمونه‌های هموژنیزه تحت شرایط بهینه سوبسترا وکوفاکتور وبر اساس تغییرات جذب نوری در طول موج nm 340با توجه به احیا و اکسیداسیون NADH انجام گرفت. فعالیت آنزیم با برنامه MPA به دست آمد. مقدارK_m وV_{max} توسط رگرسیون غیر خطی با استفاده از نرم افزار کینتیک محاسبه شد.

غلظت بهینه در هر دو نمونه‌های سالم و توموری برای اگزالواستات میلی مولار 1/5 و برای NADH 0/8 میلی مولار بود. غلظت بهینه مالات و NAD^+ برای هر ۲ بافت به ترتیب ۲۵ و ۳ میلی مولار بود. K_m اگزالواستات برای هر دو بافت مشابه بود اما K_m مالات در بافت سرطانی کمتر از بافت سالم بود. (K_m مالات در تومور0/79±4/95و در بافت سالم 1/3±8/59میلی مولار بود). V_{max} برای اگزالواستات در بافت سالم بیشتر از تومور بود ($p<0/05$).

V_{max} بیشتر آنزیم برای اگزالواستات در سلول سرطانی میتواند نشان دهنده تولید بیشتر NADH به منظور حمایت از روند گلیکولیز باشد. در واکنش برگشت K_m کمتر مالات میتواند نشان دهنده تمایل بیشتر آنزیم برای مالات باشد. به عبارت دیگر در تومور تمایل به تبدیل مالات به اگزالواستات و یا پیرووات بیشتر است. تفاوت k_m مالات در تومور و بافت سالم می‌تواند به دلیل تفاوت ساختاری آنزیم مالات دهیدروژناز در بافت سالم و توموری باشد که این امر ممکن است نتیجه تغییرات پس از ترجمه در حین تومورزایی باشد.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه و هدف ۲

فصل دوم: مروری بر منابع ٦

الف-گلیکولیز هوازی ۹

ب – گلوتامینولیز ۱۲

فصل سوم: مواد و روش کار ١٤

الف-۱- مواد مورد نیاز ۱۷

الف-۲- وسایل مورد نیاز ۱۸

ب-روش کار ۱۸

ب-۱-نمونه گیری ۱۸

ب-۲- هموژنیزه کردن بافت و استخراج آنزیم ۱۸

ب-۳- اسپان کروماتوگرافی ۱۹

ب-٤- اساس اندازه گیری فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز ۲۰

ب-٤-۱-کالیبره کردن دستگاه قرائت میکروپلیت ۲۱

ب-٥-روش اندازه گیری فعالیت آنزیم ۲۲

ب-٦- بهینه سازی واکنش‌های رفت و برگشت ۲۳

ب-٦-۱- اساس بهینه سازی واکنش رفت و برگشت ۲۳

ب-٦-٢- روش بهینه سازی سوبستراهای واکنش رفت ٢٣
ب-٦-٣- روش بهینه سازی سوبستراهای واکنش برگشت ٢٤
ب-٦-٤- بهینه سازی آنزیم ٢٤
ب-٧-کینتیک آنزیم ٢٥
ب-٧-١- اساس کینتیک آنزیم ٢٥
ب-٧-غلظت‌های سوبستراهای واکنش رفت برای محاسبه Km و Vmax ٢٦
ج- روش آماری ٢٦
فصل چهارم: نتایج ٢٤
الف- بهینه سازی ٢٨
الف-١-بهینه سازی واکنش رفت ٢٨
الف-١-١-بهینه سازی اگزالواستات ٢٨
الف-١-٢-بهینه سازی NADH ٢٩
الف -٢- بهینه سازی واکنش برگشت ٣٠
الف-٢-١-بهینه سازی مالات ٣٠
الف-٢-٢-بهینه سازی NAD^+ ٣١
ب-ارزیابی خصوصیات کینتیک ٣٢
ب-١-اگزالواستات ٣٢
ب-١-١-km و Vmax اگزالواستات در بافت سالم ٣٢
ب-١-٢-Km و Vmax اگزالواستات در بافت توموری ٣٣

ب-۱-۳-مقایسه K_m و،V_{max}اگزالواستات در بافت سالم و توموری..... ۳٤
ب-۲-NADH..... ۳٤
ب-۲-۱- NADH در بافت سالم..... ۳٤
ب-۲-۲- K_m وV_{max} ، NADH در بافت توموری..... ۳۵
ب-۲-۳-مقایسه K_m و V_{max} ،NADHدر بافت توموری..... ۳٦
ب-۳-مالات..... ۳٦
ب- ۳-۱-K_m و V_{max} مالات در بافت سالم..... ۳٦
ب-۳-۲-K_m وV_{max} مالات در بافت تومور..... ۳۷
ب-۳-۳-مقایسه K_m و V_{max} مالات در بافت سالم و توموری..... ۳۸
ب-٤-NAD^+..... ۳۸
ب-٤-۱-K_m وV_{max} در بافت سالم..... ۳۸
ب-٤-۲- K_m و V_{max}، NAD^+، در بافت توموری..... ۳۹
ب-٤-۳- مقایسه K_m، V_{max} ،NAD^+ میان بافت سالم و بافت توموری..... ٤۰
فصل پنجم:..... ۳۷
بحث و نتیجه گیری..... ۳۷
بحث..... ٤۲
الف –واکنش رفت..... ٤۳
ب-واکنش برگشت..... ٤۷
پیشنهادات..... ۵۳

منابع ٤٨

منابع ٥٥

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار۱-۲: گلیکولیز ۱۰

نمودار۲-۲: گلوتامینولیز ۱۳

نمودار٤-۱: بهینه سازی اگزالو استات در بافت سالم و توموری ۲۹

نمودار٤-۲: بهینه سازی NADH در بافت سالم و توموری ۳۰

نمودار٤-۳: بهینه سازی مالات در بافت سالم و توموری ۳۱

نمودار٤-٤: بهینه سازی NAD^+ در بافت سالم و توموری ۳۲

نمودار٤-٥:Km اگزالواستات در بافت سالم ۳۳

نمودار٤-٦:km اگزالواستات در بافت توموری ۳۳

نمودار٤-۷: مقایسه Kmو Vmax اگزالو استات در بافت سالم و تومور ۳٤

نمودار٤-۸: Km، NADH در بافت سالم ۳٥

نمودار٤-۹: Km، NADHدر بافت توموری ۳٥

نمودار٤-۱۰:مقایسه Kmو Vmax، NADH در بافت سالم و توموری ۳٦

نمودار٤-۱۱: Km مالات دربافت سالم ۳۷

نمودار٤-۱۲:k_m مالات دربافت توموری ۳۷

نمودار ٤-۱٤: Km، NAD^+دربافت سالم ۳۹

نمودار ٤-۱٥: Km، NAD^+دربافت توموری ۳۹

نمودار٤-۱٦ :مقایسهKmو Vmax، NAD^+در بافت سالم و توموری ٤۰

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه و هدف

سرطان بیماری فراگیر قرن ۲۱ است که در حال حاضر دومین عامل مرگ و میر در آمریکاست و پیش بینی شده است که تا سال ۲۰۳۰ تعداد افراد مبتلا ۲ برابر خواهد شد، که این آمار خود نشان دهنده اهمیت بالای این بیماری و دلیلی مهم برای بررسی و درمان سرطان است. از سوی دیگر مکانیسم پر از رمز و راز این بیماری باعث علاقه بسیاری به بررسی سرطان شده است. با وجود مطالعات فراوان در مورد سرطان هنوز بشر در برابر این بیماری در تاریکی به سر می برد.

این بیماری از جنبه‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفته است؛ پاتولوژی، ایمونولوژی و... اما متابولیسم و تولید انرژی در سلول‌های سرطانی، یکی از جنبه‌های بسیار جالب و ناشناخته می‌باشد که در دهه های اخیر مورد توجه پژوهشگران قرار گرفته است.

سلول های سرطانی برای تقسیم و رشد غیر قابل کنترل و گسترش به سراسر بخش های بدن به انرژی نیاز دارند(۱).تامین انرژی در سلول‌های سرطانی مانند دیگر سلول ها بواسطه دریافت مواد مغذی از طریق گردش خون و انجام مسیرهای کاتابولیکی است,اما سیستم گردش خون در تومورها به کارآمدی این سیستم در بافت های طبیعی نمی باشد که از علل آن می توان به میزان بالای بی نظمی عروقی,پیچیده بودن عروق, وجود شانت های سرخرگی-سیاهرگی , انتهاهای کور,کمبود عضلات صاف و عصب رسانی ,غشای پایه و اندوتلیال ناقص اشاره کرد.این سیستم

ناکارآمد سبب اختلال در گردش خون توموری و در نتیجه اختلال در رساندن اکسیژن و مواد غذایی به سلول های سرطانی می گردد,که از نتایج آن ایجاد هیپوکسی در تومورها می باشد(۲).

کم بودن فشار اکسیژن ,سبب بروز هیپوکسی در سلولهای توموری میشود که به عنوان یکی از نشانه های اصلی در تومورها مشخص گردیده است.پاسخ های بیولوژیکی گوناگونی درسلول ها در پاسخ به شرایط هیپوکسیک وجود دارد.یکی از نخستین مسیر های تشخیص داده شده در سلول های هیپوکسیک ,تغییر در جریان متابولیسم ازهوازی به بی هوازی (گلیکولیز) است.در تایید مطلب فوق, Otto Warburg در دهه ۱۹۲۰ نشان داد که که میزان گلیکولیز در سلول های سرطانی حتی در حضور اکسیژن نیز بسیار بالا می باشد(۳). یک توضیح قانع کننده برای اثر واربرگ این است که متابولیسم تغییر یافته سلول‌های سرطانی یک مزیت انتخابی برای بقا و تقسیم شدن سلول‌هاست زیرا در مسیر گلیکولیز انرژی بیشتری نسبت به فسفریلاسیون اکسیداتیو تولید می‌شود. از سوی دیگر این اتفاق باعث می‌شود که چرخه کربس بیشتر در بیوسنتز واسطه‌ها برای تولید نوکلئوتیدها، گلیسرول و سیترات برای چربی ها، اسید آمینه‌های غیر ضروری فعال باشد تا تولید انرژی در واقع اثر واربرگ مسیر بیو سنتز و بیوانرژیتیک را با هم فراهم می‌کند(۳۱).

یکی از مسیرهای بسیار مهمی که از طریق آن سلول ها، پاسخ خود را به میزان پایین اکسیژن نشان می‌دهد فاکتور رونویسیHypoxia inducing factor-1 می باشد(٤). مطالعات متعددی نشان داده اند که زیر واحد HIF-1α درتعداد زیادی از تومورها قابل ردیابی است که در بافت‌های طببعی مربوطه وجود نداشته است(۵). HIF-1α یک فاکتور رونویسی کلیدی است که علاوه برهیپوکسی که سبب افزایش فعالیت آن می‌شود ,H2O2 و همچنین تجمع متابولیت‌های گلوکز و چرخه کربس (پیرووات، سوکسینات، فومارات و اگزالو استات) در شرایط غیر هیپوکسیک سبب

القای بیان آن می‌شود(٦). به دنبال فعال شدن این زیر واحد ژن‌های کلیدی در پیشرفت سرطان رو نوشت برداری می‌شود.HIF-1α در رگ زایی، تهاجم و متاستاز سلول سرطانی نقش دارد(۱۲،۱۱).

HIF–1α با تأثیر بر روی دو آنزیم کلیدی در متابولیسم گلوکز سبب تغییر در جریان متابولیسم سلولی می‌شود. از طرفی سبب افزایش میزان LDH-A شده و از سوی دیگر با تحریک فعالیت پیروات دهیدروژناز کیناز سبب توقف فعالیت پیروات دهیدروژناز می‌شود (توقف فعالیت این آنزیم سبب عدم تبدیل پیروات به استیل کوآ و ورود آن به چرخه کربس می‌گردد)، نتیجه همزمان این دو رویداد، تجمع پیروات و تبدیل آن به لاکتات توسط LDH-A و در نهایت افزایش جریان گلیکولیز می‌باشد(۱۰،۹،۸،۷).

یکی از موارد مهم و ضروری به منظور ادامه جریان گلیکولیز وجود فرم مولکولی NAD^+ می باشد. سلول برای تأمین این مولکول از چند مسیر متفاوت استفاده می‌نماید: چرخه کربس، آنزیم لاکتات دهیدروژناز و مالات دهیدروژناز. نقطه مشترک و مهم در هر سه این مسیرها، تبدیل NADH به NAD^+ است. با توجه به میزان بالای گلیکولیز در سلول‌های سرطانی نیاز به NAD^+ نیز در این سلول ها برای حفظ جریان گلیکولیز ادامه می‌یابد.

با دقت در ۲ مسیر متابولیسمی سلول‌های سرطانی و حضور آنزیم مالات دهیدروژناز در هر دو، میتوان به اهمیت این آنزیم در سلول‌های سرطانی پی برد.

آنزیم مالات دهیدروژناز(MDH, L-malate : NAD, EC 1.1.1.37)

دارای دو ایزو آنزیم است:

۱- سیتوزولی (c-MDH)

۲ - میتوکندریایی (m-MDH

شکل سیتوزولی این آنزیم درشاتل آسپارتات–مالات NADH را اکسید کرده و آن را به NAD تبدیل کرده و از این نظر با آنزیم لاکتات دهیدروژناز رقابت میکند. بررسی فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز می تواند نشان دهنده این نکته باشد که سلول های سرطانی به چه میزان از این مسیر برای تولید NAD^+ به منظور حفظ جریان گلیکولیز استفاده می نمایند.

نجمه السادات ابطحی

بهمن ماه ۱۳۹۲

فصل دوم

مروری بر منابع

فصل دوم: مروری بر منابع

سلول‌های سرطانی برای تقسیم و رشد غیرقابل کنترل و گسترش به سراسر بخش‌های بدن به انرژی نیاز دارند .تأمین انرژی در سلول‌های سرطانی مانند دیگر سلول‌ها بواسطه دریافت مواد مغذی از طریق گردش خون و انجام مسیرهای کاتابولیکی است. اما سیستم گردش خون در تومورها به کارآمدی این سیستم در بافت‌های طبیعی نمی باشد که از علل آن می‌توان به نکات زیر اشاره کرد: میزان بالای بی‌نظمی عروقی، پیچیده بودن عروق، وجود شانت‌های سرخرگی-سیاهرگی، انتهاهای کور، کمبود عضلات صاف و عصب رسانی، غشای پایه و اندوتلیال ناقص. این سیستم ناکارآمد سبب اختلال در گردش خون توموری و در نتیجه اختلال در رساندن اکسیژن و مواد غذایی به سلول‌های سرطانی می‌گردد، که یکی از نتایج آن ایجاد هیپوکسی در تومورها می‌باشد (١٤).

کم بودن فشاراکسیژن، سبب بروز هیپوکسی در تومورها می‌شود که به عنوان یکی از نشانه‌های اصلی در تومورها مشخص گردیده است. هیپوکسی باعث فعال شدن رونویسی مجموعه ای از فاکتورها به نام عامل القا هیپوکسی می‌شود(HIF) که سازگار شدن سلول‌ها را به کاهش اکسیژن کنترل می کنند(١٣،١١).

مطالعات متعددی نشان داده اند که زیر واحد HIF-1α در تعداد زیادی از تومورها قابل ردیابی است درحالیکه در بافت‌های طبیعی مربوطه وجود نداشته است. HIF-1 یک فاکتور رونویسی کلیدی می‌باشد که در شرایط هیپوکسی فعالیت آن افزایش می یابد. همچنین H2O2 و تجمع متابولیت های گلوکز و چرخه کربس (مانند: پیروات، اگزالواستات، سوکسینات و فومارات) در شرایط غیرهیپوکسیک نیز سبب القای بیان آن می‌شوند.HIF در رگ زایی، تهاجم، متاستازو تولید لاکتات نقش دارد. این ژن بیان آنزیم‌های گلیکولیتیک را افزایش می‌دهد و فسفوریلاسیون میتو کندریایی را در سلول های سرطانی کاهش می‌دهد(۵،۱۰،۱۲،۱۱) .

یکی از نخستین مسیرهای تشخیص داده شده در سلول‌های هیپوکسیک، تغییر در جریان متابولیسم از هوازی به بی هوازی (گلیکولیز) است. در تأیید مطلب فوق، Otto Warburg دردهه ۱۹۲۰ نشان داد که میزان گلیکولیز در سلول‌های سرطانی حتی در حضور اکسیژن نیز بسیار بالا می‌باشد.

الف-گلیکولیز هوازی

به طورکلی در سلول سالم پس از تبدیل ۱۰ مرحله ای گلوکز به پیرووات در سیتوزول، در حضور O2 و در میتوکندری پیرووات اکسید شده و تولید H2O، CO2 و ATP می‌کند (Pasture effect). در سال ۱۹۲۰،Otto Warburg درتحقیقات خود برروی سلول‌های سرطانی متوجه شد که متابولیسم در این سلول‌ها متفاوت از سلول‌های عادی و سالم است. در واقع وی متوجه شد که در آنها مسیر هوازی وجود ندارد و تمایل این سلول‌ها برای استفاده از مسیر گلیکولیز بسیار زیاد است. در طی این مسیر که آن را Warburg effect می‌نامند گلوکز پس از طی ۱۰ مرحله همانند سلول‌های سالم به پیروات تبدیل می‌شود اما پیروات به جای ورود به چرخه کربس و زنجیره