جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية /كلية علوم الحاسوب والرياضيات
قسم الرياضيات الطبية

نموذج رياضي لأستقلاب الجلوتاثيون

By: Michael C Reed*[1], Rachel L Thomas[1], Jovana Pavisic[1,2], S Jill James[3], Cornelia M Ulrich[4] and H Frederik Nijhout[2]

بحث مُعَدْ من قبل الطالبين

حيدر كاظم حمود و اية صباح كريم

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الرياضيات الطبية من كلية

علوم الحاسوب والرياضيات

بأشراف

الأستاذ المساعد الدكتور

ضياء غازي صالح

2018

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿اقْرَأْ بِاسْمِ رَبِّكَ الَّذِي خَلَقَ (١) خَلَقَ الْإِنْسَانَ مِنْ عَلَقٍ (٢) اقْرَأْ وَرَبُّكَ الْأَكْرَمُ (٣) الَّذِي عَلَّمَ بِالْقَلَمِ (٤) عَلَّمَ الْإِنْسَانَ مَا لَمْ يَعْلَمْ (٥)﴾

صَدَقَ اللهُ العَلِيُّ العَظِيم

سورة العلق الآية (١-٥)

الاهداء

إلى النور الذي ينير لي درب النجاح

أبي

ويا من علمتني الصمود مهما تبدلت الظروف

أمي

الى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة الى رياحين

حياتي

اخوتي

الخلاصة

- ماهو الجلوتاثيون؟

- كيف يتم تصنيعه في الجسم ؟

- وماهي فوائده ؟

في هذا البحث سوف نقوم بدراسة الجلوتاثيون (GSH)...

وهو انزيم مهم في جسم الكائن الحي مسؤول عن الكثير من الاعراض في جسم الكائن الحي حيث قد يؤدي العجز في الجلوتاثيون الى الشيخوخة ومجموعة من الأمراض بما في ذلك مرض الزهايمر، ومرض باركنسون، وأمراض القلب والأوعية الدموية، والسرطان، ومتلازمة داون يتم تصنيعه في الكبد عن طريق مسار ترانزفورماتيون وتصديرها لتوفير السلائف لتوليف GSH في الموقع من قبل الأنسجة الأخرى

في الفصل الأول ندرس خصاص الجلوتاثيون الفيزيائية والكيميائية

في الفصل الثاني ندرس دورات الجلوتاثين في الجسم

في الفصل الثالث ندرس بعض الامراض التي يسببها عجز الجلوتاثيون

المقدمة

الجلوتاثيون (GSH) يلعب دورا هاما في الدفاعات المضادة للأكسدة و إزالة السموم. يتم تصنيعه في المقام الأول في الكبد عن طريق مسار ترانزفورماتيون وتصديرها لتوفير السلائف لتوليف GSH في الموقع من قبل الأنسجة الأخرى. وقد يؤدي العجز في الجلوتاثيون الى الشيخوخة ومجموعة من الأمراض بما في ذلك مرض الزهايمر، ومرض باركنسون، وأمراض القلب والأوعية الدموية، والسرطان، ومتلازمة داون والتوحد.

نستكشف خصائص التمثيل الغذائي الجلوتاثيون في الكبد عن طريق تجريب نموذج رياضي من استقلاب احادي الكاربون ، مسار ترانسفولوفيراتيون، والتوليف الجلوتاثيون والقص والانهيار. ويستند هذا النموذج على خصائص معروفة من الانزيمات وتنظيم تلك الانزيمات عن طريق الاكسدة. نستكشف نصف عمر الجلوتاثيون، وتنظيم تخليق الجلوتاثيون، وحساسيته للتقلبات في مدخلات الأحماض الأمينية. نحن نستخدم نموذج لمحاكاة ملامح الأيض لوحظ سابقا في متلازمة داون والتوحد ومقارنة نتائج النموذج للبيانات السريرية.

نبين أن أحواض الجلوتاثيون في الخلايا الكبدية والدم غير حساسة تماما للتقلبات في مدخلات الأحماض الأمينية وتقدم تفسيرا يعتمد على تنبؤات النموذج. في المقابل، وتبين لنا أن حمامات الجلوتاثيون الكبدي حساسة للغاية لمستوى الاكسدة. يظهر النموذج أن الإفراط في التعبير عن الجينات على الكروموسوم ٢١ وزيادة في الاكسدة يمكن أن يفسر الملف الأيضي لمتلازمة داون. النموذج أيضا يحاكي بشكل صحيح الملف الأيضي للتوحد عند زيادة الاكسدة بشكل كبير وتركيز الأدينوزين. وأخيرا، نناقش كيف ينشأ الاختلاف الفردي وعواقبه على استقلاب واحد من الكربون والجلوتاثيون.

الفصل الأول

1-1 الخلفية داخل الخلايا

الجلوتاثيون هو قليل الوزن الجزيئي ثلاثي الببتيد (γ- السيتوسول حيث يوجد في المقام الأول في شكل انخفاض (GSH) غلوتاميل-سيستينيل-جليكاين) وجدت في عالية نسبيا كون- وإلى حد أقل بكثير كما أكسيد ثاني كبريتيد أشكال شكل (٠.٥ - ١٠ ملم) في جميع خلايا الثدييات ارتفاع نسبة GSSG / GSH يوفر تركيزات منخفضة بشكل حيوي (٢-٢٠ ميكرومتر) في البلازما. والحد من البيئة داخل الخلية. GSH هو manufac-

تمزق في السيتوسول من خلال عملية مكونة من خطوتين:

الخطوة الأولى، التي تجمع بين السيستين والجلوتامات، وتحفزها γglutamylcysteine سينثيتاس (GSH).

والخطوة الثانية، التي تضيف بقايا الجلايسين، وتحفزها الجلوتاثيون سينثيتاس (GSH). يتم إنتاج الجلايسين و الغلوتامات واستخدامها من قبل العديد من ردود الفعل الأيضية ولها تركيزات عالية عصاري خلوي نسبيا.

السيستين سيتوسوليك هو الحد من الأحماض الأمينية لتوليف GSH لأنه يحتوي على تركيز منخفض بالمقارنة مع الجلايسين والغلوتامات.

ويأتي السيستين سيتوسوليك من ثلاثة مصادر فقط:

(١) من الميثيونين عن طريق دورة الميثيونين ومسار ترانسفولوفيراتيون،

(٢) الاستيراد المباشر إلى الخلية من البلازما

(٣) من هضم البروتين الزائد على تخليق البروتين.

وبالتالي فإن توافر السيستين ونشاط GCS هي المحددات الرئيسية للتوليف. يتم التعبير عن انزيم β-SYNTHASE (CBS) الذي يحفز الخطوة الأولى في مسار ترانزلفوراتيون للغاية في خلايا الكبد ولكن ليس أعرب للغاية في الخلايا الطرفية، لذلك ليس من المستغرب أن الكبد هو المنتج الرئيسي لـ GSH، والكثير من والتي يتم تصديرها إلى البلازما وتقسم إنزيميا إلى سيستينيلغليسين والكيس (h) إين الذي يتم تناوله لاحقا من قبل خلايا أخرى لتوليف GSH.

ويشارك الجلوتاثيون في العديد من المسارات التي تعتبر ضرورية للتوازن الطبيعي داخل الخلايا. فإنه يزيل السموم الزينوبيوتيكش والمعادن الثقيلة من خلال رد فعل يحفزها S-transferases GSH التي تربطهم إلى sulfhydryl group على بقايا السيستي. GSH يلعب دورا في تنظيم الدهون والجلوكوز، ولستقلاب الأحماض الأمينية لأنه ضروري لاستجابة الكبد إلى وكلاء توعية الأنسولين. GSH ضروري ل إنتيركونفيرزيون من البروستاجلاندين. إزالة الفورمالديهايد، وهو مادة مسرطنة

ومنتج الأيض واحد الكربون، يتطلب الجلوتاثيون، وتشارك الجلوتاثيون في تفعيل تليمفوسيت والمقاومة الفيروسية.وأخيرا، الغلوتاثيون يسكن أنواع الأكسجين التفاعلية بما في ذلك الفائق و بيروكسيد الهيدروجين. في هذه التفاعلات يتأكسد GSH إلى GSSG ونسبة [GSH] / [GSSG]، وهو مؤشر على حالة الأكسدة للخلية، ومن المعروف أن تنظيم الأكسدة الأكسدة الحساسة في مسارات تكاثر الخلايا وخلايا موت الخلايا المبرمج.

وبالتالي، فإنه ليس من المستغرب أن GSH (أو نسبة [GSH] / [GSSG] تلعب دورا رئيسيا في العديد من الأمراض بما في ذلك السرطان والالتهاب ومرض الزهايمر، مرض باركنسون، فقر الدم المنجلي، وأمراض الكبد، التليف الكيسي، الإيدز، والنوبات القلبية، والسكتة الدماغية، والسكري [٦،٤] وكذلك في الشيخوخة [٧-٩]. أنواع الأكسجين التفاعلية أيضا تسبب تشوهات خلقية في الفئران، والتي تمنعها إدارة GSH[١٠]. لمزيد من المعلومات عن كيمياء الجلوتاثيون والآثار الصحية، انظر [١،٤،١١-١٥].

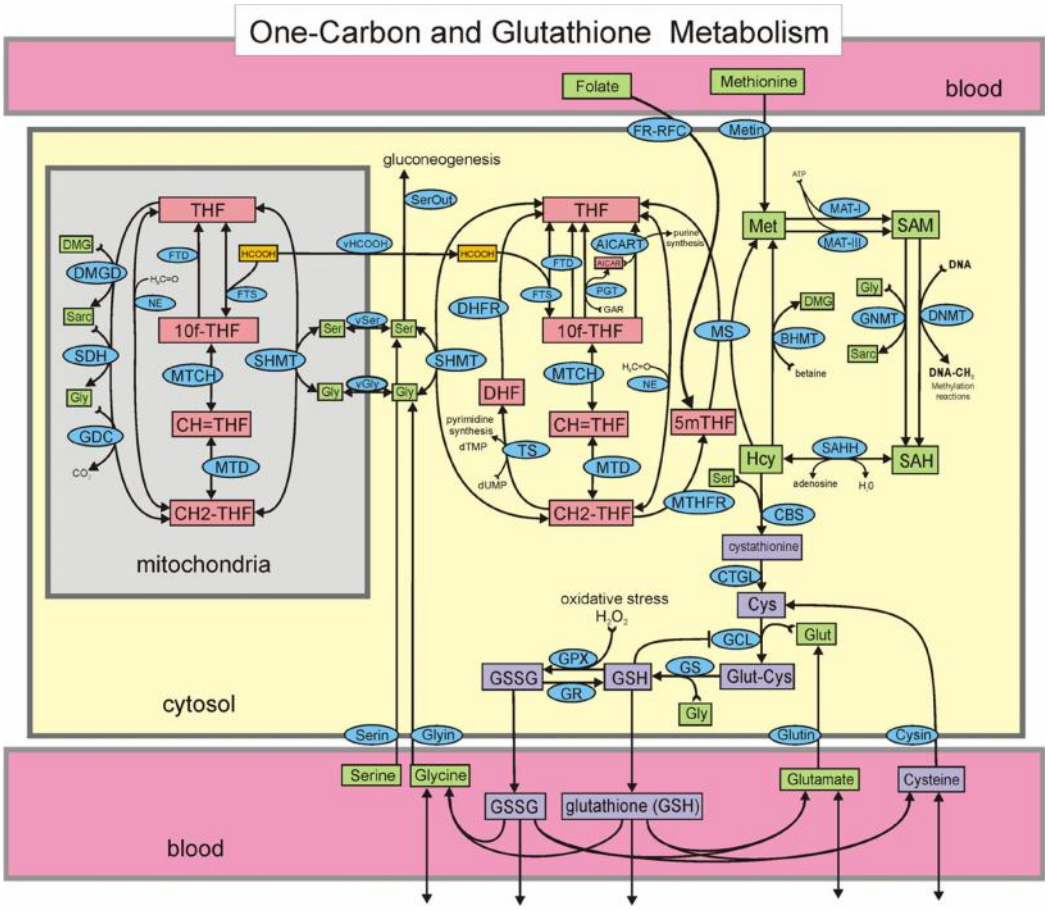
خلال السنوات العديدة الماضية أنشأنا نماذج رياضية لأجزاء مختلفة من استقلاب الكربون الواحد [١٦-٢١]. وكان الغرض من النمذجة الرد على الأسئلة التي طرحتها التجارب أو التجريبيين والتحقيق في آليات التنظيم في عملية التمثيل الغذائي واحد الكربون. في هذه الورقة، ونحن نقدم أحدث نموذج لدينا [٢٠] لتشمل السيستين والأيض الجلوتاثيون (الشكل ١). وبما أن هذا النموذج الرياضي معقد جدا، فمن المفيد أن نكون واضحين لماذا يحتاج نموذجنا لتشمل كل واحد من عملية استقلاب الكربون وليس فقط مسار ترانسفولوفيراتيون. أولا، ميثيونين هو مصدر كبدي رئيسي من السيستين من خلال دورة الميثيونين ومسار تجاوز. ثانيا، يؤثر وضع الأكسدة للخلية على العديد من الإنزيمات في عملية استقلاب الكربون الواحد بما في ذلك MATI, MATIII, MS, BHMT, وكذلك CBS and GCS في مسار الترانسفورماتيون، وبالتالي لا يمكن للمرء تقييم عملية استقلاب GSH بدون تضمين الميثيونين و دورات حمض الفوليك. ثالثا، المرضى الذين يعانون من متلازمة داون أو التوحد قد زاد من الإجهاد التأكسدي وعرض ملامح اضطراب معين من استقلاب الكربون واحد [١٣-١٥]. نود أن نفهم كيف يمكن للإجهاد التأكسدي (والكروموسوم ٢١ الثلاثي الصبغي في حالة متلازمة داون) خلق هذه التشويهات الانزعاج.

2-1 نظرة عامة على النموذج

ويبين الشكل ١ المسارات البيوكيميائية في النموذج الخلوي الكبدي المستخدم في هذه الورقة. صناديق مستطيلة تمثل ركائز التي يمكن أن تختلف في النموذج، و الحذف يحتوي على المختصرات من الانزيمات التي تحفز ردود فعل معينة. هناك معادلة تفاضلية واحدة لكل تركيزة تقول أن معدل التغير في تركيز التركيزة هو مجموع سرعات التفاعل (ميكرومتر /ساعة) التي تنتجها ناقص مجموع سرعات التفاعل التي تستخدمها. وترد أسماء كاملة لجميع الإنزيمات والركائز في ملف إضافي ١. تؤخذ ركائز غير محكم أن تكون ثابتة أو تشير إلى منتجات من ردود الفعل. هذا النموذج يمتد نموذج لأيض الكربون واحد في [٢٠] عن طريق إضافة مسار

ترانسفولوفيراتيون، وتركيب الجلوتاثيون، ونقلها إلى الدم. هنا نناقش الأوكسار الرئيسية التي تنطوي على نمذجة مسار تجاوز،

واحدة من السمات الأكثر إثارة للاهتمام من استقلاب احادي الكربون هو أن سرعات التفاعل غالبا ما تتأثر ليس فقط من قبل الركيزة وتركيز المنتج وأنزيمات الأنشطة ولكن أيضا من تركيزات ركائز في أجزاء بعيدة من شبكة التفاعل التي تعمل كمنشطين أو مثبطات الانزيم. ونتيجة لذلك، فإن الصيغ لسرعات رد الفعل غالبا ما تكون وظائف معقدة من العديد من المتغيرات. ويتضح ذلك جيدا من معادلة السرعة لرد فعل the CBS ، وهي الخطوة الأولى في مسار تجاوزه:



الشكل ١ One الكربون الأيض ومسار ترانسفولوفيراتيون

استقلاب واحد الكربون ومسار **the transsulfuration pathway** المستطيلات ترفق أسماء أو مختصرات من ركائز التي هي متغيرات في النموذج. ركائز ليست في المستطيلات تقف ثابتة أو هي منتجات ردود الفعل التي نحن لا تتبع. السهام في الجزء السفلي من الشكل تمثل الاستيراد من القنالة الهضمية والخلايا الأخرى، والخسائر للخلايا الأخرى، وتدهور. هناك معادلة تفاضلية واحدة لكل ركيزة. تحتوي علامات

الحـذف علــى الاختصـــارات مـــن الإنزيمـــات التـــي تحفـــز التفـــاعلات. وتـــرد أســـماء كاملـــة لجميـــع الإنزيمـــات والركـــائز، فضـــلا عـــن وصـــف كامـــل للنمـــوذج الرياضـــي وقـــيم جميـــع المعلمات في ملف إضافي على الانترنت ١.

$$V_{C} = \left(\frac{V_m \; [H_c] \, [S \;\;]}{(k_m^{hc} + [H_c]) \, (K_m^{S} + [s \;\;])} \right)$$

$$\cdot \left(\frac{(1.2)C\,([S \;\;]+[S \;\;])^2}{3 \;\, ^2+([S \;\;]+[S \;\;])^2} \right) \left(\frac{k_a+[H2O2]}{k_a+[H2O2]n} \right)$$

اكتشـفه فينكلشــتاين ومـارتن [٢٢]. لسـتمد شـكل التنشـيط مـن الانحـدار غيـر الخطيـة علـى البيانــات فــي [٢٤،٢٣]. يــتم اختيــار ثابــت C بحيــث أن مصــطلح الثــاني يســاوي واحــد فــي حالــة مســتقرة طبيعيــة (انظــر أدنــاه). والمــدة الأخيــرة هــي تنشــيط كــبس بواســطة الإجهــاد التأكسدي [٢٦،٢٥]، والذي يمثله تركيز .H2O2

المعادلة التفاضلية لتركيز سيستينوسول سيستين (Cys) هي واضحة:

$$\frac{d}{d}[C \;\;] = V_G \;\; (|C \;\; |.|G \;\; |.|G \;\; |.|H2O2|) + V_C \;\; (|C \;\;\; |)$$

$$+ V \;\;\; (|b \;\; |) - \left(\frac{(0.35)[C \;\;]^2}{200} \right)$$

المصــطلح الأول علــى اليمــين هــو إنتــاج السيســتين مــن سيســتاثيونين (Cysta) مــن قبــل GGTL والثانيــة هــي اســتيراد السيســتين فــي الخليــة، والتــي تعتمــد علــى تركيــز السيســتين فــي الــدم ([bCYS]). والفتــرة الثالثــة هــي فقــدان السيســتين فــي التفاعــل الــذي يحفــزه غــس الــذي يجعــل الجلوتاميــل-سيســتين والعبــارة الرابعــة تمثــل فقــدان السيســتين إلــى مســارات أخــرى (علــى ســبيل المثــال إلــى كبريتــات وتــورين). السيســتين تســتخدم أيضــا لتخليــق البــروتين ويــتم إنتاجهــا مــن قبــل هــدم البــروتين. فــي النمــوذج نفتــرض أن هــذين التــوازن معــدلات. تــم اختيــار شــكل الفتــرة الرابعــة لأن البيانـــات فـــي [٢٧] تشــير إلـــى أنـــه فـــي تركيــزات السيســتين العاديــة (حــوالي ٢٠٠ ميكرومتــر) معظــم تــدفق بعيــدا عــن السيســتين نحــو GC ومبلــغ معتــدل فقــط نحــو مســارات أخــرى. ومــع ذلــك، كمــا [ســيس] يرتفــع يــتم إرســال جــزء متزايــد نحــو توليــف التــورين. الصــيغ ل فغتــل و فسيسـك (نقـل السيســتين فــي الخلية من الدم) تظهر في ملف إضافي ١.

الخطـوة الأولـى فـي تركيـب GSH هـو تشـكيل γ- (GluCys) مـن الأحمـاض الأمينيـة المكونـة غلوتامـات والسيسـتين مـن قبـل انـزيم γ glutamyl سيسـتايتين (GCS، وتسـمى أيضــا الغلوتامــات سيســتين ليغــاز (GCL)). رد الفعــل هــو عكســها و GSH هــو المــانع التنافسي ل GCS ضد الغلوتامات [٢٨-٣٠].

العامل الثالث في الصيغة التالية هو تفعيل غس بواسطة H2O2 [25 ،26].

$$V_C = \left(\frac{k_a + [H2O2]}{k_a + [H2O2]s}\right)$$

$$\left(\frac{v_m \quad (|G \quad ||C \quad | - |G \qquad |/k_e)}{k_m^c \; k_m^g \; + k_m^c \; [G \quad]k_m^g \; [G \quad]\left(1 + \frac{[G \quad]}{k_i} + \frac{[G \quad]}{k_m^g}\right) + \frac{G}{K_p} + \frac{[G \quad]}{k_i}}\right)$$

الخطوة الثانية في تركيب GSH هو إضافة بقايا الجلايسين إلى غلوسيس من قبل انزيم الجلوتاثيون سينثاس (GS). نتبع [٣١،٣٠] ونستخدم آلية ميريليس-منتن القابلة للانعكاس.

$$V_G = \left(\frac{V_m \quad ([G \qquad][G \quad] - [G \quad]/K_e)}{k_m^g \qquad k_m^g \; + k_m^g \; [C \qquad] + k_m^g \qquad [G \quad]\left(1 + \frac{[G \qquad]}{k_m^g}\right) + \frac{[G \quad]}{k_p}}\right)$$

المعادلة التفاضلية لـ GSH عصاري خلوي هو:

$$\frac{d}{d}[G \quad] = V_G \; ([G \quad].[G \qquad] - V_{g\ h-o} \quad ([G \quad]) - 2V_{GP} \quad ([G \quad].[H2O2]) + 2V_G \quad ([G \qquad].[N \qquad]) - (0.002)[G \quad])$$

المصطلح الأول هو تركيب GSH من الجلايسين والجلوتاميل-سيستين. الفترة الثانية هي نقل GSH من خلية الكبد إلى الدم. Vgsh_out هو في الواقع مجموع فترتين، واحدة لقمى عالية تقارب واحدة لقمى منخفضة تقارب . ونحن نتجاهل القمى القناني إلى الصفراء لأنها نسبة صغيرة نسبيا من إجمالي الصادرات. والمدة الثالثة هي معدل إنتاج GSSG المؤكسد من GSH عن طريق انزيم GPX والولاية الرابعة هي تحويل GSSG إلى GSH عبر إنزيم CR. ونحن نتجاهل أنواع الأكسجين التفاعلية الأخرى إلى جانب H2O2، أو، وضع طريقة مختلفة، H2O2 يمثل كل منهم. يحدث الرقم الثاني في كل من هذه المصطلحات لأن جزيئين من GSH تتضافر لجعل واحدة GSSG . في الفترة الخامسة ونحن نفترض أن ٠.٢٪ من GSH يتم إزالتها كل ساعة في ردود فعل إزالة السموم التي تشكل مترافق.

وقد تم دراسة حركية تدفق الجيبية من GSH بشكل جيد في كبد الفئران بيرفوسد. ويتحمل الجزء الأكبر من التدفق من قبل الناقل تقارب منخفضة، التي حركية السيني مع فماكس في نطاق ٩٠٠-١٤٠٠ ميكرومتر /ساعة، كم من حوالي ٣٠٠٠ ميكرومتر، ومعامل هيل ما يقرب من ٣ [٣٤-٣٦] . في نموذجنا نستخدم فماكس من ١١٠٠ ميكرومتر /ساعة، كم من ٣٠٠٠ ميكرومتر، ومعامل هيل من ٣. نحن نستخدم حركية ميخائيل-منتن القياسية للنقل عالية GSH تقارب وناقلي GSSG اثنين.

نحن نتتبع خمسة متغيرات في الدم، [GSH]، [GSSG]، [GLY]، [CYS] و [GLUT]. الجليكاين، الغلوتامات، والسيستين إدخال الدم من امتصاص الأمعاء في معدلات أننا تختلف في تجارب مختلفة مع النموذج. والمعدلات العادية هي ٦٣٠ ميكرومتر / ساعة، ٢٧٣ ميكرومتر / ساعة و ٧٠ ميكرومتر /ساعة، على التوالي. نحن نفترض للراحة أن حجم الدم هو نفس حجم الكبد. الجلايسين، السيستين، والغلوتامات تغادر الدم بواسطة وسائل النقل في خلايا الكبد (اعتمادا على تركيزاتها) وتتشكل كما أنها في الدم عن طريق انهيار GSH وGSSG إلى الأحماض الأمينية المكونة لها [٣٨،٣٧]. ونحن نفترض أيضا أن عادة ١٠٪ من السيستين، الجلايسين، والغلوتامات، في الدم تناولها في الساعة من قبل خلايا أخرى، وأنه يتم تحويل مبلغ إضافي ٢٥٪ من السيستين إلى سيستين. في ظل الظروف العادية يتم تقسيم نسبة كبيرة من غش الدم و غسغ أسئل إلى الأحماض الأمينية المكون ويتم أخذ كمية صغيرة من قبل خلايا أخرى أو يترك النظام. كما هو موضح أعلاه، تظهر التفاصيل والصيغ الكاملة في ملف أديتيون فيل ١.

لكل حساب في سيليكون، الذي يتم إعطاء قيم الثوابت المختلفة (مثل H2O2، وكذلك مستويات ميثيونين والسيرين في الدم، ومعدلات مساهمة الغلوتامات السيستين، والجلايسين في الدم. هذه هي "المدخلات" للنموذج. ثم يتم حل المعادلات التفاضلية لتحديد قيم الحالة الثابتة لتركيزات جميع المتغيرات ومعدلات الحالة الثابتة لجميع ردود الفعل. وبطبيعة الحال، إذا كانت المدخلات مختلفة فإن حالة مستقرة تكون مختلفة. نحن نختبر النموذج من خلال تغيير المدخلات أو تغيير المعلمات (على سبيل المثال، المعلمة التي تعطي قوة التفاعل ألوستيريك معين) وتحديد ما هو التأثير. عن طريق إزالة التفاعلات يمكننا أن نأخذ نموذج قطعة مفصلة من قطعة حتى نتمكن من فهم كيف ولماذا الأيض الجلوتاثيون يعمل بالطريقة التي يفعلها. ونحن نسمح أيضا للمدخلات تختلف كدالات الوقت (على سبيل المثال إدخال الأحماض الأمينية سوف تختلف بسبب وجبات الطعام) وحساب مسار الوقت من كل تركيز ومعدل التفاعل. وهذا يسمح لنا بالتحقيق في آليات التماثل التي تحمي الظلم من التقلبات في المدخلات.

يتم تثبيت عدد من تركيزات الركيزة في النموذج وفي جميع عمليات المحاكاة المذكورة أدناه. وتشمل هذه: GAR عصاري خلوي (١٠)، (50) NADPH، البيتين (٥٠)، والفورمالديهايد (٥٠٠)، تفريغ (٢٠)، ومجموع حمض الفوليك الخلوية (٢٠). جميع التركيزات في ميكرومتر.

3-1 قيود النموذج

وقد تم تصميم هذا النموذج للسماح لنا لدراسة مختلف الآليات التنظيمية في مسار تجاوزه وتأثيرات الاكسدة، ولا سيما كما ينطبق على متلازمة داون والتوحد. لا يمكن لأي نموذج رياضي تتبع جميع المتغيرات التي قد تؤثر على ظاهرة بيوكيميائي معقد مثل استقلاب الجلوتاثيون. وهذا صحيح أيضا، بطبيعة الحال، في التجارب البيولوجية. هذا النموذج ليس استثناء. نحن نتجاهل إفراز قنية من غش. نحن نستخدم قيم كم في النطاقات المحددة تجريبيا ولكن هناك معلومات أقل بكثير عن قيم فماكس. في كثير من الأحيان نختار القيم فماكس بحيث تركيزات الحالة الثابتة من ركائز والمنتجات تقع ضمن نطاقات نشرت العادية. يتم زيادة تركيزات الأحماض الأمينية الخلوية عن طريق التغذية وتدهور البروتين وانخفضت من خلال تخليق البروتين والنمو والاستخدام في

Folates	Methionine cycle	Transsulfuration	Other
THF = 4.61	Met = 49.2	Cysta = 36.9	Ser = 563
510CH = 0.28	SAM = 81.1	Cys = 195	Gly = 924
510CH2 = 0.51	SAH = 19.1	GluCys = 9.8	Sarc = 9.16
10fTHF = 3.41	Hcy = 1.12	GSH = 6591	DMG = 0.71
5mTHF = 4.50		GSSG = 61.3	Aicart = 0.94
DHF = 0.039		Glut = 3219	HCOOH = 13.1

الجدول ١: تركيزات نموذج عصاري خلوي طبيعي (ميكرومتر)

واحد الأيض الكربون. في هذا النموذج نفترض أن تخليق البروتين وتدهور في التوازن وأنه لا يتم استخدام الأحماض الأمينية للنمو. وترد نتائج هذا الافتراض في المناقشة.

يحتوي استقلاب الكربون الواحد ومسار ترانسفولوراتيون على العديد من التفاعلات اللامركزية التي تؤثر ركائزها في جزء واحد من المسار على نشاط الإنزيمات البعيدة. نستخدم نماذج محددة تجريبيا لهذه التفاعلات ألوستيريك ولكن في بعض الأحيان تفاصيل الحركية ليست معروفة، مما اضطرنا لجعل التخمينات معقولة المتعلمين. وبالمثل، العديد من الآثار من الإجهاد التأكسدي على الإنزيمات من استقلاب الكربون واحد ومسارات ترانسفورماتيون معروفة ولكن حركية مفصلة غير متوفرة.

في هذه الورقة نحن مهتمون أساسا في الأيض الكبد داخل الخلايا، لذلك نحن نلقي نظرة بسيطة إلى حد ما من مصير الجلوتاثيون ومستقلباته في الدم. وسوف يتضمن العمل في المستقبل نموذج أكثر تفصيلا من مقصورة الدم والتنظيم بين الأعضاء من الجلوتاثيون والأحماض الأمينية المكونة له. وبالتالي، فإننا لا نتوقع أن نموذجنا سوف تجعل التنبؤات الكمية الكمال. بدلا من ذلك، ونحن نريد لاستخدامه للتحقيق في السمات النوعية من استقلاب الجلوتاثيون في الحالة الطبيعية وفي حالات المرض المختلفة.

الفصل الثاني

1-2 نموذج عادي لتركيزات الحالة المستقرة والسرعات

نحن نأخذ القيم العادية للمدخلات لتكون على النحو التالي. ميثيونين الدم هو ٣٠ ميكرومتر والدم سيرين على النقيض من ذلك، أو وآخرون. التقرير أن الفئران صام لمدة ٤٨ساعة تفقد ما يقرب من ٤٤٪ من GSH داخل الخلايا في خلايا الكبد. كما أفادوا أنه بعد ٤٨ساعة انخفض معدل نقل GSH من الخلية بنسبة ٣٨٪. وتتفق هذه النتائج مع تاتيشي وآخرون. الذين أفادوا عن انخفاض في GSH الكبد إلى مستوى يتراوح بين نصف وثلثي الطبيعي بعد ٤٨ساعة بسرعة. وتشير هذه التجارب إلى عمر نصف أطول من يومين. أحد التفسيرات المحتملة لهذا نصف العمر الطويل في ظلظروف جائعة هو أن المدخلات الغذائية الحمضية الأمينية العادية يستعاض جزئيا عن هدم البروتين. ومع ذلك، وبالنظر إلى المعدل الطبيعي ل GSH هروب، و ٤٨ ساعة

Table 4: Normal model net transport velocities (μM/hr)

V_{oCysb} = 70.0	V_{oGlyb} = 630.0	V_{oGlutb} = 273		
V_{bCysc} = 1213	V_{bGlyc} = 1816	V_{bMetc} = 103	V_{bSerc} = 787	V_{bGlutc} = 1475
V_{cGSHb} = 1152	V_{cGSSGb} = 36.3			
V_{bGSHo} = 8.9	V_{bGSSGo} = 3.6	V_{bCyso} = 64.9	V_{bGlyo} = 22.1	V_{bGluto} = 6.0

الجدول ٤:سرعات النقل النموذجي الصافي (ميكرومتر /ساعة)

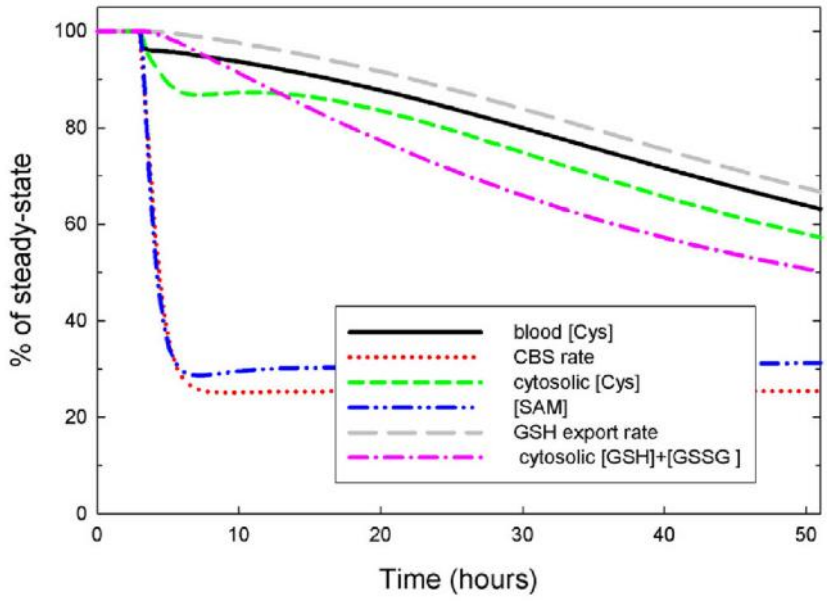
تتطلب أن تقلل الهدم من ٩٤٪ من المدخلات الغذائية اليومية ، والتي تبدو عالية بشكل غير محتمل.

التفسير البديل ، الذي يمكن أن يفسر كلا المجموعتين من التجارب ، هو أن الـ GSH المُصدّر قد تم تقسيمه إلى أحماض أمينية في الدم يتم إعادة استيرادها بسرعة إلى خلايا الكبد. في الواقع ، من المعروف أن إنزيم gl-glutamyltranspeptidase (GGT) على غشاء الخلية الخارجية يبدأ هذه العملية (تسمى دورة gl-glutamyl) [12، 50، 51]. في نموذجنا ، القيمة المحسوبة لنقل GSH خارج الخلية (الجدول ٤) هي VcGSHb = 1152 ومعدلات استيراد Cys و Gly و Glut مرتفعة أيضًا (الجدول ٤) ، على الرغم من أننا نفترض أن ١٠٪ في الساعة من يتم فقدان الأحماض الأمينية في الدم لخلايا غير الكبد ويتم فقدان ٢٥ ٪ إضافية من Cys عن طريق التحويل إلى السيستين. يبين الشكل ٢ تركيز الخلايا العصبية الخلوية GSH في الخلايا النموذجية للكبد لمدة ١٠ ساعات بعد ضبط تركيز GCS للأنزيم على الصفر. عمر النصف المحسوس من GSH هو ٣ساعات.

يوضح الشكل ٣ تركيز GSH والأيضات الأخرى في خلية الكبد النموذجية أثناء تجربة الصيام خلال فترة ٤٨ساعة. نحن نفترض أنه خلال الصيام ، يوفر هدم

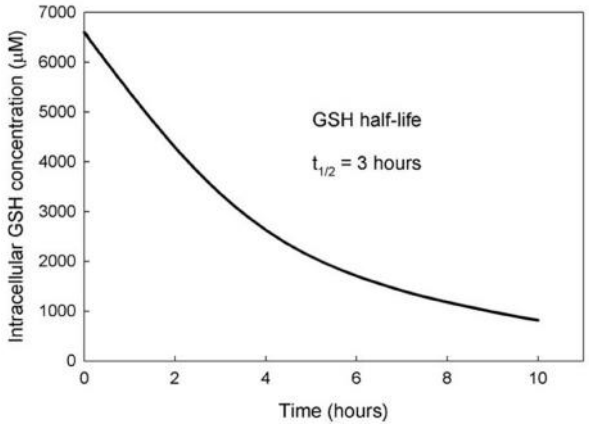
بـروتين ٣/١ مـن مـدخلات الأحـمـاض الأمينيـة العاديـة. يتراجـع تركيـز GSH بـطء خـلال فتـرة ٤٨سـاعة إلـى حـوالي ٥٠٪ مـن المعـدل الطبيعـي ويـنخفض معـدل تصـدير GSH إلى ٦٧٪ من المعدل الطبيعي بما يتفق مع التجارب التي تم الإبلاغ عنها في

موشـاروف إت آل. [٢٦] ودرس دور مسـار تجـاوز فـي تركيـب غـش. عنـدما منعـوا كتغـى لاحظـوا أن تركيـز غـش داخـى الخلايـا انخفـض إلـى حالـة مستقرة جديدة مـن حـوالي ٤٢٪ مـن السـيطرة فـي حـوالي ٢٤سـاعة. وخلصـوا إلـى أن مـا يقـرب مـن نصـف غـش مشـتق عـن طريـق مسـار تجـاوز. يـتم حسـاب المـدخلات ميثيـونين لـدينا لتكـون ١٠٣ ميكرومتـر / سـاعة يتفـق مـع القياسـات التجريبيـة [٥٢،٢٦] والمـدخلات السيسـتين لـدينا فـي الظـلم هـو ٧٠ ميكرومتـر /سـاعة. إذا قمنـا بإزالـة إدخـال الميثيـونين فـي النمـوذج، فـإن تركيـز غـش ينخفض إلـى حالـة مستقرة جديدة ٤٧٪ مـن الطبيعـي. مـن ناحيـة أخـرى، إذا قمنـا بإزالـة إدخـال السيسـتين تركيـز غـش ينخفض إلـى حالـة مسـتقرة جديدة ٦٨٪ مـن الطبيعـي. هـذه النتـائج النموذجيـة تـدعم تفسـير فـي [٢٦] أن مـدخلات الميثيـونين والسيسـتين تسـاهم بشـكل مكـافئ لتوليـف GSG. ونحـن نلاحـظ أن أحـدا لـن نتوقـع أن المسـاهمات مـن اثنـين مـن الأيـض إلـى التوليـف GSH أن تكـون متناسـبة تمامـا مـع مدخلاتها



ويبـين الشـكل ٣ تركيـز GSH وغيرهـا مـن الأيضـات فـي خلايـا الكبـد نموذجنـا خـلال تجربـة الصـيام علـى مـدى فتـرة ٤٨ سـاعة. ونحـن نفتـرض أنـه خـلال الصـيام، إمـدادات هـدم البـروتين ٣/١ مـن المـدخلات الحمضـية الأمينيـة العاديـة. تركيـز GSH+GSSH

ينخفض ببطء على مدى فترة ٤٨ ساعة إلى حوالي ٥٠٪ من المعدل الطبيعي وانخفاض معدل غش الصادرات إلى ٦٧٪ من الطبيعي بما يتفق مع التجارب المبلغ عنها في [٣٣]. وبالتالي فإن فرضية إعادة الاستيراد السريعة تشرح مجموعتي البيانات. تظهر المستقلبات الأخرى تغييرات مثيرة للاهتمام خلال الصيام. إن مستقلبات دورة الميثيونين تتكيف بسرعة كبيرة مع انخفاض مدخل الميثيونين الذي يصل إلى حالات ثابتة جديدة في غضون ساعات قليلة. ومع ذلك، فإن نواتج الأيض في GSH التوليف، تصدير و ريمبورت مسار الانخفاض ببطء شديد، تحقيق حالة مستقرة جديدة في ٤-٥ أيام (لا تظهر البيانات).



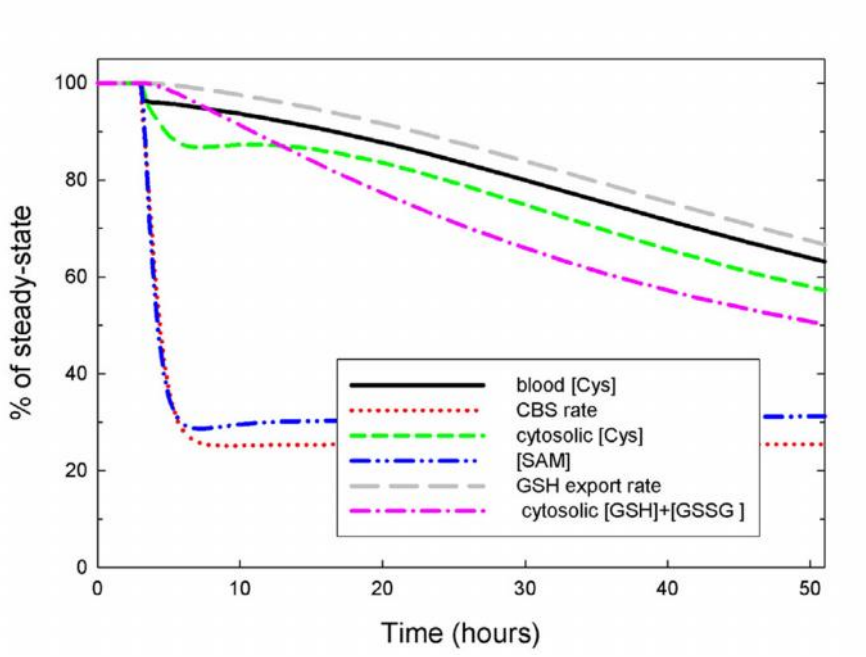
الشكل ٢ GSH نصف الحياة بعد غس يتم حظر

GSH نصف الحياة بعد غس يتم حظر. عندما يتم إيقاف تركيب GSH نموذج GSH تركيز الخلايا ينخفض بسرعة مع نصف حياة ما يقرب من ٣ ساعات.

لأنها تستخدم في ردود فعل أخرى والظلم هو غير الخطية للغاية.

2-2 تثبيط GCS

ومن المعروف [٤١،٢٧] أن غش هو المانع التنافسي ضد الغلوتامات من GCS، والانزيم الذي يحفز تخليق الجلوتاميل-سيستين. وبطبيعة الحال يمكن اعتبار هذا تثبيط كما تثبيط المنتج، خطوة واحدة إزالتها. كما غلوتاثيون يرتفع بشكل غير مباشر يمنع توليفها الخاصة وكما الغلوتاثيون يسقط يتم الافراج عن تثبيط. ويبين الشكل ٤ أن هذا التثبيط له التأثير المتوقع في حالة مستقرة. كما يرتفع مدخلات حمض أميني الكبريت، لذلك لا تركيز الجلوتاثيون ولكن ليس بالسرعة كما لو أن تثبيط لم تكن موجودة. في تركيزات حامض أميني منخفض الكبريت تأثير صغير. وبالتالي فإن التأثير الأساسي للتثبيط هو منع تراكم الزائدة من غش. هذا التراكم سيحجز المزيد من الأحماض الأمينية، من شأنه أن يزيد النقل من الخلية حتى التشبع، وبالتالي زيادة فقدان السيستين إلى سيستين في الدم.



الشكل ٣GSH **و النقل في ظل ظروف** الصيام

GSH **النقـل** فـي ظـل **ظـروف** الصـيام. بعـد ثـلاث **سـاعات،** يـتم تقليـل **المـدخلات** مـن السيسـتين، الميثيـونين، الجلايسـين، الغلوتامـات، وسـيرين إلـى ٣/١ مـن **العـادي. إن** تركيـز GSH + GCCG **داخـل** الخلايـا يـنخفض **بـبطء** خـلال فتـرة ٤٨ **سـاعة** إلـى حـوالي ٥٠٪ مـن **المعـدل** الطبيعـي، ويـنخفض **معـدل** غـش إلـى ٦٧٪ مـن **المعتـاد وفقـا للتجـارب** التـي تـم **الإبـلاغ** عنهـا فـي [٣٣]. التركيـزات **عصـاري خلـوي** وتركيـزات سيسـتين **الـدم تنخفض بشكل متناسب مع غش. الدورة** الدموية الميثيونين **والتدفقات تتوازن بسرعة.**

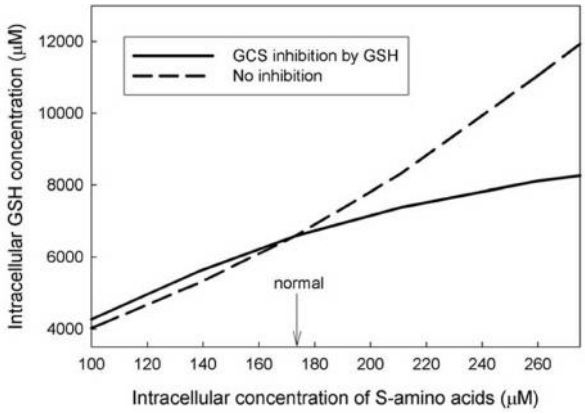
3-2 **استقرار GSH تحت تقلبات كبيرة في المدخلات خلايا الكبد**

نـادرا مـا تكـون فـي **حالـة** مسـتقرة [٢١] لأنهـا **تتلقـى مـدخلات** البـروتين الكبيـرة خـلال **وبعـد فتـرة** وجيـزة **مـن وجبـات** الطعـام **وإدخـال** البـروتين القليـل نسـبيا بـين **وجبـات** الطعـام. كيـف **تـؤثر** هـذه التقلبـات اليوميـة علـى **تجمـع الـدم** وجلوتـاثيون **الـدم؟** للتحقيـق فـي هـذا **السـؤال، قمنـا** بتغييـر **مـدخلات** الأحمـاض الأمينيـة (السيسـتين، الجلايسـين، الغلوتامـات، الميثيـونين، والسـيرين) **طـوال** اليـوم، واسـتخدمنا **النمـوذج لحسـاب** الـدورات الزمنيـة لجميـع التركيـزات فـي **النمـوذج،** وجميـع **السـرعات. دع** A يـدل علـى متوسـط **المـدخلات** اليوميـة مـن حمـض أمينـي معـين. فـي حـين الصـيام (علـى سـبيل **المثـال،** مـن ١٢ **منتصـف** الليـل حتـى ٠٧:٠٠)، **نفتـرض أن المـدخلات** هـي (٠.٢٥) أ. مـن ٧ **صـباحا** إلـى ١٠ صـباحا، **نفتـرض أن المـدخلات** هـي (١.٧٥) المقابلـة لتنـاول **الإفطـار،** تليهـا سـاعتين مـن الصـيام. ثـم، مـن **السـاعة** ١٢ ظهـرا حتـى ٣ **عصـرا** نفتـرض **أن المـدخلات** (١.٧٥) **المقابلـة لتنـاول** الغـداء، تليهـا ثـلاث سـاعات **مـن** الصـيام ومـن ثـم **مـدخلات** (٣.٢٥) A **لمـدة**

ثلاث ساعات المقابلة لتناول العشاء. يتم عرض الملف الشخصي المدخلات اليومية كاملة في الشكل A.0

ويبين الجدول B من الشكل 0 أن التقلبات في مدخلات الميثيونين تسبب تقلبات كبيرة جدا في سلم ولكن فقط تقلبات متواضعة في الميثيونين داخل الخلية -concen

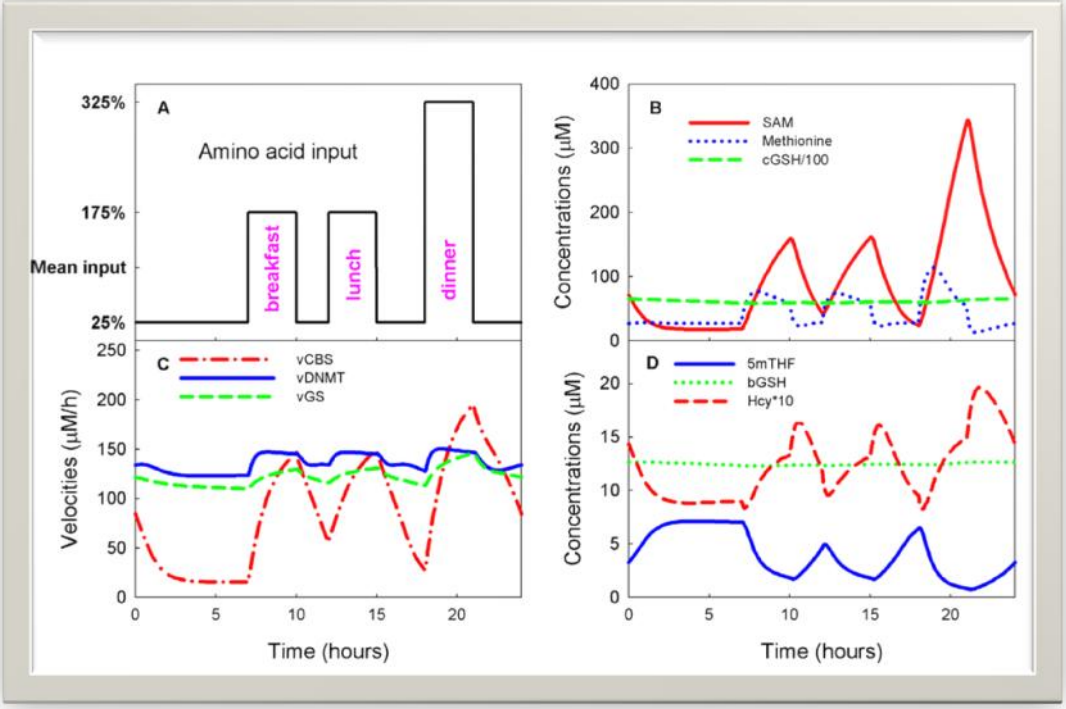
تراتيون، كما اقترح من قبل تحميل ميثيونين في وقت مبكر



الشكل ٤: تأثير GSH من ردود فعل تثبيط

تأثير GSH ردود فعل التثبيط. التعريف، GSH ، centric-

يتم رسمها باعتبارها وظيفة من تركيز الخلايا من الأحماض الأمينية الكبريت. يظهر منحنى الصلبة تركيز غش عندما يتم تضمين تثبيط GSSG في النموذج. يظهر منحنى متقطع تركيز GSH عندما يتم إزالة تثبيط بواسطة GSH.



الشكل 5 الاستقرار من برك الجلوتاثيون في مواجهة تقلبات المدخلات

لاستقرار حمامات الجلوتاثيون في مواجهة تقلبات المدخلات. لوحة A يظهر مدخلات الأحماض الأمينية إلى خلايا الكبد نموذج طول ٢٤ ساعة اليوم. المدخلات هي ٢٥٪ من المتوسط بينما الصيام، ١٧٥٪ من المتوسط لمدة ثلاث ساعات بعد الإفطار والغداء، و ٣٢٥٪ من المتوسط لمدة ثلاث ساعات بعد العشاء. وللاطلاع على المناقشة، انظر النص. ويبين لوحة B الاختلافات معتدلة في تركيزات الميثيونين وتقلبات كبيرة للغاية في تركيز سلم، ولكن تركيز غش لا يزال مستقرا. ويبين الفريق C أن سرعة رد فعل كبس تختلف بشكل كبير، ولكن سرعة رد فعل غس، الذي يجمع الجلوتاثيون، ويظهر الاختلاف أكثر اعتدالا. وكما هو متوقع، فإن التفاعلات التماثلية طويلة المدى بين دورة الفوليك ودورة الميثيونين تثبت سرعة ثابتة مثيلة الحمض النووي .(vDNMT) يظهر لوحة D أن هناك اختلافات كبيرة في 5mTHF و على مدار اليوم، ولكن تركيز GSH في الدم لا يزال مستقرا.

تجارب فنكلشتاين وزملائه. كوراليس وآخرون. وقد اقترح أن الاستقرار النسبي للميثيونين يرجع إلى حركية معقدة من مات-I و مات-إي ولقد أكدنا ذلك من خلال التجارب النموذجية . ويبين الفريق B أيضا أن تركيز GSH داخل الخلايا (مقسوما على ١٠٠ لأغراض الرسوم البيانية) أيضا لا يزال مستقرا على مدار اليوم.

ويبين الجدول C من الشكل 5 أن سرعة رد فعل CBS يتتبع المدخلات ميثيونين كما هو متوقع، ولكن أن سرعة رد فعل GCS التي يتم توليفها GSH لديها تقلبات أكثر

اعتدالا. هذه التقلبات الأصغر هي نتيجة GSH لتثبيط تفاعل GCS من قبل GSH(انظر القسم ج). وبالإضافة إلى ذلك، فإن تجمع داخل الخلايا هو عادة كبيرة جدا (٦٥٩١ ميكرومتر في نموذجنا، انظر الجدول ١). كل من هذه الآثار تسهم في استقرار مثير للإعجاب من تركيز GSH، ينظر في لوحة B، في مواجهة تقلبات كبيرة في مدخلات الأحماض الأمينية. لاحظ أن سرعة رد فعل مثيلة الحمض النووي (DNMT in Panel C)هي أيضا مستقرة تماما على الرغم من حقيقة أن الركيزة، SAM، تشهد تقلبات كبيرة جدا. ومن المعلوم أن هذا هو نتيجة التفاعلات ألوستيريك طويلة المدى بين دورة الميثيونين ودورة حمض الفوليك [١٨].

ويبين الرسم D من الشكل 5 أن الهوموسيستين يخضع لتقلبات كبيرة في التزامن مع مدخلات الميثيونين كما هو متوقع. 5mTHF أيضا يتقلب ولكن في الاتجاه المعاكس من هوموسيستين لسببين.

أولا، عندما يرتفع المدخلات ميثيونين بشكل كبير، حتى يفعل [SAM] و SAM يمنع. MTHFR.

ثانيا، عندما يرتفع هوموسيستين، فإنه يحرك تفاعل MS أسرع، مما يقلل من 5MTHEF اخيرا، فإن تركيز الهم من GSH يبقى مستقرا تماما على الرغم من كبير تقلبات عابرة حمض أميني عابر.

4-2 الإجهاد التأكسدي

في نموذجنا، يتم تمثيل الإجهاد التأكسدي بتركيز H2O2. عندما يزيد H2O2 هناك العديد من الآثار على الأيض واحد الكربون. أولا، زيادة تركيز H2O2 يمنع الانزيمات MS و bmt وينشط الانزيمات CBS و GCS [٢٦،٢٥]. ثانيا، يتم تحويل ميزان GSH و GSSG نحو GSSG عبر تفاعلات GPX و GR. هذا يؤثر على الأيض المنبع في ميثيونين ومسارات ترانسفورماتيون لأن GSSG يمنع الانزيمات MAT-I and MAT-III [٥٨،٥٧]. كل هذه التأثيرات هي في النموذج. لمزيد من التفاصيل، انظر ملف إضافي ١. الاستجابة للإجهاد التأكسدي في النموذج معقدة بشكل مدهش؛ انظر الشكل ٦.

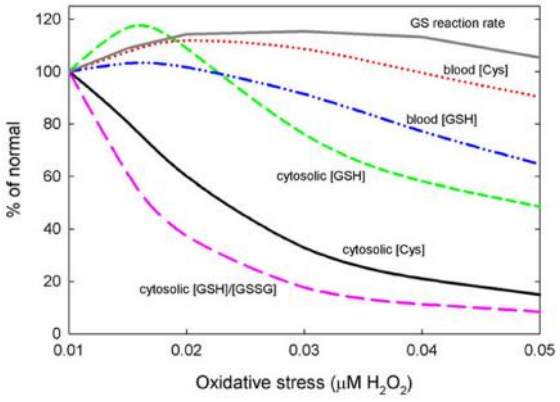
تحت الإجهاد التأكسدي المعتدل هناك زيادات معتدلة على الهم و GSH عصاري خلوي وسيستين الهم، في حين سيستين سيتوسوليك و [GSH] / [GSSG] نسبة الانخفاض. يزيد GSH عصاري خلوي لأن الإجهاد التأكسدي ينشط GPX و GCS زيادة تدفق من خلال ردود الفعل GCS و GS وخفض في وقت واحد تركيز السيستينوسول السيستين. منذ زيادات GSH عصاري خلوي، فإن التصدير للخروج من الخلية أيضا زيادة وبالتالي رفع GSH الدم وتركيزات السيستين الهم. تركيز H2O2 مرتفعة يدفع التوازن في غس وغر ردود الفعل تجاه GSSG وبالتالي خفض نسبة [GSH] / [GSSG]. تحت الإجهاد التأكسدي عالية يتم تحويل هذا التوازن أبعد من ذلك نحو GSSG وهذا له عواقب على التوازن السيستين الشامل.

في نموذج GSH عصاري خلوي ثلاثة مصائر: يتم نقله إلى الدم، وهناك تدفق صافي إلى GSSG، وتم إزالة ٠.٢٪ في الساعة المقابلة لردود الفعل إزالة السموم والإفراز في الصفراء. وبالمثل، GSSG عصاري خلوي واثنين من الأفدار: يتم نقله إلى الدم، ويتم إزالة ١٠٪ في الساعة المقابلة لإفراز في الصفراء. وبطبيعة الحال، إزالة واحدة غش أو GSSG النتائج في إزالة واحد أو اثنين من السيستين، على التوالي. في تركيزات حالة مستقرة طبيعية السيستين فقدت من قبل هاتين الآليتين هي على قدم المساواة. ومع ذلك، مع زيادة الإجهاد التأكسدي والتوازن بين GSH و GSSG يتحول نحو GSSG، يتم فقدان المزيد من سيستينس من الظلم في الساعة. في الإجهاد التأكسدي المعتدل هذا التأثير صغير. ومع ذلك، مع مستويات عالية أو مزمنة من الإجهاد التأكسدي هذا التأثير يحصل على أكبر بكثير وفقدان السيستين كبيرة جدا. هذا يسبب معدل رد فعل غس أن يعود إلى وضعها الطبيعي على الرغم من أوبريغولاتيون من GPX و وتسبب تركيزات ثابتة من GSH عصاري خلوي وتركيزات الدم من GSHوالسيستين إلى الانخفاض إلى ما دون العادي؛ انظر الشكل ٦.

5-2 الملف الأيضي لمتلازمة داون متلازمة داون

هو الأيض المعقدة والاضطراب الوراثي الذي هو السبب الجذري، تثلث الصبغي ٢١، نسخة إضافية من الصبغي ٢١ [٥٩]. متلازمة داون ليست نادرة. فإنه يحدث في حوالي ١ من كل ٧٠٠-٨٠٠ ولادة حية [٦٠]. الأطفال الذين يعانون من متلازمة داون لديهم ملامح الأيض غير طبيعية وتظهر زيادة حالات الإصابة بعدد كبير من الأمراض الخطيرة بما في ذلك سرطان الدم والسكري [٦١]. في معظم الحالات، فإنه ليس من المفهوم ما إذا كانت هذه الأمراض الناجمة عن كروموسوم إضافي، وتغيير التمثيل الغذائي الشخصي، أو كليهما.

للتحقيق في الملف المستقلب لمتلازمة داون



الشكل ٦ تأثير الاكسدة

تـأثير الإجهـاد التأكسدي. تظهـر المنحنيـات تـأثير علـى قـيم الحالـة الثابتة مـن السيسـتين و GSH فـي السيتوسـول والدم، ومعدل التوليـف GSH مـن قبـل GS، ونسـبة عصاري خلوي [GSH] / [GSSG] كمـا يـتم رفـع نسبة تركيـز H2O2 مـن العادي (٠.٠١ ميكرومتر) إلى ٠.٠٥ ميكرومتر.

باستخدام النموذج، بدأنا مـن خـلال زيـادة بنسـبة ٥٠٪ فماكس مـن GPX، منـذ الجـين GPX علـى الكروموسـوم ٢١ ويـتم التعبيـر عنهـا فـي ١٥٠٪ مـن المعتـاد. ويبـين العمـود الأول مـن الجـدول ٥ متوسط التغيـر فـي مسـتويات سـتة مسـتقلبات البلازما فـي ٤٢ المرضى أسنل مقارنـة مـع الضوابط (مـأخوذة مـن [١٣]). ويبـين العمود الثاني النسـبة المئويـة للتغيير في هـذه الأيضـات في النموذج عنـد زيـادة فمـاكس من كـبس بنسبة ٥٠٪. لاحـظ أن تركيـزات الخلايـا من هسـي،سام،ساه، وتلبيـة كل تغييـر في نفس الاتجاه كمـا رأينـا سـريريا. ونحن لا نتوقع مباراة قريبـة للتغيـرات نسبة لـوحظ سـريريا لأننـا نقارن التغييـرات نموذج الخلايـا إلـى قياسـات الدم. زيـادة جرعة كـبس لـه تقريبـا أي تـأثير علـى تركيـزات البلازما نموذج بسـيس و بغـش. وبالتـالي هـذه التغييـرات يجـب أن تأتي مـن بعض الآثار الأخرى للكروموسوم ٢١ التثلث الصبغي.

ومـن المعروف أن مرضى أسنل يعـانون مـن الإجهـاد التأكسـدي خفيفـة إلـى معتدلـة بسبب الإفـراط فـي التعبيـر عـن الجـين أكسـيد الفـائق ديزموتـاز (سـود) التي تقـع أيضـا علـى الكروموسـوم ٢١ [٦٢]. ويبـين العمـود ٣ فـي الجـدول ٥ التـأثيرات علـى تركيـزات المستقلب عندما يكون H2O2،

substrate	clinical change	CBS × 1.5 H_2O_2 normal	CBS × 1.5 H_2O_2 × 2.5
Hcy	-24	-29	-35
Met	-47	-5	-15
bCys	15	0.2	13
bGSH	-14	0.2	-2
SAM	-18	-21	-48
SAH	-22	-26	-49
Cys	--	2	-55
5mTHF	--	29	117
CH2-THF	--	-14	-51
10fTHF	--	-7	-34

الجدول ٥: متلازمة داون: التغيرات الأيضية السريرية والنموذجية (٪) *

* البيانـات السـريرية في العمود ١ هـي٪ التغيـرات في مسـتويات الدم من الأيـض متوسط أكثر مـن ٤٢ المرضى أسنل مقارنـة ٣٨ مريضـا السـيطرة [١٣]. يعـرض العمودان ٢ و ٣٪ مـن التغييـرات فـي قـيم النموذج. فـي العمـودين ٢ و ٣، بسـيس و بجـش تشـير تركيـزات الدم النموذجي، والنـواتج الأخرى هـي داخل الخلايـا. ويبـين العمود ٢ تـأثير

زيادة جرعة كبس بمقدار ١.٥. ويبين العمود ٣ تأثير زيادة كبس جنبا إلى جنب مع الإجهاد التأكسدي المعتدل. وللاطلاع على المناقشة، انظر النص.

يتم زيادة الترشيح (عادة ٠.٠١ ميكرومتر) إلى ٠.٠٢٥ ميكرومتر بالإضافة إلى زيادة جرعة كبس. يتم تقليل مزيد من الأيض دورة الميثيونين يضاعف من آثار التثلث الصبغي ٢١. يزيد السيستين الهم بشكل كبير و غش الهم تتدهور بشكل متواضع. يناقش السبب في الزيادة في [bCys] تحت الإجهاد التأكسدي الخفيف في القسم 2-6.

وهناك عدد من الملاحظات السريرية تشير إلى أن المرضى أسفل قد يكون لديهم نقص حمض الفوليك وظيفية على الرغم من وجود مستويات البلازما الطبيعية من حمض الفوليك وفيتامين .[13] B12 نتائج النموذج تدعم المناقشة في [١٣] لماذا هذا هو الحال. زيادة التعبير من كبس يقلل من تركيز هسي وبالتالي يقلل من معدل رد فعل MS. وهكذا، يتراكم حمض الفوليك في شكل (the "methyl trap") 5mTHF وهناك أقل حمض الفوليك في أشكال CH_2-THF و 10f-THF التي هي ركائز لتركيب ثيميديلات وبورين، على التوالي. في الواقع، فإن الصفوف الثلاثة الأخيرة من الجدول 5 تبين أن التنظيم الأعلى لس سي بي اس له بالضبط هذا التأثير، وأن إضافة الاكسدة يجعل تأثير أقوى بكثير.

الفصل الثالث

الملف الأيضي للتوحد

التوحد هو اضطراب عصبي معقد وسببه غير معروف والذي يتم تشخيصه فقط على معايير سلوكية [٦٣]. وقد ازدادت حالات التوحد، ويعتقد الآن أن تكون موجودة في ~ ١ من ١٥٠ طفلا في الولايات المتحدة [٦٤]. العديد من الدراسات تشير إلى أن كل من التأثيرات الوراثية والبيئية مهمة في تطور التوحد [٦٥-٦٧]. وقد حددت بعض الدراسات أوجه القصور الأيضية في الأطفال المصابين بالتوحد [١٤]، وقد تبين مؤخرا أن هناك شخصية مميزة في التمثيل الغذائي لدى العديد من الأطفال المصابين بالتوحد الذين يعانون من اضطرابات في الميثيونين وأيض الجلوتاثيون [١٤،١٥]. يظهر العمودان الأول والثاني في الجدول ٦ التغيرات في مستويات الدم من مختلف الأيض في الأطفال المصابين بالتوحد مقارنة بالمرضى العاديين في دراستين سريريتين مختلفتين [١٤،١٥].

واحدة من فرضيات العمل في [١٤،١٥] هو أن الأطفال المصابين بالتوحد لديهم دورة ذاتية الإدامة من الالتهاب والإجهاد التأكسدي. في الواقع، ويذكر أن الأطفال المصابين بالتوحد زادت مستويات الدماغ والتهاب الأمعاء [٦٨،٦٩]. حقيقة أن مستويات غش الدم في الأطفال الذين يعانون من التوحد انخفضت بنسبة ٣٢-٤٦٪ و غش نسبة الدم / غسغ انخفضت ٤٨-٦٦٪ يتسق أيضا مع هذه الفرضية (الجدول ٦). يتم تمثيل الإجهاد التأكسدي في النموذج بتركيز H2O2. تركيز H2O2 يقود التوازن الأكسدة في الخلية من غش نحو غسغ (انظر الشكل ١) ويمكن أن تزيد تركيزات H2O2 و غسغ زيادة العديد من الإنزيمات في عملية التمثيل الغذائي واحد الكربون (انظر القسم هاء). في العمود ٣ من الجدول ٦ نعرض نتيجة زيادة كبيرة من الإجهاد التأكسدي في النموذج إلى ٥ أضعاف المستوى العادي. التركيزات داخل الخلايا نموذج هسي، ميت، وسلم كل تقع بشكل كبير المقابلة إلى الانخفاضات لوحظ سريريا في تركيزات البلازما الخاصة بهم. وتركز نموذج بغش ونسبة بغش / بغسغ كل من الانخفاض في البلازما على نحو مماثل لدرجة الانخفاض ينظر في مرضى التوحد في العيادة. أخيرا، نلاحظ أن الإجهاد التأكسدي الشديد يسبب "فخ الميثيل" بحيث تركيز نموذج mTHF0 أكثر من الضعف. هناك العديد من الأسباب الكامنة وراء فخ الميثيل: تركيز قطرات هسي، والإجهاد التأكسدي يمنع مس، وانخفاض في [سام] قطاع تثبيط مقرر، الذي يدفع المزيد من حمض الفوليك نحو شكل mTHF.0

هناك تناقض واضح بين نتائج النموذج في العمود ٣ (الجدول ٦) والنتائج السريرية في العمودين ١ و ٢. وتركيز نموذج الخلايا داخل ساه ينخفض تحت الإجهاد التأكسدي الشديد بينما في المرضى متوسط تركيز ساه في الدم

الجدول ٦: التوحد: التغيرات الأيضية السريرية واضلنموذجية (٪) *

substrate	clinical change 1	clinical change 2	$H_2O_2 \times 5$	$H_2O_2 \times 5$ adenosine up
Hcy	-5	-9	-19	-39
Met	-26	-39	-20	-26
bCys	-20	-19	-9	-9
bGSH	-32	-46	-35	-34
SAM	-10	-22	-61	-22
SAH	24	49	-54	24
bGSH/bGSSG	-48	-66	-88	-88
5mTHF	--	--	154	144
vDNMT	--	--	-6	-10

* البيانات السريرية في العمودين ١ و ٢ هي التغيرات المتوسطة في مستويات الدم من الأيض في الأطفال المصابين بالتوحد مقارنة مع المرضى السيطرة. يعرض العمودان ٣ و ٤٪ من التغييرات في قيم النموذج. في العمودين ٣ و ٤ bcys، bGSH و GSSG تشير تركيزات الدم نموذج، والنواتج الأخرى هي داخل الخلايا. فدنمت هو سرعة رد فعل مثيلة الحمض النووي (ميكرومتر / ساعة). ويبين العمود ٣ تأثير الإجهاد التأكسدي الشديد الذي هو عامل ٥ أعلى من المعتاد. ويبين العمود ٤ تأثير إضافة زيادة تركيز الأدينوزين إلى الإجهاد التأكسدي. إلى عن على اظار النص.

ارتفع بنسبة ٢٤-٤٩٪. ويذكر في أن تركيز الأدينوسين البلازما كان مرتفعا بشكل ملحوظ على المعدل لدى الأطفال المصابين بالتوحد مقارنة بالضوابط، على الرغم من أن كلا المجموعتين أظهرت انحرافات معيارية كبيرة جدا. زيادة البلازما الملحوظة في الأدينوسين يمكن أن تكون نتيجة لانخفاض نشاط الأدينوزين الأدينوزين، تثبيط كيناز الأدينوزين، أو زيادة في 5-nucleotidase ، وكلها يمكن أن تحدث في وجود الاكسدة. في نموذجنا، تركيز الأدينوزين داخل الخلايا هو ثابت. عندما رفعنا الثابت بعامل ٥، حصلنا على النتائج في العمود ٤ (الجدول ٦). الملف الأيضي مشابه جدا لتلك الموجودة في العمود ٣ إلا أنه الآن تركيز SAH داخل الخلايا لا ينخفض ولكن بدلا من ذلك يزيد بنسبة ٢٤٪ بما يتماشى مع البيانات السريرية.

وأخيرا، نلاحظ أن النموذج يتوقع تناقضات متواضعة في معدل رد فعل مثيلة الحمض النووي (fdnmt) وهذا يتفق مع هايبوميثيلن الحمض النووي العالمي المبلغ عنها في الأطفال المصابين بالتوحد . ويعود الانخفاض في معدل التفاعل إلى الانخفاض في [سام] والزيادة في . التي تمنع dnmt. تقاش قمنا بتوسيع نموذجنا السابق من عملية التمثيل الغذائي واحد الكربون لتشمل مسار ترانسفولوفيراتيون، وتوليف وتصدير

الجلوتاثيون، وانهيار في والتصدير من الدم. وهذا مكننا من التحقيق في عدد من المشاكل المحددة حول استقلاب الجلوتاثيون من الأدب التجريبي والسريرية.

لقد أظهرنا أن تجمع الجلوتاثيون غير حساس جدا إلى الاختلافات الكبيرة إنزاكوت إدخال الأحماض الأمينية الناجمة عن الوجبات اليومية. في بعض الحالات كنا قادرين على إعطاء تفسيرات سببية للظواهر التجريبية الملحوظة، ونحن قادرون على اختبار الآثار الكمية لمختلف مثبطات ألوستيريك والإثارة. وأخيرا، استخدمنا نموذج لإظهار كيف يمكن أن يكون الملف الشخصي الأيض لوحظ من متلازمة داون تنشأ من التثلث الصبغي ٢١ والإجهاد التأكسدي المعتدل وكيف يمكن أن يكون الملف الشخصي الأيض لوحظ من مرضى التوحد تنشأ من ارتفاع الاكسدة وزيادة تركيز الأدينوزين.

فيسلسلة من الأوراق . أظهر أوختنس وزملاؤه أن نصف عمر الجلوتاثيون في الكبد كان منخفضا جدا، ما يقرب من ٢-٣ساعات، بما يتفق مع نتيجة لوتيربورغ . من ناحية أخرى، أظهرت نفس المجموعة في أن الجلوتاثيون لديه نصف عمر ما يقرب من يومين في كبد الفئران الصيام. في القسم ب، أكدنا أنه لا يوجد تناقض بين هذه النتائج. في الحالة الأولى، يتم حظر التوليف غش، وبالتالي فإن التصدير السريع لل غش يجعل تركيز غش الانخفاض بسرعة. في الحالة الثانية، على الرغم من الصيام الفئران، وإعادة امتصاص السريع من السيستين، الجلايسين، والجلوتامات من قبل خلايا الكبد ويؤكد أن تخليق غش ينخفض نسبيا ببطء، وبالتالي فإن نصف العمر لوحظ طويل. وأخيرا، فإن نتائج النموذج تدعم استنتاجات موشاروف وآخرون. أن كلا من السيستين والميثيونين يساهمان بالتساوي تقريبا في توليف غش في الكبد. هذا صحيح على الرغم من أن GSH يتم تصديرها بسرعة ويتم إعادة استيراد السيستين بسرعة بالمقارنة مع مدخلات الميثيونين.

يقترح لو في أن تركيز الجلوتاثيون عالية في خلايا الكبد هو آلية تخزين السيستين. ولكن ما هو السبب في ركوب الدراجات السريعة، أي تصدير سريع من غش، وانهيار من قبل غت، وسريعة ريمبورت من السيستين؟ هذه دورة غير مجدية تتطلب الكثير من الطاقة. وهناك فرضية معقولة هي أن ركوب الدراجات السريعة يسمح للكبد للرد بسرعة على مطالبات الجلوتاثيون من الأنسجة الأخرى. هذه الفرضية تتفق مع فكرة أن الجلوتاثيون هو آلية لتخزين السيستين ، و GSH الكبدية

استقلاب الخلية معقدة جدا وغالبا ما تستخدم الركيزة نفسها في العديد من ردود الفعل المختلفة. ونتيجة لذلك قد تكون وظيفة لاستجابة أيض أوسرعة رد فعل للتغيرات في معلمة أو مدخلات غير خطية وغير رتيبة. على سبيل المثال، في القسم ه أظهرنا أن الإجهاد التأكسدي المعتدل يسبب GSH الدم وسيستين الدم في الارتفاع، ولكن الإجهاد التأكسدي الشديد يسبب GSH الدم وسيستين الدم في الانخفاض. هذه الزيادة في الإجهاد التأكسدي المنخفض ويرجع ذلك إلى تحفيز كبس و غس الذي يزيد توليف GSH والتركيز، وبالتالي فإن معدل التصدير. في الاكسدة عالية أو مزمنة، ومع ذلك، يشير النموذج إلى أن التوازن يتحول نحو GSSG، وإزالة السيستين في شكل GSSG يهيمن، مما أدى إلى انخفاض في السيستين.

هناك أدلة متزايدة على أن الإجهاد التأكسدي يلعب دورا في تطور التوحد. وقد تبين أن الملف الأيضي لمرضى التوحد يكون غير طبيعي مع المؤشرات الحيوية مرتفعة تشير إلى الإجهاد التأكسدي المزمن والأدلة على أن التوليف غش قد تكون غير كافية للحفاظ على التوازن الأكسدة. وبالمثل، فإن أوفيركسريسيون من سود هو الأطفال الذين يعانون من متلازمة داون يؤدي إلى خفض غش وزيادة في الاكسدة [١٣]. في نموذجنا الإجهاد التأكسدي يمثله ارتفاع مستوى H2O2 الذي يدفع العديد من التغييرات في عملية التمثيل الغذائي واحد الكربون ومسار ترانسفولوفيراتيون. H2O2 يحفز كبس و غس ويمنع مس و بمت. وبالإضافة إلى ذلك H2O2 يدفع التوازن غش / غسغ نحو غسغ، الذي يمنع مات ا و مات إي. لقد وجدنا أن، في نموذجنا، والإجهاد التأكسدي وحدها يمكن أن تنتج بعض ولكن ليس كل الخصائص الأيضية لمتلازمة داون والتوحد. ومع ذلك، فإن إضافة التثلث الصبغي ٢١ في الحالة الأولى، وأدينوسين أثار في الثانية، ويجعل التشكيلات أقرب بكثير من تلك التي لوحظت في المرضى الذين يعانون من متلازمة داون والتوحد، على التوالي.

يتم زيادة تركيزات الأحماض الأمينية الخلوية عن طريق التغذية وتدهور البروتين وانخفضت من خلال تخليق البروتين والنمو واستخدامها في عملية التمثيل الغذائي واحد الكربون. خلال النمو المبكر (حتى حوالي السنة الثانية بعد الولادة)، يتم استخدام حوالي ١٠-٢٠٪ من تجمع الأحماض الأمينية في النمو، وبالتالي فهي غير متاحة لتوليف غش واستقلاب الكربون الواحد [٧٥-٧٧]. وهذا من المتوقع أن يكون له تأثير على معدلات الأحماض الأمينية التي تتطلب العمليات من عملية استقلاب الكربون واحد وتوليف الجلوتاثيون. لقد وجدنا، من خلال المحاكاة، أنه إذا قلنا من مساهمة الأحماض الأمينية في الظلم بنسبة ١٥٪، وتركيز غش ومعدل تخليق غش تنقص نسبيا، ولكن هناك تأثير ضئيل على رد فعل مثيلة الحمض النووي، في حين أن ردود الفعل في يتم تخفيض دورة حمض الفوليك بنسبة ٢-٩٪. هذا الانخفاض في التوليف غش يمكن أن تسهم في الإجهاد التأكسدي المفرط عند الرضع.

الحسابات مع النموذج تظهر أن تركيزات الهم لا تعكس بالضرورة تركيزات الخلايا من الأيضات. على سبيل المثال، وزيادة جرعة كبس و غس في محاكتنا لمتلازمة داون يسبب تركيز الخلايا من السيستين في الانخفاض بينما يزيد تركيز الهم. وهذا يدل على أنه يجب توخي الحذر فيوتفسير قياسات الدم، والتي من الناحية المثالية واحد يرغب في إجراء التجارب التي يتم قياس كل من التركيزات داخل الخلايا وخارج الخلية. على النقيض من ذلك، وجدنا في نموذج (المحاكاة لا يظهر) أن تركيزات الهم من غش و غسغ تتبع تركيزات الخلايا.

ولكن الغرض من هذا النموذج لدراسة خصائص الأيض الجلوتاثيون داخل الخلايا، ولا سيما آثار الإجهاد التأكسدي وتثلث الصبغي ٢١. بالطبع يتأثر التمثيل الغذائي الجلوتاثيون داخل الخلايا عن طريق استيراد الأحماض الأمينية وتصدير وإزالة غش و غسغ. لذلك نحن بحاجة إلى تضمين حجرة الهم وتتبع بسيس، بغلي، بجش، بغسغ و بغلوت. إن حركية محتويات حجرة الهم معقدة لأن غش والأحماض الأمينية المكونة له في الهم تفاعل مع الكلى والدماغ والأنسجة الأخرى. هذه التفاعلات الهامة هي خارج نطاق هذا التحقيق الأولي، ولكن سيتم دمجها في الدراسات المستقبلية.

يـوفر هـذا النمـوذج أداة، مختلفـة عـن التجـارب المختبريـة، التـي يمكـن اسـتخدامها لتجربـة مـع الكربـون واحـد والجلوتـاثيون الأيـض. باسـتخدام الأداة، فمـن الممكـن بسـرعة وسـهولة اختبـار الفرضـيات، وتقيـيم الأفكـار الجديـدة، وإعطـاء تفسـيرات سـببية لمـا ينظـر إليـه فـي العيــادة والمختبــر. وبهــذه الــروح، يرحــب المؤلفــون بالأســئلة والاقتراحــات والفرضــيات لاختبارها من الأطباء والتجاربيين.

Abbreviations

Enzymes. AICART: aminoimidazolecarboxamide ribonucleotide transferase; BHMT: betaine-homocysteine methyltransferase; CBS: cystathionine β-synthase; CTGL: βcystathionase; DHFR: dihydrofolate reductase; DMGD: dimethylglycine dehydrogenase; DNMT: DNA-methyltransferase; FTD: 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase; FTS: 10-formyltetrahydrofolate synthase; GCS: γglutamylcysteine synthetase; GDC: glycine decarboxylase (glycine cleavage system); GNMT: glycine N-methyltransferase; GPX: glutathione peroxidase; GR: glutathione reductase; GS: glutathione synthetase; MAT-I: methionine adenosyl transferase I; MAT-III: methionine adenosyl transferase III; MS: methionine synthase; MTCH: 5,10methenyltetrahydrofolate cyclohydrolase; MTD: 5,10methylenetetrahydrofolate dehydrogenase; MTHFR: 5,10methylenetetrahydrofolate reductase; NE: non-enzymatic conversion; PGT: Phosphoribosyl glycinamidetransformalase; SAAH: S-adenosylhomocysteine hydrolase; SDH: sarcosine dehydrogenase; SHMT: serinehydroxymethyltransferase; TS: thymidylate synthase; $V_{X.}$ velocity of the reaction catalyzed by X; **Metabolites**. 10f-THF: 10formyltetrahydrofolate; 5mTHF: 5-methyltetrahydrofolate; AICAR: P-ribosyl-5-amino-4-imidazole carboxamide; CH = THF: 5-10-methenyltetrahydrofolate; CH2-THF: 5-10-methylenetetrahydrofolate; Cys: cysteine Cysta cystathionine; DHF: dihydrofolate; DMG: dimethylglycine; dTMP: deoxythymidine monophosphate; dUMP: deoxyuridine monophophate; GAR: glycinamide ribonucleotide; Glut: glutamate; Glut:Cys glutamyl-cysteine; Gly: glycine. GSH: glutathione; GSSG: glutathione disulfide; H_2C= O: formaldehyde. H_2O_2 hydrogen peroxide. HCOOH formate. Hcy homocysteine. Met methionine. NADPH nicotinamide adenine dinucleotide phosphate; SAH: Sadenosylhomocysteine; SAM: S-adenosylmethionine;
Sarc: sarcosine; Ser: serine; THF: tetrahydrofolate

المراجع

1. Wu G, Fang Y, Yang S, Lupton JR, Turner ND: **Glutathione metabolism and its implications for health.** *J Nutr* 2004, **134:**489-492.
2. Guarino MP, Afonso RA, Raimundo N, Raposo JF, Macedo MP: **Hepatic glutathione and nitric oxide are critical for hepatic insulin-sensitizing substance action.** *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003, **284(4):**G588-G594.
2. Lu SC: **Regulation of glutathione synthesis.** *Curr Top Cell Reg* 2000, **36:**95-116.
3. Townsend DM, Tew KD, Tapiero H: **The importance of glutathione in human disease.** *Biomed Pharmacother* 2003, **57:**145-155.
4. Sen CK: **Cellular thiols and redox-regulated signal transduction.** *Curr Top Cell Regul* **36:**1-30.
5. Klaunig JE, Kamendulis LM: **The role of oxidative stress in carcinogenesis.** *Ann Rev Pharm Toxicol* 2004, **44:**239-267.
6. Hernantz A, Fernandez-Vivancos E, Montiel C, Vazquez JJ, Arnalich S: **Changes in the intracellular homocysteine and glutathione content associated with aging.** *Life Sciences* 2000, **67:**1317-1324.
7. Miller R, Buehner G, Chang Y, Harper JM, Sigler R, Smith-Wheelock : **Methionine deficient diet extends mouse lifespan, slows immune and lens aging, alters glucose, T4, IGF-1 and insulin levels and increases hepatocyte MIF levels and stress resistence.** *Aging Cell* 2005, **4:**119.
8. Mockett R, Sohal RS, Orr WC: **Overexpression of glutathione reductase extends survival in transgenic *Drosophila melanogaster* under hypoxia but not normoxia.** *FASEB J* 1999, **13:**1733-1742.
9. Ishibashi M, Akazawa S, Sakamaki H, Matsumoto K, Yamasaki H, Yamaguchi Y, Goto S, Urata Y, Kondo T, Nagataki S: **Oxygeninduced embryopathy and the significance of glutathionedependent antioxidant system in the rat embryo during early organogenesis.** *Free Rad Biol Med* 1997, **22:**447-454.
10. Meister A: **Glutathione deficiency produced by inhibition of its synthesis, and its reversal; applications in research and therapy.** *Pharmac Ther* 1991, **51:**155-194.
11. Lu SC: **Regulation of hepatic glutathione synthesis: current concepts and controversies.** *FASEB J* 1999, **13:**1169-1183.
12. Pogribna M, Melnyk S, Pogribny I, Chango A, Yi P, James SJ: **Homocysteine metabolism in children with Down syndrome: in vitro modulation.** *Am J Hum Genet* 2001, **69:**88-95.
13. James SJ, Cutler P, Melnyk S, Jernigan S, Janak L, Gaylor D, Neubrander JA: **Metabolic biomarkers of increased oxidative stress and impaired methylation capacity in children with autism.** *Am J Clin Nutr* 2004, **80:**1611-1617.
14. James SJ, Melnyk S, Jernigan S, Cleves MA, Halsted CH, Wong DH, Cutler P, Bock K, Boris M, Bradstreet JJ, Baker SM, Gaylor DW: **Metabolic endophenotype and related genotypes are associated with oxidative stress in children with autism.** *Am J Med Gen* 2006, **141B:**1-10.
15. Reed MC, Nijhout HF, Sparks R, Ulrich CM: **A Mathematical model of the methionine cycle.** *J Theor Biol* 2004, **226:**33-43.
16. Nijhout HF, Reed MC, Budu P, Ulrich CM: **A Mathematical Model of the Folate Cycle.** *J Biol Chem* 2004, **279:**55008-55016.
17. Nijhout HF, Reed MC, Anderson DA, Mattingly J, James SJ, Ulrich CM: **Long-Range Allosteric Interactions between the Folate and Methionine Cycles Stabilize DNA Methylation Reaction**

    Epigenetics 2006, **1:**81-87. **Rate.**
18. Reed MC, Nijhout HF, Neuhouser ML, Gregory JF, Shane B, James SJ, Boynton A, Ulrich CM: **A Mathematical Model Gives Insights into Nutritional and Genetic Aspects of Folate-Mediated One-Carbon Metabolism.** *J Nutr* 2006, **136:**2653-2661.
19. Nijhout HF, Reed MC, Lam S-L, Gregory JF, Shane B, Ulrich CM: **In silico experimentation with a model of hepatic mitochondrial folate metabolism.** *Theor Biol Med Mod* 2006, **3:**40.
20. Nijhout HF, Reed MC, Lam S-L, Gregory JF, Shane B, Ulrich CM: **A day in the life of cell metabolism.** *J Biol Theory* 2008, **2:**2124-127.
21. Finkelstein J, Martin J: **Methionine metabolism in mammals: distribution of homocysteine between competing pathways.** *J Biol Chem* 1984, **259:**9508-9513.
22. Janosik M, Kery V, Gaustadnes M, Maclean KMN, Kraus JP: **Regulation of human cystathionine beta-synthase by S-adenosyl-Lmethionine: Evidence for two catalytically active conformations involving an autoinhibitory domain in the C-terminal region.** *Biochemistry* 2001, **40:**10625-33.
23. Kluijtmans LAJ, Boers GHJ, Stevens EMB, Renier WO, Kraus JP, Trijbels FJM, van den LPWJ Heuvel, Blom HJ: **Defective cystathionine beta-synthase regulation by S-adenosyl-methionine in a partially pyridoxine responsive homocysteinuria patient.** *J Clin Invest* 1996, **98:**285-289.
24. Deplancke B, Gaskins HR: **Redox control of the transsulfuration and glutathione biosynthesis pathways.** *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002, **5:**85-92.
25. Mosharov E, Cranford MR, Banerjee R: **The quantitatively important relationship between homocysteine metabolism and glutathione synthesis by the transsulfuration pathway and its regulation by redox changes.** *Biochem* 2000, **39:**13005-13011.
26. Stipanuk MH, Coloso RM, Garcia RAG, Banks MF: **Cysteine concentration regulates cysteine metabolism to glutathione, sulfate, and taurine in rat hepatocytes.** *J Nutr* 1992, **122:**420-427.
27. Richman PG, Meister A: **Regulation of γ-glutamyl-cysteine synthetase by non-allosteric feedback inhibition by glutathione.** *J Biol Chem* 1975, **250:**1422-1426.
28. Seelig G, Meister A: **Glutathione biosynthesis; γ-glutamylcysteine synthetase from rat kidney.** *Methods in Enzymology* 1985, **113:**379-399.
29. Mendoza-Cozatl DG, Moreno-Sanchez R: **Control of glutathione and phytochelatin synthesis under cadmium stress. Pathway modeling for plants.** *J Theor Biol* 2006, **238:**919-936.
30. Hell R, Bergmann L: **γ-Glutamylcysteine synthestase in higher plants: catalytic properties and subcellular localization.** *Planta* 1990, **180:**603-612.
31. Ookhtens M, Kaplowitz N: **Role of the liver in interorgan homeostasis of glutathione and cyst(e)ine.** *Sem Liver Dis* 1998, **18:**313-329.
32. Aw TY, Ookhtens M, Ren C, Kaplowitz N: **Kinetics of glutathione efflux from isolated rat hepatocytes.** *Am J Physiol Gast Liver* 1986, **250:**G236-G243.

33. Ookhtens M, Hobdy K, Corvasce MC, Aw TY, Kaplowitz M: **Sinusoidal efflux of glutathione in the perfused rat liver.** *J Clin Invest* 1985, **75:**258-265.
34. Ookhtens M, Maddatu T: **Mechanism of changes in hepatic sinusoidal and biliary glutathione efflux with age in rats.** *Am J Physiol* 1991, **261:**G648-G656.
35. Ookhtens M, Mittur AV, Erhart NA: **Changes in plasma glutathione concentrations, turnover, and disposal in developing rats.** *Am J Physiol* 1994, **266:**R979-R988.
36. Meister A: **Glutathione.** In *The Liver: Biology and Pathobiology* Edited by: Aria IM, Jakobi WB, Poppser , Shchacter D, Shafritz D. New York: Raven Press; 1983:401-417.
37. Fukagawa N, Ajami A, Young V: **Plasma methionine and cysteine kinetics in response to an intravenous glutathione infusion in adult humans.** *Am J Physiol.* 1996, **270(2 Pt 1):**E209-E214.
38. Inoue M, Kinne R, Tran T, Arias I: **Glutathione transport across hepatocyte plasma membranes.** *Eur J Biochem* 1984, **138:**491-495.
39. Tallen HH, Moore S, Stein WH: **L-cystathionine in human brain.** *J Biol Chem* 1958, **230:**707-716.
40. Griffith OW: **Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis.** *Free Radic Biol Med* 1999, **27(910):**922-935.
41. Samiec PS, Drews-Botsch C, Flagg EW, Kurtz JC, Sternberg P, Reed RL, Jones DP: **Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes.** *Free Radic Biol Med* 1998, **24(5):**699-704.
42. Mackenzie B, Ahmed A, Rennie MJ: **Muscle amino acid metabolism and transport.** In *Mammalian Amino Acid Transport: Mechanisms and Control* Edited by: Kilberg MS, Haeusinger D. Plenum Press: New York; 1992:195-231.
43. Kilberg MS, Handlogten ME, Christensen HN: **Characteristics of system ASC for transport of neutral amino acids in the isolated rat hepatocyte.** *J Biol Chem* 1980, **256:**3304-3312.
44. Kilberg MS, Haeussinger D, eds: *Mammalian Amino Acid Transport* New York, Plenum; 1992.
45. Kondo T, Dale GL, Beutler E: **Glutathione transport by insideout vesicles from human erythrocytes.** *PNAS* 1980, **77:**6359-6362.
46. Lauterburg BH, Adams JD, Mitchell JR: **Hepatic glutahione homeostasis in the rat: efflux accounts for glutathione turnover.** *Hepatology* 1984, **4:**586-590.
47. Tateishi N, Higashi T, Shinya S, Naruse A, Sakamoto Y: **Studies on the regulation of glutathionine level in rat liver.** *J Biochem* 1974, **75:**93-103.
48. Tateishi N, Sakamoto Y: **Nutritional significance of glutathione in rat liver.** In *Glutathione: Storage, Transport, and Turnover in Mammals* Edited by: Sakamoto Y, Higashi T, Tateishi N. Tokyo: Scientific Socoetu Press; 1983:13-38.
49. Meister A: **Glutathione.** In *The Liver: Biology and Pathobiology* 2nd edition. Edited by: Aria IM, Jakobi WB, Poppser, Shchacter D, Shafritz D. New York: Raven Press; 1998:401-417.
50. Fernandez-Checa J, Lu SC, Ookhtens M, DeLeve L, Runnegar M, Yoshida H, Saiki H, Kannan R, Garcia-Ruiz C, Kuhlenkamp JF, Kaplowitz N: **The regulation of hepatic glutathione.** In *Hepatic Anion Transport and Bile Secretion: Physiology and Pathophysiology* Edited by: Tavoloni N, Berk PD. New York: Marcel Dekker; 1992:363-395.
51. Storch KJ, Wagner DA, Burke JF, Young VR: **Quantitative study in vivo of methionine cycle in humans using [methyl-$^{2}H_{3}$]- and [1-^{13}C]methionine.** *Am J Physiol* 1988, **255:**E322-31.
52. Finkelstein JD, Harris BJ, Martin JJ: **Methionine metabolism in mammals: Concentrations of metabolites in rat tissues. Kinetic studies of betaine:homocysteine methyltransferase.** *J Nutr* 2000, **112:**1011-1018.
53. Finkelstein JD, Martin JJ: **Methionine metabolism in mammals: Adaptation to methionine excess.** *J Biol Chem* 1986, **261:**1582-1587.
54. Corrales FJ, Perez-Mato I, Sanchez del Pino MM, Ruiz F, Castro C, Garcia-Trevijano ER, Latasa U, Martinez-Chantar ML, Martinez-Cruz A, Avila MA, Mato JM: **Regulation of mammalian liver methionine adenosyltransferase.** *J Nutr* 2002, **132:**2377S-2381S.
55. Nijhout HF, Reed MC, Ulrich CM: **Multiple and diverse mechanisms of homeostasis in a complex metabolic network.** 2007 in press.
56. Corrales FJ, Ruiz F, Mato J: ***In vivo* regulation by glutathione of methionine adenosyltransferase S-nitrosylation in rat liver.** *J Hepatology* 1999, **31:**887-894.
57. Pajares MA, Duran C, Corrales F, Pliego MM, Mato JM: **Modulation of Rat Liver S-Adenosylmethionine Synthetase Activity by Glutathione.** *J Biol Chem* 1992, **267:**17598-17605.
58. Epstein CJ: **Down syndrome (trisomy 221).** In *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease* 3rd edition. Edited by: Stanbury JB, Wingarden JB, Frederickson DS. New York: McGraw-Hill; 1995:749-795.
59. Krivchenia E, Hether CA, Edmonds LD, May DS, Guckenberger S: **Comparative epidemiology of Down syndrome in two United States Populations.** *Amer J Epidem* 1993, **137:**815-828.
60. Torfs CP, Christianson RE: **Anomalies in Down syndrome individuals in a large population-based registry.** *Amer J Med Gen* 1998, **77:**431-438.
61. Ianello RC, Crack PJ, de Hann JB, Kola I: **Oxidative stress and neural dysfunction in Down syndrome.** *J Neural Transm* 1999, **57:**257-267.
62. Lord C, Risi S, Lambrecht L, Cook EH Jr, Leventhal BL, DiLavore PC, Pickles A, Rutter M: **The autism diagnostic observation schedule-generic: A standard measure of social and communication deficits associated with the spectrum of autism.** *J Autism Dev Disord* 2000, **30:**205-223.
63. **CDC** 2005 [http://medicalhomeinfo.org/health/ autism%20downloads/AutismAlarm.pdf].
64. London EA: **The environment as an etiologic factor in autism: a new direction for research.** *Eviron Health Perspec* 2000, **108(suppl):**401-404.
65. Folstein SE, Rosen-Sheidley B: **Genetics of autism: complex aetiology for a heterogeneous disorder.** *Nature Rev Genet* 2001, **2:**943-955.
66. Muhley R, Trentacoste SV, Rapin I: **The genetics of autism.** *Pediatr* 2004, **113:**e472-e486.
67. Zimmerman AW, Jyonouchi H, Comi AM, Connors SL, Milstien S, Varsou A, Heyes MP: **Cerebrospinal fluid and serum markers of inflammation in autism.** *Pediatr Neurol* 2005, **33:**195-201.
68. Horvath K, Perman JK: **Autistic disorder and gastrointestinal disease.** *Curr Opin Pediatr* 2002, **14:**583-587.
69. Stubbs G, Litt M, Lis E: **Adenosine deaminase activity decreased in autism.** *J Am Acad Child Psych* 1982, **21:**71-74.
70. Decking UK, Schlieper G, Kroll K, Schrader J: **Hypoxia-induced inhibition of adenosine kinase potentiates cardiac adenosine release.** *Circ Res* 1997, **81:**154-164.

71. Chen YF, Li PL, Zou AP: **Oxidative stress enhances the production and actions of adenosine in the kidney.** *Am J Physiol Regul Integr Comp* 2001, **281:**R1808-16.
72. Melnyk S, Jernigan S, Savenka S, James SJ: **Elevation in S-adenosylhomocysteine and DNA hypomethylation in parents and children with autism.** *FASEB J* 2007, **21:**A348.
73. Ming X, Cheh MA, Yochum CL, Halladay AK, Wagner GC: **Evidence of oxidative stress in autism derived from animal models.** *Amer J Biochem Biotech* 2008, **4:**218-225.
74. Chien PFW, Smith K, Peter WW, Scrimgeour CM, Talor DJ, Rennie MJ: **Protein turnover in the human fetus studied a term using stable isotope tracer amino acids.** *Am J Physiol* 1993, **265:**E31-E35.
75. FAO/WHO/UNU: *Energy and protein requirements* Geneva: WHO; 1985.
76. Waterlow JC: **Whole-body protein turnover in humans – past, present, and future.** *Ann Rev Nutr* 1995, **15:**57-92.