دانشکده علوم

گروه:بیوشیمی

عنوان پایان نامه

بررسی ارتباط بین شاخص های آنتی اکسیدانی خون و پایداری گلبول های قرمز آن در حین نگهداری کیسه های خون

پایان نامه:

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته:بیوشیمی

مولف

نرجس خاتون خاکستانی شهری

استاد راهنما

آقای دکتر اصغر زربان- آقای دکتر مسعود صالح مقدم

ماه و سال انتشار

شهریور۱۳۸۸

دانشگاه پیام نور

دانشکده علوم

گروه بیوشیمی

عنوان پایان نامه

بررسی ارتباط بین شاخص های آنتی اکسیدانی خون و پایداری گلبول های قرمز آن در حین نگهداری کیسه های خون

پایان نامه :

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته:بیوشیمی

مولف

نرجس خاتون خاکستانی شهری

استاد راهنما

آقای دکتر اصغر زربان- آقای دکتر مسعود صالح مقدم

استاد مشاور

جناب آقای مهندس غلامرضا شریف زاده

ماه و سال انتشار

شهریور۸۸

فهرست

فصل اول:کلیات

١مقدمه:..... ٢

١-١رادیکالهای آزاد..... ٤

١-١-١-ماهیت چندگانه رادیکالها..... ٦

١-١-٢سمیت و فعالیت مترادف یکدیگر نیستند..... ٧

١-١-٣انواع رادیکال های آزاد ١٢

١-١-٤سنجش میزان فعالیت رادیکال های آزاد..... ١٣

١-٢ تکامل آنتي اکسیدانها و آنزیم هاي آنتي اکسیداني..... ١٨

١-٢-١ماهیت چند وجهي آنتي اکسیدانها..... ١٩

١-٢-٢انواع آنتی اکسیدان ها ٢١

١-٢-٣ مکانیسم دفاع آنتي اکسیداني..... ٢٦

١-٣ استرس اکسیداتیو..... ٢٧

١-٣-١استرس اکسیداتیو ناشی از عوامل زیر است..... ٣٢

١-٣-٢مکانیسم هاي آسیب رساني به اهداف سلولي به وسیله استرس اکسیداتیو..... ٣٢

١-٣-٢-١آسیب به DNA..... ٣٣

١-٣-٢-٢آسیب به پروتئین..... ٣٤

١-٣-٢-٣روند شیمیایي پراکسیداسیون لیپیدها..... ٣٨

١-٣-٣ سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی ٤١

١-٤خون وفراورده های خونی..... ٤٣

١-٤-١محلولهاي ضد انعقاد – نگهدارنده ٤٣

١-٤-٢ترکیبات مواد ضد انعقاد – نگهدارنده..... ٤٤

١-٤-٣محلولهاي افزودني (AS-1 و AS- 3 و AS-5)..... ٤٤

٤
١-٤-٤آسيب هاي نگهداري خون..... ٤٥
١-٥ مروری بر پژوهش های پیشین..... ٤٧
فصل دوم:مواد و روشها..... ٤٣
٢-١روش FRAP..... ٥٤
٢-١-١اصول..... ٥٤
٢-١-٢مواد مورد نیاز..... ٥٤
٢-١-٣تهیه معرف آماده کار FRAP..... ٥٤
٢-١-٤روش کار..... ٥٥
٢-٢ اندازه گيري ميزان پراکسيداسيون ليپيدها در پلاسما با روش تيوباربيتوريك اسيد (کاليمتريك)..... ٥٥
٢-٢-١اصول..... ٥٥
٢-٢-٢مواد و معرف ها..... ٥٦
٢-٢-٣روش کار..... ٥٦
٢-٣ اندازه گيري گروه هاي تيول پلاسما با معرف المن..... ٥٧
٢-٣-١اصول..... ٥٧
٢-٣-٢مواد و معرف ها..... ٥٨
٢-٣-٣روش کار..... ٥٨
٢-٤اندازه گیری آنزیم کاتالاز..... ٥٨
٢-٤-١اصول..... ٥٨
٢-٤-٢مواد و معرف ها..... ٥٩
٢-٤-٣روش کار..... ٥٩
٢-٥ اندازه گیری آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ٦٠
٢-٥-١اصول..... ٦٠
٢-٥-٢مواد و معرف ها..... ٦٠

٢-٥-٣روش انجام کار..... ٦١
٢-٦اندازه گیری آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز..... ٦١
٢-٦-١اصول..... ٦١
٢-٦-٢مواد و معرف ها..... ٦٢
٢-٦-٣روش انجام کار..... ٦٢
٢- ٧ اندازه گیری مقاومت گلبولی..... ٦٣
٢-٧-١اصول..... ٦٣
٢-٧-٢مواد و معرف ها..... ٦٤
٢-٧-٣روش انجام کار..... ٦٤
٢- ٨ اندازه گیری آنزیم لاکتات دهیدروژناز ٦٥
٢-٩ روش تعیین حجم نمونه..... ٦٥
٢-١٠ روش تجزیه و تحلیل داده ها..... ٦٦
فصل سوم:نتایج..... ٦٧
٣-١ نتایج مربوط به تست های GPX و SOD در نمونه های همولیزات..... ٦٨
٣-٢ نتایج مربوط به تست LDH در نمونه های پلاسما..... ٧٠
٣-٣ نتایج مربوط به تست FRAP در نمونه های پلاسما..... ٧١
٣-٤ نتایج مربوط به تست GPX و SOD در نمونه های پلاسمایی..... ٧٣
٣-٥ نتایج مربوط به تستMDA در نمونه های پلاسمایی..... ٧٦
٣-٦ نتایج مربوط به تست ELMAN در نمونه های پلاسمایی..... ٧٧
٣-٧ نتایج مربوط به تست کاتالاز در نمونه های همولیزات..... ٧٨
٣-٨ نتایج مربوط به تست مقاومت گلبولی..... ٧٨
فصل چهارم:بحث و نتیجه گیری..... ٧٩
٤-١ نتیجه گیری مربوط به سنجش آنزیم های SOD , GPX در همولیزات..... ٨٠

٤-٢ نتیجه گیری مربوط به سنجش آنزیم های GPX و SOD در پلاسما ٨

٤-٣ نتیجه گیری روند تغییرات آنزیم لاکتات دهیدروژناز در پلاسما..... ٨٣

٤-٤ نتیجه گیری حاصل از بررسی روند تغییرات FRAP در طول نگهداری..... ٨٤

٤-٥ نتیجه گیری حاصل از تست های ELMAN و MDA و کاتالاز..... ٨٦

٤-٦ نتیجه گیری نهایی و پیشنهادات..... ٨٧

رفرنس ٨٩

فهرست جداول

جدول٣-١-مقایسه میانگین SOD در چهار فاصله زمانی در نمونه های همولیزات مورد مطالعه..... ٦٨

جدول٣-٢ مقایسه میانگین GPX در چهار فاصله زمانی در نمونه های همولیزات مورد مطالعه ٦٩

جدول٣-٣ مقایسه میانگین LDH در چهار فاصله زمانی در نمونه های همولیزات مورد مطالعه ٧٠

جدول٣-٤ مقایسه میانگین FRAP در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما مورد مطالعه..... ٧٢

جدول٣-٥ ٧٢مقایسه میانگین نسبت FRAP به LDH در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما..... ٧٢

جدول٣-٦ مقایسه میانگین GPX در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما مورد مطالعه ٧٤

جدول٣-٧ مقایسه میانگین نسبت GPX به LDH در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما..... ٧٤

جدول٣-٨ مقایسه میانگین SOD در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما مورد مطالعه..... ٧٥

جدول٣-٩ مقایسه میانگین MDA در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما مورد مطالعه..... ٧٦

جدول٣-١٠ مقایسه میانگین ELMA در چهار فاصله زمانی در نمونه های پلاسما مورد مطالعه..... ٧٧

جدول ٣-١١ مقایسه میانگین CAT در چهار فاصله زمانی در نمونه های همولیزات مورد مطالعه..... ٧٨

فهرست اشکال

شکل ١-١:رادیکال های آزاد مهم بدن و نحوه بدام اندازی آنها ٣

شکل ١-٢:واکنش های اساسی تولید رادیکال آزاد در بدن..... ٨

شکل ١-٣:منابع اولیه تولید داخل سلولی سوپراکسید..... ١٤

شکل ١-٤:نحوه به دام اندازی رادیکالهای آزاد توسط سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی..... ١٧

شکل ۱-۵:تغییرات بیوشیمیایی خون در مدت ذخیره..... ..... ٤٥

Abbreviations: اختصارات:

AS-1 …….. Additive solution-1

SAS- 3..... Additive solution-2

AS-5..... Additive solution-3

AOC..... Antioxidant capacity

CPD..... Citrate-phosphate-Dextrose

CPDA-1..... Citrate-phosphate-Dextrose-Adenin

CP2D..... Citrate-phosphate-2-Dextrose

DNPH .....Dinitrophenylhydrazine

2, 3 DPG..... 2.3diphosphate gihserose

DPPH 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl

DTNB..... 2,2Dithiobisnitrobenzoic Acid

ET ..... Electron transfer

FCR..... Folin-Ciocalteu reagent

H2 O2..... Hydeogen Superoxid

HAT .....Hidrogen atob transfer

HO˚ .....Hydroxyl radical

HOBR.....Hpoboroumos Acid

HOCL..... Hypochlorous Acid

LDL..... Low density Lipoprotein

$O2^{-}$ .....Superoxide anione

$ONOO^{-}$ .....Proxynitrit

ORAS..... Oxygen radical absorbance capacity

NO2˚ ……..…… Nitrogen dioxide

RO2˚.....Proxyl Radical

RBC.....Red blood cell

RO˚..... Aikoxyl Radical

RNS .....Reactive NitrogenSpecies

ROS .....Reactive Oxygen Species

TBARS..... Thiobarituric Acid Reacting Substances

TPTZ..... Tripyeidyl-S-Triazine

TEAC..... Trolox equivalence antioxidant capccity

TRAP..... Total Plasma radical-Trapping Parameter

چکیده:

زمینه:گلبولهای قرمز به دلیل نقش فیزیولوژیک ویژه خود در حمل اکسیژن از سویی و داشتن غشاء لیپیدی از سوی دیگر پیوسته در معرض حمله رادیکالهای آزاد قرار دارند. افزایش تولید رادیکال های آزاد با صدمه به غشاء سلول موجبات پارگی غشاء و همولیز را فراهم می آورد.سیستم دفاع آنتی اکسیدانی خون که شامل آنزیم های سوپراکسید دیسموتاز،گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و انتی اکسیدانهای موجود در پلاسما می شود با یه دام اندازی این رادیکالهای آزاد از تخریب سلولی جلوگیری میکنند.

روش کار:در این پزوهش تلاش شده است که از کیسه های خونی که حاوی CPDA1 می باشند و شرایط نگهداری مشابه با کیسه های خون بانک خون دارند در سه نوبت متوالی پایان هفته اول،دوم و چهارم نمونه گیری انجام شود.بعد از جداسازس همولیزات از پلاسما در هر نوبت نمونه گیری نمونه های پلاسما و همولیزات بطور جداگانه تا زمان انجام آزمایش در فریزر منفی ۸۰درجه سانتیگراد نگهداری شد.نتایج حاصل از انجام تست های FRAP، ELMAN، MDA، GPX، SOD، LDH پلاسما ر این نمونه ها با نتایج حاصل از نمونه ای که روز اول مستقیما از رگ گرفته شده مقایسه گردید و به همین ترتیب در همولیزات نیز آنزیم های GPX و SOD اندازه گیری و با میزان این دو آنزیم در نمونه روز اول که مستقیما از رگ گرفته شد مقایسه گردید.

کاهش چشمگیر انزیم های GPX و SOD نمونه های همولیزات در پایان هفته اول از نکات در خور توجه این پژوهش بود تا جایی که در پایان هفته اول میزان این دو آنزیم عملا به نصف مقدار

اولیه آن رسید.تغییرات کاهشی GPX در نمونه های پلاسمایی نیز به لحاظ آماری معنی دار گردید. LDH نمونه های پلاسمایی نیز که بعنوان شاخص لیز سلولی بررسی گردید با گذشت زمان افزایش معنی داری را نشان می دهد. ظرفیت تام انتی اکسیدانی پلاسما (FRAP) نیز در طول چهار هفته نگهداری کاهش نشان داد اما نتایج حاصل از تست های SOD پلاسما و MDA و ELMAN معنی دار نبود.

نتیجه گیری:هر چه مدت زمان نگهداری خونهای ذخیره افزایش می یابد لیز سلولی نیز افزایش می یابد که نشانگر افزایش تولید رادیکال های آزاد از سویی و کاهش قدرت دفاعی سیستم انتی اکسیدانی خون از سوی دیگر می باشد. ضعف قابل توجه سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی در پایان هفته اول و افزایش LDH بعنوان شاخص لیز سلولی بیانگر وسعت تخریب اکسیدانی موجود در محیط می باشد . بر این اساس بهترین زمان مصرف خونهای ذخیره شده هفت روز اول نگهداری آنهاست که با نتایج تحقیقات قبلی همخوانی دارد.

کلمات کلیدی: رادیکال آزاد، آنتی اکسیدان ،همولیزات،GPX ، SOD ، LDH ، FRAP ، MDA ، ELMAN

فصل اول:کلیات

مقدمه:

رادیکالهای آزاد مولکولهایی هستند که از نظر شیمیایی بسیار فعال هستند و تولید این رادیکالها یک فرایند طبیعی واکنش های متابولیسمی بدن می باشند. رادیکالها از طریق ترکیب با آنتی اکسیدانها از بدن حذف می شوند.

رادیکال های آزاد استرس اکسیداتیو و آنتی اکسیدانها نام هایی هستند که اغلب در موقع صحبت از مکانیسم های بیماریها به کار می روند. به نظر می رسد متابولیسم رادیکال آزاد یک موقعیت مرکزی و واضح در مکانیسم بسیاری از انواع بیماریهای انسانی به ظاهر غیر وابسته دارد. شناخت واقعی نحوه تولید رادیکالهای آزاد از شناخت حقیقت پایه در مورد طبیعت واکنش های شیمیایی که حیات را پشتیبانی می کنند، و از شناخت ساختار غیرمتعارف اکسیژن که حیات بر آن استوار است ، حاصل می آید.

واکنش های اکسیداسیون – احیاء (ردوکس) در مرکز ماشین متابولیسمی ما قرار دارند. واکنش های ردوکس شامل انتقال الکترون ها یا اتم های هیدروژن از یک واکنش دهنده به دیگریست . زندگی در کره ما شامل دو شکل حیات می شود.

۱- گیاهان فتوسنتز کننده که انرژی خورشید را به دام می اندازند و از آن در تولید ترکیبات کربنی احیاء شده که تولید آنها به لحاظ ترمودینامیکی نامطلوب است ، استفاده می کنند.

۲-در نهایت ما این عناصر کربنی را مصرف می کنیم و در واکنش های ترمودینامیکی مطلوب می سوزانیم.

واکنش های اخیر به الکترونها اجازه می دهند که به مولکولهایی از قبیل اکسیژن که بیشترین تمایل را به آنها دارند انتقال داده شوند و در ضمن اینکار مقدار زیادی انرژی آزاد گردد که نیروی حیاتی ما را تأمین می گرداند. این فرایند تنها برای مولکول اکسیژن که ساختار غیرمعمولی دارد به طور معمول انجام می گردد.

تأثیرات سیتوتوکسیک رادیکالهای آزاد شامل آسیب رساندن به سلولهای جانوری و دخالت در پاتوژنز بسیاری از بیماری های قلبی – عروقی است.

افزایش جذب مواد غذایی ، تولید رادیکال آزاد میتوکندریایی را افزایش می دهد که در نتیجه آن استرس اکسیداتیو رخ می دهد . بنابراین کاهش کالری دریافتی موجب کاهش تولید رادیکال های آزاد و به عقب انداختن پیری در جانوران می گردد. در شرایط فیزیولوژیک بین ۱ تا ۳ درصد از اکسیژن مصرفی بدن به سوپر اکسید و سایر رادیکالهای آزاد می شود. در طول چرخه زندگی هر فردی ممکن است در اثر استفاده از اکسیژن در سرعت بالا (مثل ورزشهای رقابتی یا کارهای بدنی سنگین) یا فعال سازی خود ایمنی در سلولهای سیستم ایمنی یا فاکتورهای محیطی مخرب از قبیل آلاینده های حاوی NO ، نیتروژن دی اکسید و رادیکال های هیدروکسیل ، دچار استرس اکسیداتیو گردد. تماس طولانی با رادیکال های آزاد حتی در یک میزان پایین ممکن است منجر به آسیب مولکولهای مهم بیولوژیکی و در نهایت موتاسیون DNA ، آسیب بافتی و بروز بیماری گردد. بنابراین با وجود اینکه مولکول اکسیژن برای حیات هوازی کاملاً ضروریست تحت شرایط ویژه ای می تواند سمی هم باشد . این پدیده اصطلاحاً پارادوکس اکسیژنی نامیده می شود.

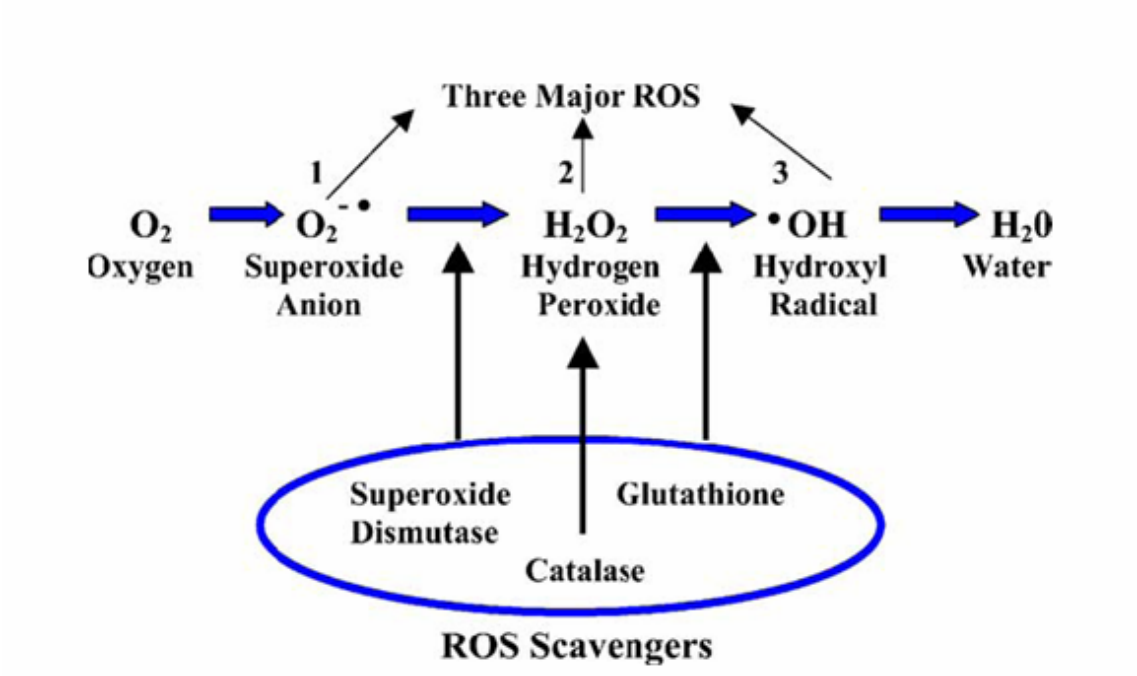
۱-۱رادیکالهای آزاد

رادیکال آزاد به مولکولی اطلاق می شود که یک الکترون جفت نشده در اربیتال خارجی خود دارد. و به طور معمول ناپایدار و فعال می باشد.

اکسیژن دارای دو الکترون است که اسپین آنها با هم جفت نیست و هر کدام یک اربیتال را در اختیار دارد . به لحاظ ترمودینامیکی ، اکسیژن مایل است که الکترونهای اضافی را به دام اندازد (دو الکترون به ازای هر اتم یا ٤ الکترون به ازای هر مولکول) و مولکول آب را تولید کند که انرژی آزاد کمتری دارد. این توزیع غیر معمول الکترونها در مولکول اکسیژن پذیرش یک جفت الکترون با اسپین های موافق را غیر ممکن می سازد . بنابراین یکی از آن الکترونهای جفت نشده یک چرخش اسپین خود به خودی را متحمل می شود تا جفت شدن امکان پذیر گردد.

به دلیل رابطه ما با اکسیژن کنترل کردن آن بسیار مشکل است . تحت شرایط نرمال بیولوژیکی اکسیژن در حالت کنترل شده قرار دارد تا از طریق اتو اکسیداسیون غیر آنزیمی از سایر مولکولها الکترون نگیرد . از آنجا که نمی تواند یک جفت الکترون با اسپین موافق بپذیرد باید منتظر بماند تا هر یک از الکترونها را در یک زمان به دام بیاندازد. رادیکال های آزاد در نتیجه شکستن این جفت الکترون تشکیل می شوند. اگر اکسیژن محصولی با یک الکترون احیاء شده تولید کند نتیجه رادیکال سوپر اکسید (O^{-}_{2}) خواهد بود. اگر هر دو الکترون انتقال داده شوند محصول H_2O_2 یا هیدروژن پراکسید خواهد بود که رادیکال نیست . با این وجود هنوز اکسیژن مایل است پذیرنده الکترونهای بیشتری باشد که در نتیجه هیدروژن پراکسید به یک اکسیدان سیتوتوکسیک تبدیل می شود. برخی کلات های آهن فروس و مس قادرند سومین الکترون را به هیدروژن پراکسید انتقال دهند و پیوند

O-O را بشکنند. یک قطعه احیاء می شود و آب تشکیل مـی گـردد و قطعـه دیگـر رادیکـال آزد OH° (هیدروکسیل) خواهد بود.



شکل ۱-۱:رادیکال های آزاد مهم بدن و نحوه بدام اندازی آنها

مثال های رادیکال اکسیژن عبارتند از: سوپر اکسید ، هیدروکـسیل ، پراکـسیل (RO°_2) و آلکوکـسیل (RO°)و هیدروپراکسیل (HO°_2) .

نیتریک اکسید و نیتروژن دی اکسید (NO°_2)رادیکال های آزاد نیتروژنی هستند. رادیکال هـای آزاد اکـسیژن و نیتـروژن مـی تواننـد بـه گونـه هـای فعـال غیـر رادیکـالی ماننـد هیـدروژن پراکـسید ، هیپوکلروردس اسید (HOCL) ، هیپو بروموس اسـید (HOBR) و پراکـسی نیتریـت ($ONOO^{-}$) تبدیل شوند، رادیکال های آزاد اکسیژنی (ROS)،رادیکال های آزاد نیتروژنی (RNS)گونـه هـای فعال کلرین تحت شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیکی در انسان و حیوانات تشکیل می گردند. بنابراین ROS و RNS شامل گونه های رادیکالی و غیر رادیکالی می شوند.

۱-۱-۱-ماهیت چندگانه رادیکالها

روندهای تکاملی در جهت بهتر کردن ، شرایط موجود هستند. مثالهایی از مراحل تکاملی شامل کنترل و اجتناب از گونه های سمی نامطلوب می شوند و نمونه های دیگری نشاندهنده اینکه چگونه این گونه های فعال می توانند در پاسخ های دفاعی یا حتی در فرآیندهای تنظیمی و ارتباطی داخل سلولی مؤثر باشند. رادیکالهای آزاد نقش مهمی در اصل حیات و تکامل بیولوژیکی ایفا می کنند و این نقش آنها بر تأثیرات سودمندشان در ارگانیسم ها دلالت می کند. رادیکالهای اکسیژن نقش های حیاتی مهمی از قبیل انتقال سیگنال ، همانند سازی ژن و تنظیم فعالیت گوانیلات سیکلاز محلول را در سلول ایفا می کند. NO نیز یکی از شایع ترین مولکولهای سیگنالی است که تقریباً در تمام عملکردهای سلولی و ارگانلی دخیل می باشد . سطوح فیزیولوژیک NO تولید شده توسط سلولهای اندوتلیال برای تنظیم استراحت و تکثیر سلولهای عروقی ماهیچه ای صاف، چسبندگی لوکوسیت ها ، تجمع پلاکت ها، انقباض عضلانی ورگ زایی ضروریست. علاوه بر این NO تولید شده توسط نرونها به عنوان یک نورترانسمیتر بکار می رود و NO تولید شده در ماکروفاژها یک واسطه مهم در پاسخ های ایمنی است . درست مانند اکسیدانتها و مهارکننده های آنزیمی که یک مرکز آهن – گوگردی دارند ، رادیکالهای آزاد و سایر گونه های فعال هم باعث اکسایش بیومولکولها می شوند و در نتیجه این عمل منجر به آسیب و مرگ سلولی می گردند. گونه های ROS موجب تغییر ویژگی های فیزیکی ، شیمیایی و ایمونولوژیکی سوپراکسید دیسموتاز(SOD) می شوند که این عمل به نوبه خود آسیب های اکسیداتیو سلولی را بیشتر تشدید می کند.از سویی دیگر رادیکالهای آزاد در کشتن پاتوژن ها از طریق ماکروفاژهای فعال شده و سایر فاگوسیت های سیستم ایمنی ، موثر هستند . بنابراین دو چهره

از رادیکالهای آزاد در بیولوژی دیده می شود که در آن از سویی سیگنالینک و تنظیم مولکولها در سطوح فیزیولوژیک انجام می شود و از سوی دیگر آسیب رسانی و مرگ اکسیداتیو در سطوح پاتولوژیک رخ می دهد.

یکی از جالبترین صورتهای تکاملی توانایی تبدیل موقعیت های بد به شرایط مناسب است . مثال های روشنی وجود دارند که نشان می دهند چگونه تولیدات اکسیژنی فعال می شوند. در حالیکه ما به صورت عموم سعی می کنیم از تولید آنها به هر قیمتی که شده جلوگیری می کنیم. بهترین مثال تکامل NADPH اکسیداز فاگویستوزهای ماست.رادیکال ها نقش مهمی در دفاع ما علیه حمله میکروبها بازی می کنند . تولید رادیکال سوپر اکسید بوسیله لوکوسیت های پلی مورفونوکلئر فعال شده و سایر فاگوسیت ها یک جزء ضروری در سیستم دفاعی بدن است . از آنجا که سوپر اکسید سیتو توکسیک است ، NADPH اکسیداز برای غلبه بر پایداری کنتیکی NADPH ضروریست تا اجازه دهد کهNADPH بوسیله مولکولهای اکسیژن اکسید گردد و رادیکال سوپر اکسید تولید گردد. سوپر اکسید به عنوان یک آنتی بیوتیک با طیف وسیع مورد استفاده قرار می گیرد.

سیستم انتقال الکترون میتوکندریایی منبع مهمی از سوپراکسید است . زیرا NADH ، NADPH و $FADH_2$ به طور گسترده از طریق متابولیسم هوازی پروتئین ، چربی و گلوگز تولید می گردند.

۱-۱-۲سمیت و فعالیت مترادف یکدیگر نیستند.

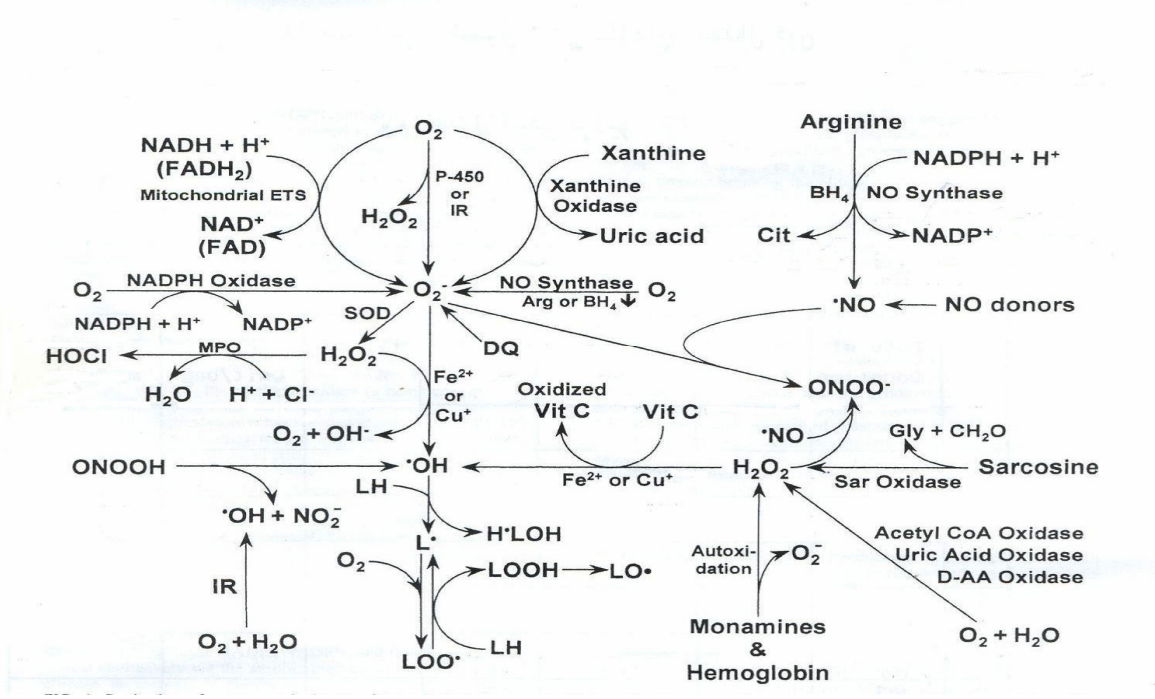
خانواده سیانید با وجود اینکه فعالیت چندانی ندارند اما سمیت بالایی دارد.خانواده واسطه های فعال مشتق شده از احیاء ناقص اکسیژن شامل رادیکال سوپر اکسید ، پراکسید هیدروژن و رادیکال های هیدروکسیل می شوند. درست نیست که به این گروه عنوان رادیکال آزاد مشتق از اکسیژن اطلاق

شود زیرا یکی از آنها ، هیدروژن پر اکسید، رادیکال آزاد نیست . هم اکنون چندین نـام بـرای ایـن خانواده بکار می روند. متابولیت های اکسیژن فعال (ROM) و اکسیژن فعال (AO) از این قبیـل هستند. هیپوکلروس اسید که از اکسیژن با دخالت آنزیم هـایNADPH اکـسیداز و میلوپراکـسیداز موجود در نوتروفیل ایجاد می شود ، پراکسی نیتریت و حتی نیتریک اکسید که همـه جـزء اکـسیداها هستند از مولکول اکسیژن مشتق می شوند. با وجود اینکه فعالیت شیمیایی رادیکـال سـوپر اکـسید در حد متوسط است، سمیت آن به راحتی اثبات شده است . اشرشیاکلی شـامل سـه ژن بـرای SODs است . یکی از آنزیمها منگنز ، دیگری آهن و سومی روی و مس را به عنوان کوفـاکتور اسـتفاده مـی کنند. دگرگونی دو ژن اصلی کد کننده آنزیم های آهن و منگنز منجر به عدم رشد بـاکتری در محـیط حداقل وهوازی می گردد اما هنوز قادر است در محیط بی هوازی رشد کنـد.بـه شـرط افـزودن تمـام اسیدهای آمینه به محیط کشت باکتری قادر بـه رشـد در محـیط هـوازی خواهـد بـود. در حقیقـت ، دهیدراتازهای مخصوصی در E.coli شناسایی شده اند که متعاقباً بوسیله رادیکال سـوپر اکـسید غیـر فعال می گردند. α و β دی هیدروکسی ایزووالرات دهیدراتاز و فسفو گلوکونـات دهیـدراتاز از این جمله اند . ثابت شده که بیش از یک دو جین آنزیم همه ، به طور مشابه بوسیله سوپر اکسید غیـر فعال می گردنداز قبیل : کاتالاز، گلیسر آلدهید-۳ – فـسفات دهیـدروژناز ، اورنیتـین دکربوکـسیلاز ، گلوتاتیون پراکسیداز ، میوفیبریلاز ، ATP_{ase} ، آدنیلات سیکلاز ، کـراتین فـسفو کینـاز و گلوتـامین سینتاز.به نظر نمی رسد که سمیت سوپر اکسید تنها بـه خـاطر توانـایی آن در جلـوگیری از عملکـرد آنزیم های ویژه ای است که مسیرهای متابولیسمی حیاتی را تضعیف می کند بلکه اثـر آن روی سـایر کلاسهای اصلی مولکولهای بیولوژیکی نیـز دیـده شـده اسـت . عـدم کـارایی SOD در E.coli ،

سرعت موتاژنریز را افزایش می دهد و بیانگر نقش غیر مستقیم یا مستقیم رادیکالها در آسیب رسانی به DNA است. در شرایط ischemia و reperfusion ، نتیجه اصلی افزایش بیش از حد سوپر اکسید ، افزایش لیپو پراکسیداسیون خواهد بود. در اینجا رادیکال سوپر اکسید نقش های متناقضی را ایفا می کند از یک سو آغاز کننده و از سوی دیگر پایان دهنده زنجیره لیپو پراکسیداسیون است .

۱-۱-۳انواع رادیکال های آزاد

اکسیژن برای تولید تمام گونه های ROS ، RNS و گونه های فعال کلروزین لازم است . واکنش های اساسی برای تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن و نیتروژن در بدن در شکل زیر نشان داده شده اند.



شکل ۱-۲:واکنش های اساسی تولید رادیکال آزاد در بدن

الف-نیتریک اکسید