بازآموزی

آپوتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول و رابطه آن با سرطان

«قسمت اول»

دکتر محمدرضا نوری دلویی
گروه ژنتیک پزشکی ـ دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
محمدمهدی یعقوبی
کارشناس ارشد ژنتیک

خلاصه

آپوتوز (apopotosis) یک اصطلاح توصیفی است که برای سلول‌های در حال مرگ برنامه ریزی شده به کار می‌رود و نقش حیاتی در رشد و نمو هموستازی در یوکارتهای (eukryotes) چند سلولی دارد. با ویژگی‌هایی مانند مشخصات ریخت‌شناسی و عدم ایجاد واکنش التهابی می‌توان آپوتوز را از نکروز تشخیص داد. در سال‌های اخیر توجه زیادی به تنظیم مولکولی آپوتوز شده است به طوری که تنها در سال ۱۹۹۷ بیش از ۳۷۰۰ مقاله در این مورد به چاپ رسیده است.

بسیاری از گیرنده‌های سطح سلول مانند خانواده TNFR در تغییر حساسیت سلول به آپوتوز نقش دارند. مسیر پیام رسانی آپوتوزی یکی از اعضای این خانواده به نام fas که در انتها به فعال سازی پروتئازهای ICE منتهی می‌شود ردیابی گردیده است. خانواده پروتئازهای ICE که از نظر تکامل زیستی حفاظت شده‌اند، نقش تنظیم کننده آپوتوز را به عهده دارند. این آنزیمها که معمولاً توسط فعالیت خود کاتالیزوری فعال می‌گردند، پروتئین‌های مختلف سلولی را تجزیه می‌کنند اما هدف مشخص آنها که در آپوتوز نقش اساسی داشته باشد شناسایی نشده است.

خانواده پروتئین‌های bcl-2 که گروه جدیدی از آنکوژنها می‌باشند نیز از نظر تکامل زیستی حفاظت گردیده و در کنترل آپوتوز نقش اساسی دارند. اعضای مختلف این خانواده می‌توانند مهارکننده یا تحریک کننده آپوتوز باشند و سرنوشت سلول به موازنه نسبی بین اعضای مخالفی بستگی دارد که با ایجاد هموديمرياهترو ديمر با هم بر هم کنش دارند.

اغلب اعضای این خانواده در غشای میتوکندری جای می‌گیرند و به احتمال زیاد bcl-2 از طریق میتوکندری در مهار آپوتوز وارد می‌شود.

آنکوژن‌های ویروسی و سلولی که تحریک کننده تکثیر می‌باشند، القاکننده‌های قوی آپوتوز نیز هستند. احتمال می‌رود که القای آپوتوز بستگی به فرآورده ژن‌های بازدارنده تومور به ویژه p53 دارد که سلول‌های غیر عادی از نظر ژنتیکی را شناسایی کرده و آپوتوز را در آنها به راه می‌اندازند. بنابراین، یکی از مراحل اساسی ایجاد سرطان مهار آپوتوز می‌باشد.

درمان‌های رایج سرطان نیز در سلول هدف، آپوتوز را القا کرده و یکی از علت‌های مهم مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی، مهار آپوتوز در آنها است. شیمی درمانی خود می‌تواند جهش‌های جدید ایجاد کند. بنابراین، رو آوردن به درمان‌های جدید و استفاده از مسیرهای آپوتوزی و تغییر و اصلاح آنها در سلول سرطانی می‌تواند جایگزین مناسبی برای روش‌های جاری باشد.

مقدمه

مدت کوتاهی پس از ارایه نظریه سلولی توسط اشلایدن (Schleiden) و شوان (Schwann) در سال ۱۸۴۲، Carl voget، مرگ سلولی را در نوتوکورد (notochord) و غضروف مجاور آن در نوعی وزغ که در حال دگردیسی بود، گزارش کرد. در پی آن کشفیات زیادی از مرگ سلولی و مشاهده آن ارایه گردید، به طوری که متجاوز از یک صد مقاله در این زمینه تا اواخر قرن نوزدهم به چاپ رسید (۱).

اگر چه ممکن است مرگ به عنوان نقطه مقابل حیات تصور شود، با دید زیست شناختی، مرگ بخش غیر قابل انفکاک حیات در نظر گرفته می‌شود. بنابراین، حضور یک سیستم پیشرفته برای برنامه ریزی مرگ، از جمله ویژگی‌های مشترک اندامگان‌های (organisms) پیشرفته در سطح گونه و فرد در موجودات چند سلولی است. از یک سو، طول عمر افراد به طور ژنتیکی تعیین و تنظیم گردیده است تا تجدید نسل امکان‌پذیر باشد و از سوی دیگر، سلول‌های بدنی هم به طور مرتب می‌میرند تا بقای فرد را تضمین کنند.

این نوع دوم از مرگ از طریق فرآیندی به نام مرگ برنامه ریزی شده (Programmed cell death) یا PCD صورت می‌گیرد که به آن آپوتوز هم می‌گویند. مطالعات نشان داده که آپوتوز تنها یک نوع خاص از مرگ سلولی است و در نتیجه تمام مرگ‌های برنامه ریزی شده توسط آپوتوز صورت نمی‌گیرد (۲).

اصطلاح آپوتوز برای اولین بار در سال ۱۹۷۲ توسط kerr و همکارانش ارایه شد. این دانشمند این اصطلاح را برای نوعی از مرگ سلولی به کاربرد که با نکروز (necrosis) تفاوت داشت. آپوتوز کلمه یونانی با معادل انگلیسی falling off و به معنی «برگ ریزان» می‌باشد.

بسیاری از گیرنده‌های سطح سلول مانند خانواده TNFR در تغییر حساسیت سلول به آپوتوز نقش دارند.

نکروز یا مرگ آسیب شناختی سلول هنگامی رخ می‌دهد که آسیب‌های فیزیکی، شیمیایی یا اسمزی به سلول وارد آید و یا برخی از فعالیت‌های ضروری سلول توسط سموم متوقف شود. در این حال سلول حجیم گردیده، غشای پلاسمایی پاره گشته و محتویات آن به بیرون می‌ریزد. در اثر بیرون ریختن محتویات سلول، پاسخ التهابی ایجاد می‌شود. نمونه مرگ آسیب شناختی را می‌توان در حالات تروماو بافت مردگی (Ischaemia) مشاهده کرد اما در آپوتوز که به آن مرگ فیزیولوژیک هم می‌توان گفت حجم سلول کوچک شده و چگالی آن بالا می‌رود. کروماتین متراکم می‌گردد و آنزیم‌های خاصی فعال شده و شروع به تجزیه پروتئین‌ها و DNA می‌کنند اما غشای سلول پاره نمی‌شود بلکه سلول به صورت چند گرانول کوچک در می‌آید که توسط سلول‌های اطراف خورده می‌گردد و بنابراین، پاسخ التهابی دیده نشده و یا

جدول ۱ ـ مقایسه آپوتوزبانکروز

مشخصات	آپوتوز	نکروز
ریخت شناسی	کاهش حجم، تراکم کروماتین	افزایش حجم، تخریب غشا، آسیب به اندامک‌ها
سنتز ماکرومولکول	اغلب لازم است به ویژه در اوایل فرآیند	غیر لازم است
شکاف DNA	با الگوی بین نوکلئوزی صورت می‌گیرد	بدون الگو رخ می‌دهد
کلسیم	جریان ملایم	جریان شدید
مکانیسم	تحت کنترل ژنی	از دست دادن موازنه آب و الکترولیت‌ها
عوامل موثر	تکوین معمولی، هورمون‌ها، نبود عامل رشد	هیپوکسی، هیپوترمی، سموم و...
پاسخ ایمنی	فاگوسیتوز	التهاب

خیلی کم مشاهده می‌شود. در حقیقت در آپوتوزیک برنامه خودکشی درونی، فعال شده و سلول را می‌کشد. این برنامه تحت کنترل عوامل مختلفی است که در ادامه مطلب به آن اشاره گردیده است. اجرای این برنامه نیاز به ساخت پروتئین‌های جدیدی دارد، چرا که مهارکننده‌های رونویسی mRNA و یا ترجمه آن می‌توانند آپوتوز را مهار کنند (۳) در جدول (۱)، آپوتوزونکروز مقایسه شده است.

اگرچه آپوتوزونکروز را به‌عنوان دو روش مجزا برای مرگ سلولی در نظر می‌گیرند، شواهد فزاینده نشان می‌دهد که آپروتوزونکروز تنها دو انتهای یک طیف وسیع از مرگ‌های بیوشیمیایی و مرفولوژیک را نشان می‌دهند.

اغلب، شدت رخداد اولیه تعیین کننده نوع مرگ است و به نظر می‌رسد که که دست کم شماری از مراحل اولیه در هر دو نوع مرگ مشترک باشد. به طور نمونه، مقادیر بالای استرپتوزوتوسین (sterptozotosin) منجر به نکروز در سلول‌های B لوزالمعده می‌گردد، در حالی که مقادیر پایین آن موجب آپوتوز می‌شود. هم چنین پیامبرهای ثانویه مانند ca^{2+} یا عامل رونویسی وابسته به تنش c-fos، در هر دو نوع مرگ وارد می‌شوند. یافته‌های اخیر نشان داده است که حتی مولکول‌هایی مانند کاسپازهای ۸/۱۰ که پیشتر تصور می‌شد کاملاً ویژه آپوتوز هستند، می‌توانند در نکروز هم شرکت کنند (۴). در مورد کاسپازها و نحوه عمل آنها در ادامه بحث، بیشتر توضیح داده شده است.

معیار دیگری که برای تشخیص فرآیندهای آپوتوزونکروز از هم به کار می‌رود، حساسیت آپوتوز به کنترل از سوی خانواده ژنی bcl-2 می‌باشد. شایان ذکر است که پروتئین bcl-2 مانع آپوتوز می‌شود. بررسی‌های جدید نشان داده که افزایش بیان bcl-2 از مرگ نکروزی نیز جلوگیری می‌کند (۴).

بر اساس آنچه اشاره شد اگر بین آپوتوزونکروز رخدادهای مشترکی وجود دارد (که دارد)، اهمیت این دو نوع مرگ متفاوت در چیست؟ می‌توان گفت که برنامه مرگ در همه

شرایط به نحو یکنواخت به پیش نمی‌رود. بلکه اگر در آن اختلالی رخ ندهد، ریخت آن شبیه آپوتوز می‌شود و اگر در عناصر دخیل در برنامه، اختلال یا ممانعت ایجاد شود و یا هنگامی که رخداد اولیه به حدی شدید باشد که برخی از بخش‌های برنامه قادر به اتمام نباشند آنگاه نوع مرگ عوض می‌شود. بر این اساس، آپوتوزونکروز دو انتهای یک طیف پیوسته از مرگ‌های سلولی به شمار می‌روند و نکروز می‌تواند نتیجه اجرای ناقص آپوتوز به حساب آید.

انکوژن‌های ویروسی و سلولی که تحریک کننده تکثیر می‌باشند، القا کننده‌های قوی آپوتوز نیز می‌باشند.

مشاهده شده است که غلظت درون سلولی ATP در دو نوع مرگ تفاوت آشکاری دارد. به طوری که سطح انرژی در نکروز به سرعت پایین می‌آید، اما در آپوتوز چنین نیست. اگر سلولی را که به سمت آپوتوز تحریک شده است، از انرژی تهی کنند به سمت نکروز تغییر جهت می‌دهد (۵). علاوه بر این، در سلول‌های نورونی، نوع گیرنده‌ای که توسط پیام خارجی تحریک می‌شود نیز در تعیین نوع مرگ نقش دارد. احتمال می‌رود که فعالیت شماری از پروتئازها مانند کاسپازها هم تعیین کننده باشد، به طوری که تنظیم ظریف مرگ سلولی در کنترل آنها باشد. در برخی موارد مهار این پروتئازها منجر به تغییر جهت سلول از آپوتوز به نکروز می‌شود، اما میزان مرگ و میر تغییر نمی‌کند (۴،۶).

به طور خلاصه، بر اساس اطلاعات جاری هنوز مرزبندی مشخص بین آنچه که به آن نکروز یا آپوتوزنام نهاده‌اند وجود ندارد و هر دو فرآیند اجزای یک طیف پیوسته به شمار می‌روند.

در این مقاله با استفاده از شمار زیادی از جدیدترین منابع تلاش گردیده است برخی از مهم‌ترین ویژگی‌های فرآیند بسیار مهم آپوتوز معرفی شود و با تاکید بر اهمیت و نقش آن در خلال مراحل توسعه و تکوین جانوران و به ویژه انسان، مسایلی مانند نقش آپوتوز در سلامتی و بیماری و چگونگی تنظیم مولکولی آن مورد بررسی قرار گیرد. به علاوه، نقش میتوکندری در کنترل آپوتوز، اونکوژن‌ها و ژن‌های بازدارنده تومور و رابطه سرطان با آپوتوز مورد توجه قرار گرفته است.

پیش از پرداختن به عناوین مورد اشاره در بالا مناسب است اشاره شود که مرگ سلولی در رشد و نمو گیاهان و از جمله شکل‌گیری آوندهای چوبی، گل‌ها و تخمک و در پیر شدن گل‌ها و برگ‌ها و پاسخ گیاه به عوامل بیماری زا نیز نقش دارد (۷). به علاوه، حتی شماری از ارگانیسم‌های پیشرفته ابتدایی مانند تریپانوزوم که در خلال چرخه زندگی خود تک سلولی باقی می‌مانند، ممکن است که دارای برنامه مرگ باشند.

شایان ذکر است، برجسته‌ترین نمونه مرگ برنامه ریزی شده در ارگانیسم‌های تک سلولی را می‌توان در پروکاریوکات‌ها (موجودات ابتدایی)

مشاهده کرد که در اثر رقابت بین باکتری‌ها و ویروس‌های آنها، سویه‌های مختلف ویروسی و یا بین خود باکتری ایجاد می‌شود (۱۳).

درمان‌های رایج سرطان نیز در سلول هدف، آپوتوز را القا کرده و یکی از علت‌های مهم مقاومت دارویی سلول‌های سرطانی، مهار آپوتوز در آنها است.

شرح تفصیلی این موارد، از محدوده مقاله حاضر خارج است و نوشتاری مستقل را می‌طلبد.

۱ ـ مراحل آپوتوز

فرایند آپوتوز را می‌توان به سه مرحله: القا، اثر کننده (Effector) و تجزیه، تقسیم کرد. در خلال مرحله القا، سلول محرک‌های گوناگون تحریک کننده مرگ را دریافت می‌کند.

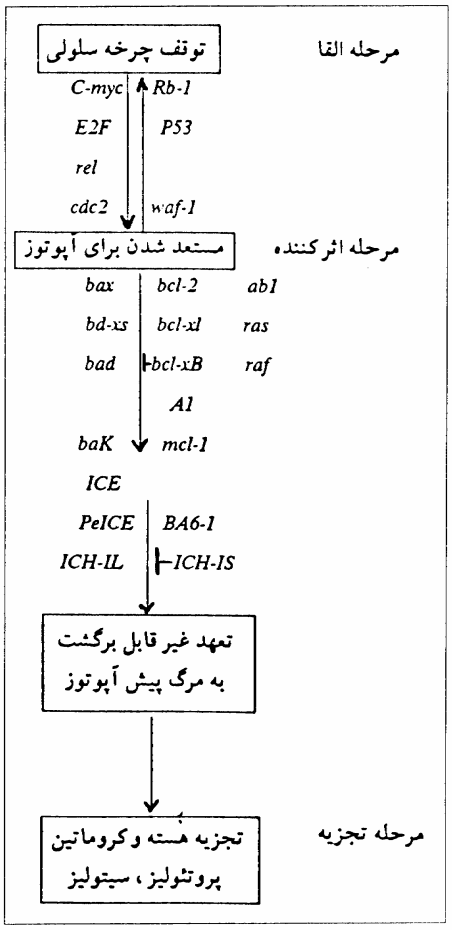
از جمله فقدان عامل بقای ضروری، کم شدن ذخیره متابولیک، اتصال لیگاند به گیرنده‌های انتقال دهنده پیام مرگ مانند CD95 و گیرنده TNF و یا آسیب توسط سموم، حرارت و تشعشع به اندازه‌ای که نتواند نکروز را موجب شود. از آنجا که رخدادهای بیوشیمیایی مرحله القا وابسته به نوع محرک هستند، مسیرهای اختصاصی دارند. تنها در خلال مرحله بعدی است که این حوادث آغاز کننده به الگوی منظمی از واکنش‌های متابولیک ترجمه می‌شوند و در چنین شرایطی است که تصمیم مرگ گرفته می‌شود. بنابراین، سرنوشت نهایی سلول در خلال مرحله اثر کننده تابع رخدادهای تنظیمی است. پس از این مرحله، در خلال مرحله تجزیه، آنتروپی (Entropy) کلی افزایش می‌یابد، آنزیم‌های کاتابولیک فعال شده و از اثرات تنظیمی بیشتر جلوگیری می‌شود و ویژگی‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی آپوتوز یعنی خرد شدن DNA، تجزیه وسیع پروتئین و مانند آن ظاهر می‌شود (۸). مراحل فرایند آپوتوز در شکل ۱ به نمایش درآمده است.

چنانچه در بالا اشاره شد، مرحله اثرکننده را می‌توان مهم‌ترین مرحله آپوتوز دانست، زیرا که در اثر بر هم کنش بین پروتئین‌های متفاوت سرنوشت سلول در این مرحله تعیین می‌گردد.

در رابطه با این مرحله چند نظریه ارایه شده است که به دلیل محدودیت مقاله تنها به دو مورد از آنها اشاره می‌گردد.

الف ـ نظریه فعال شدن ژن‌های کشنده

نظر به این که مطالعات در نماتود C.elegans نشان داده است که در خلال تکوین تعدادی ژن ویژه برای اجرای برنامه مرگ روی ۱۳۱ سلول بدنی از مجموع ۱۰۹۰ سلول ضروری است. بنابراین، برای فرآیند مرگ باید یک برنامه‌ژنتیکی وجود داشته باشد که در موقعیت‌های ویژه فعال شده و mRNA و پروتئین‌های جدیدی را بسازد. شواهد نشان داده است که در واقع، ژن‌هایی وجود دارند که به طور ویژه برای برنامه مرگ لازم هستند، که به آنها ژن‌های کشنده (killer genes) می‌گویند.



شکل ۱ ـ مراحل فرایند آپوتوز

از آنجا که مهارکننده‌های سنتز mRNA یا پروتئین قادر هستند که PCD را مهار کنند، این نظریه بیشتر تقویت شده است. اگر چه شماری از مشاهدات نشان داده است که این مسئله همیشه صادق نیست. چنین به نظر می‌رسد که آنزیم‌های تجزیه کننده DNA همواره در هسته حضور داشته و تنها نیاز به فعال شدن دارند.

از طرف دیگر، برخی از پروتیئن‌هایی که در PCD نقش دارند در اعمال ضروری سلول هم وارد می‌شوند. بنابراین، هر چند این احتمال که یک سلول تحت شرایط خاصی وارد PCD شود تحت کنترل ژنتیکی است اما چنین نیست که PCD وابسته به فعال شدن ژن‌های کشنده ویژه‌ای باشد و تاکنون نیز چنین ژن‌هایی شناسایی نشده‌اند. بلکه ژن‌هایی شناسایی شده‌اند که هم در اعمال حیاتی سلول مانند تنظیم چرخه سلولی و متابولیسم حد واسط و هم در PCD نقش دارند (۸).

ب ـ نظریه اختلال در چرخه سلولی و تقسیم میتوز

فرآیندهای میتوز و PCD در چند ویژگی مانند تغییرات اسکلت سلولی، گرد شدن سلول، شکافت غشای هسته و تراکم کروماتین، مشابه هم هستند. این مشاهبت موجب شده که شماری از پژوهشگران PCD را نوعی چرخه سلولی غیر عادی یا پیش رس در نظر گیرند که در آن برخی از مولکول‌هایی مانند P53 و C-myc هم که در تنظیم چرخه نقش دارند وارد می‌شوند. البته در شماری از سلول‌ها، مشاهدات مخالف این نظریه نیز گزارش شده است. به طور خلاصه می‌توان گفت که اگر چه در برخی سیستم‌ها PCD و چرخه سلولی در تعدادی از مسیرهای کنترلی خود مشترک می‌باشند، اما نباید هر نوعی از PCD را نتیجه نوعی اختلال در میتوز به حساب آورد (۸).

۲ ـ اهمیت مرگ برنامه ریزی شده در خلال توسعه و تکوین

شواهد فراوان نشان می‌دهد که برنامه مرگ در بین تمام موجودات زنده از نماتود c.elegans گرفته تا پستانداران مشترک است و از نظر تکامل زیستی کاملاً ابقا و حفاظت شده و مسیرهای ژنتیکی آن از یوکاریوت‌های تک سلولی تا ارگانیسم‌های چند سلولی مشابه است. بنابراین، تمام انواع مرگ سلولی که به طور طبیعی در خلال تکوین و بلوغ جانوران رخ می‌دهد از یک برنامه حفاظت شده پیروی می‌کند. طی رشد و نمو حیوانات، فرآیند PCD کمتر مطالعه شده است که یکی از دلایل احتمالی آن تجزیه سلول در حال PCD در مدت چند دقیقه و حداکثر یک ساعت است (۱۰ و ۹).

در خلال رشد و نمو و تکوین جانوران PCD نقش‌های مهمی دارد که از آن جمله پنج مورد زیر شایان تاکید است (۱۰ و ۹):

الف ـ شکل دادن به ساختارهای بدن مانند شکل‌گیری انگشتان در برخی از مهره‌داران پیشرفته، ایجاد رگها، لوله‌ها، لوله عصبی و عدسی چشم. اگر چه لزوم مشارکت PCD در ایجاد این ساختارها هنوز ثابت نشده است، اهمیت آن غیر قابل انکار است.

ب ـ حذف ساختارهای ناخواسته مانند اندام‌های تحلیل رفته‌ای که در گونه‌های اجدادی مورد نیاز بوده‌اند، اما در حال حاضر مورد نیاز نیستند، اندام‌هایی که تنها در زمانی خاص طی رشد و نمو لازم می‌باشند و اندام‌هایی که تنها در یک جنس (مذکر یا مونث) مورد نیاز هستند. از نمونه این حذف‌ها می‌توان حذف لوله پرونفروس در پستانداران و حذف مجرای مولر (mullerian duct) در جنس نرو مجرای ولف (wolffian duct) را در جنس ماده نام برد.

ج ـ کنترل تعداد سلول در اندام‌هایی که سلول‌ها بیش از حد تولید می‌شوند. مانند حذف بیش از نیمی از نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها در دستگاه عصبی مهره داران به دلیل ناتوانی در عصب دهی و بافت هدف و محرومیت از عامل رشد آزاد گردیده از آن.

د ـ حذف سلول‌های مضر، بیکار و غیر طبیعی. نمونه برجسته این عملکرد در دستگاه ایمنی دیده می‌شود که در آن لنفوسیت‌های B و T که نتواند گیرنده‌های ویژه پادگنی (antigen) مفید تولید کنند و یا گیرنده‌هایی را تولید کنند که با سلول‌های خودی واکنش دهند، توسط PCD برداشته می‌شوند. برآورد می‌گردد که بر اساس این شیوه حدود ۹۵٪ از سلول‌های T طی دوران بلوغ در تیموس حذف می‌شوند. نمونه دیگر زمانی است که آسیبی جدی به سلول وارد می‌گردد. در این حال، سلول برنامه PCD را فعال کرده و خود را می‌کشد. به طور نمونه اگر DNAی سلول آسیب جدی ببیند، برنامه مرگ از چندین راه که یکی از آنها پروتئین P53 است فعال می‌شود. این پاسخ علاوه بر مقابله با سرطان از تولد نوزادان معیوب نیز جلوگیری می‌کند. به طور مشخص، اگر به موش‌های حامله پرتوتابانده شود، بسیاری از جنین‌ها می‌میرند.

در صورتی که اگر جنین $P53^{-/-}$ باشد، نمی‌میرد بلکه با ناهنجاری به دنیا می‌آید.

هـ-تولید سلول‌های تمایز یافته بدون اندامک مانند کراتینوسیت پوست، اپی تلیال عدسی و گلبول قرمز پستانداران نیز از مواردی است که به نظر می‌رسد در آن PCD نقش دارد.

۳-آپوتوز در سلامتی و بیماری

علاوه بر نقش مهمی که آپوتوز در خلال رشد و نمو دارد، در دوران پس از تولد و بلوغ نیز نقش مهمی در دستگاه‌های متفاوت بدن ایفا می‌کند. کنترل تعداد سلول‌های بافت و هموستازی (homeostasis) به نحوی که میزان تولید سلول با میزان مرگ و میر آن، رابطه کنترل شده‌ای داشته باشد بر عهده آپوتوز و میتوز می‌باشد. اگر میزان آپوتوز کاهش یابد، بافت دچار هیپرپلازی (hyperplasia) شده و سرطان ایجاد می‌گردد. هم‌چنین اگر سلول‌های T خود واکنش گر (self reactive) دستگاه ایمنی توسط آپوتوزازبین نروند، بیماری خودایمنی (Autoimmune) شکل می‌گیرد.

به‌عنوان مثال یکی از علل این بیماری، جهش در ژن پروتئین fas است که در روند حذف لنفوسیت‌های T خود واکنش‌گر در تیموس اختلال ایجاد می‌کند. از طرف دیگر افراط در روند آپوتوز می‌تواند بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی (neurodegenerative) و یا بیماری کمبود ایمنی (immunodeficiency) شکل دهد (۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰).

مطالعات فراوان نشان داده است که اختلال در PCD، یک عامل بالقوه ایجاد کننده و یا میانجی در آسیب‌شناسی دستگاه عصبی می‌باشد. مرگ برنامه ریزی شده در محل و یا زمان نامناسب یا کاهش و افزایش آن از حیث کمی، همگی اختلال‌های عصبی ایجاد می‌کنند. آپوتوز را در بیماری‌های کره هانتینگتون (Huntington's chorea)، جنون پیری (Alzheimers disease) و دمانس (dementia) یا زوال عقل وابسته به HIV شناسایی کرده‌اند. در نواحی مختلف مغز بیماران مبتلا به جنون جوانی (Schizophrenia) نیز از دست رفتن نورون‌ها مشاهده شده است. در سایر اختلالات مانند تروما (trauma)، بیماری پارکینسون (Parkinsons disease)، اسکلروز چندگانه (Multiple Sclerosis) و اسکلروز جانبی آمیوتروفیک (Amyotropic lateral sclerosis) نیز اگر چه نقش PCD مورد تردید می‌باشد، اما شواهد قوی از وجود آن در حیوانات گزارش شده است (۱۴ و ۴).

علاوه بر دستگاه عصبی، تحلیل (Atrophy) در موارد زیادی از دیگر بافت‌ها نیز بر عهده آپوتوز می‌باشد. حذف هورمون‌هایی مانند تستوسترون و ACTH (adrenocorticoticotropin) که نقش عامل بقا را برای بافت‌های هدف خود دارند، منجر به مرگ برنامه ریزی شده در آنها (یعنی به ترتیب اپی تلیال پروستات و قشر غده فوق کلیوی) می‌گردد، در حالی که آسیب‌های شدید بافتی سبب نکروز می‌شود، آسیب‌های ملایم مانند ایسکمی یا

افزایش دمای (hyperthermia) ملایم موجب از دست رفتن سلول‌ها توسط آپوتوز می‌گردد.

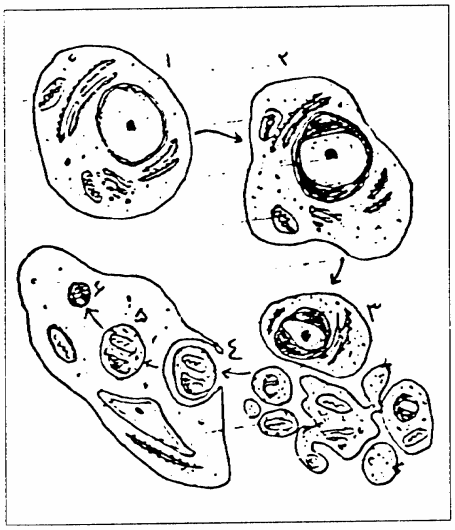
نقش آپوتوز در ایمنی سلولی نیز قابل توجه است. مرگ سلولی که توسط سلول‌های T کشنده سلول‌های K (killer cell) و سلول‌های کشنده طبیعی (Natural Killer) صورت می‌گیرد از طریق آپوتوز می‌باشد. هم چنین آپوتوز در رد پیوند، بیماری پیوند در مقابل میزبان (graft-versus-host)، هپاتیت حاد و مزمن و سایر عفونت‌های ویروسی، سیروز (Cirrhosis) صفراوی ابتدایی و لیکن پلان (lichen planus) یا نوعی بیماری التهابی پوست، هم وارد می‌شود.

در حالات غیر بیماری در بزرگسالان نیز مواردی از حضور آپوتوز مشاهده شده است. به طور نمونه در بافت‌های وابسته به هورمون، کاهش متناوب در سطح هورمون‌های تغذیه‌ای موجب آپوتوز در بافت‌های هدف می‌گردد. به‌عنوان مثال در هر نوبت از قاعدگی، به طور متناوب و به دلیل کاهش در سطح هورمون‌های مربوط، اندومتر رحم و اپی تلیال پستان دچار PCD می‌شوند. هم چنین، در پی از شیر گرفتن نوزاد و در پی کاهش در سطح هورمون پرولاکتین نیز همین حالت رخ می‌دهد (۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰).

شایان ذکر است که کشت بسیاری از سلول‌ها مانند سلول‌های خونساز، لنفوبلاست T و آندوتلیال در شرایط آزمایشگاه (in vitro)، نیاز به افزودن عامل‌های رشد برای هر یک دارد که اگر سلول از آن محروم شود با PCD خواهد مرد (۱۳، ۱۲، ۱۱، ۱۰).

۴ ـ تغییرات ریخت‌شناسی و زیست شیمیایی سلول

در حال حاضر اصلی‌ترین ویژگی قابل قبول برای شناسایی آپوتوز، تغییرات ریخت‌شناسی سلول می‌باشد که به صورت شماتیک در شکل (۲) بیان شده است.



شکل ۲ ـ توالی تغییرات ریخت‌شناسی در آپوتوز

از جمله تغییرات شکل‌شناسی اولیه در یک سلول در حال آپوتوز، متراکم شدن کروماتین و تغییر شکل آن به صورت اجسام هلالی شکل متراکمی است که در مجاور غشای هسته قرار می‌گیرد. همزمان با آن کروماتین محیطی هستک پراکنده شده و به صورت گرانول‌های اسموفیل در وسط هسته جمع می‌شود. رشته‌های پروتئینی درونی آن نیز به شکل اجسام کروی فشرده در

مقابل سطح درونی کروماتین محبوس می‌گردد.

همزمان با تغییرات مورد اشاره در بالا، سلول از سلول‌های مجاور یا سطح محیط کشت جدا شده و دسموزوم‌های آن می‌شکند و ساختارهای تخصصی مانند ریزپرزها (microvilli) ناپدید می‌گردند. علاوه بر این، حجم سلول کاهش یافته و چگالی آن افزایش می‌یابد. اندامک‌ها فشرده شده و تغییر در اندازه و فعالیت سلول آشکار می‌گردد. هسته ممکن است به چند قطعه مجزا تقسیم شود که در آنها جدایی کروماتین مشاهده می‌گردد. سلول‌های دارای سیتوپلاسم فراوان، برآمدگی‌های سطحی وسیعی را شکل می‌دهند و به نحوی که غشای پلاسمایی پاره نشود از هم جدا می‌گردند. به این گرانول‌های از هم جدا شده که حاوی سیتوپلاسم متراکم و اندامک‌های دست نخورده آن می‌باشند اجسام آپوتوزی (Apoptotic body) می‌گویند. این عمل را می‌توان به فرآیند جوانه زدن مخمرها تشبیه کرد.

اغلب اجسام آپوتوزی در شرایط in vivo بلافاصله توسط سلول‌های مجاور خورده می‌شوند و در درون آنها توسط لیزوزوم تجزیه می‌گردند. اگر این اجسام وارد فاگوسیتوز نشوند، پس از حدود یک ساعت متورم شده و غشای آنها پاره می‌گردد، به این فرآیند نکروز ثانویه می‌گویند.

تغییرات سلول در خلال آپوتوز را می‌توان در زیر میکروسکوپ مرحله پادیست (phase contrast) مطالعه و بررسی نمود. کوچکی قطعات و نیمه عمر کوتاه اجسام آپوتوزی و فقدان واکنش التهابی موجب می‌شود که از نظر بافت شناختی (و حتی هنگامی که میزان PCD بالا است) کم پیدا و غیر برجسته باشد. به همین دلیل است که آپوتوز در مقایسه با نکروز کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است (۱۵ و ۱۲).

۱-۴ تغییرات هسته‌ای و قطعه‌شدن مولکول DNA

متراکم شدن کروماتین و شکست غشای هسته از جمله رخدادهایی هستند که در آپوتوز رخ می‌دهند اما مکانیسم آنها ناشناخته است و ظاهراً ضروری هم نیستند. همین وقایع در خلال میتوز از طریق محلول شدن لامین هسته‌ای و پس از فسفریلاسیون آن توسط کینازهای $P34^{cdc2}$ صورت می‌پذیرد. لامین‌ها بخشی از فیلامنت‌های حد واسطی هستند که با بخش داخلی غشای هسته‌ای در تماس می‌باشند. نقش آنها ایجاد اسکلت هسته‌ای و فراهم آوردن چارچوبی برای اتصال کروماتین به غشای هسته است. از هم گسیختگی لامین در آپوتوز بر خلاف میتوز با پروتئولیزونه فسفریلاسیون می‌باشد و به ظاهر غیر قابل برگشت است. یکی از این لامین‌ها، لامین B که توسط پروتئاز Lamp تجزیه می‌شود. لامین B به محل‌های ویژه‌ای در رشته DNA که به آن نواحی اتصال ماتریکس (matrix attachment region) یا MAR می‌گویند وصل می‌شود و بر هم کنش کروماتین با ماتریکس هسته‌ای را تسهیل می‌کند. نواحی MAR به طور منظم هر ۵۰-۲۰ کیلو باز در کروماتین تکرار می‌شوند. پس از تجزیه لامین،

نواحی MAR آزاد شده واندونوکلئازها به آن دسترسی می‌یابند. بنابراین، قطعات بزرگ DNA ایجاد می‌شود. این قطعات را می‌توان باژل الکتروفورز PFGE (Pulse field gel electrophorosis) مطالعه کرد. پس از آن DNA در فواصل بین نوکلئوزوم‌ها یعنی ۲۰۰ - ۱۸۰ جفت باز شکسته می‌شود. این قطعات را که طول آنها مضربی از طول یک نوکلئوزوم است می‌توان به صورت یک نردبان (laddar) روی ژل الکتروفورزآگاروز مشاهده کرد. از جمله آنزیم‌های که به نظر می‌رسد در تجزیه DNA نقش دارند می‌توان توپوایزومراز Nuc-1, Nuc18, DNAsel, DNAsell CAD را نام برد.

با روش فلوسیتومتری (flow cytometry) نیز می‌توان تغییر در میزان و اندازه DNA را بررسی کرد (۱۲،۱۵،۱۶،۱۷).

بحث در مورد تغییرات هسته‌ای را در همین جا پایان می‌دهیم. علاقه‌مندان می‌توانند به منابع معرفی شده مراجعه کنند.

۲ - ۴ تغییرات سیتوپلاسمی

از جمله برجسته‌ترین ویژگی‌های ریخت‌شناسی آپوتوز، قطعه قطعه شدن سلول به اجسام آپوتوزی است. نوآرایی شبکه میکروفیلامنت سلول در اوایل این فرآیند رخ می‌دهد. عوامل تخریب کننده میکروتوبول مانند کلشی سین (Colchicine)، وین بلاستین (Vinblastine) و مانند آن می‌توانند آپوتوز را القا کنند. بنابراین، تخریب شبکه میکروتوبول احتمالاً از حوادث اولیه آپوتوز می‌باشد.

ترانس گلوتامیناز نوع II یا نوع بافتی در اوایل آپوتوز دچار افزایش بیان می‌شود. با افزایش غلظت Ca^{2+} این آنزیم پیوندهای عرضی را در پروتئین‌های درون سلول ایجاد کرده و موجب تثبیت سیتوپلاسم و جلوگیری از تراوش عناصر سلولی به بیرون و ایجاد پاسخ التهابی می‌شود (۱۵ و ۱۲).

۳ - ۴ تغییرات غشای سلول

غشای سلول تغییرات وسیعی را در آپوتوز از سر می‌گذراند. جدایی سلول از سلول‌های مجاور و سوبسترا در شرایط in vivo و جدایی از ماتریکس خارج سلول در شرایط in vivo از دست دادن ساختارهای تخصصی مانند ریزپرزها، ارایه نشانگرهای خاص روی سطح سلول برای تسهیل امر شناسایی و فاگوسیتوز اجسام آپوتوزی و به تبع آن جلوگیری از تراوش اجزای سلول به بیرون، از جمله تغییراتی است که غشای سلول متحمل می‌شود.

در صورت وجود ماکروفاژهای حرفه‌ای، این سلول‌ها وظیفه حذف سریع اجسام آپوتوزی را به عهده می‌گیرند و در بافت‌هایی مانند اپی‌تلیال که دارای ماکروفاژ نیستند، این امر بر عهده سلول‌های مجاور گذاشته می‌شود که نقش فاگوسیت‌های نیمه حرفه‌ای یا آماتور را بازی می‌کنند. از جمله علایمی که روی سطح سلول ارایه می‌شود تا فاگوسیت‌ها راحت‌تر آن را شناسایی کنند می‌توان CD36، ترومبوسپوندین (thrombospondin)، وجود فسفاتیدیل کولین در سطح خارجی غشا و از دست دادن باقیمانده‌های

سیالیک انتهایی از زنجیره قندی گلیکوپروتیئن‌ها را نام برد (۱۵، ۱۲).

۵ـ تنظیم مولکولی آپوتوز

موضوع تنظیم مرگ برنامه ریزی شده از جالب‌ترین، هیجان انگیزترین و مهم‌ترین مباحثی است که کار زیادی روی آن انجام گرفته و تعداد بالایی از مقاله‌های منتشر شده در این زمینه را به خود اختصاص داده است. با این وجود، تنظیم مولکولی آپوتوز هنوز در گستره نسبتاً وسیعی ناشناخته باقی مانده است. آنچه که از مجموع پژوهش‌های انجام گرفته می‌توان استنباط کرد این است که برای آپوتوز تنها یک مسیر ثابت و بدون تغییر وجود ندارد، بلکه سلول از راه‌ها و مسیرهای متفاوتی می‌تواند در انتها به سمت PCD رهنمون شود و خانواده‌های ژنی و پروتئینی متفاوتی در کنترل آن نقش دارند، که برای پرهیز از طولانی شدن مطلب، در ادامه و پس از اشاره به عوامل القا کننده آپوتوز، برخی از مهم‌ترین آنها به اختصار مورد بررسی قرار می‌گیرد (شکل ۳).

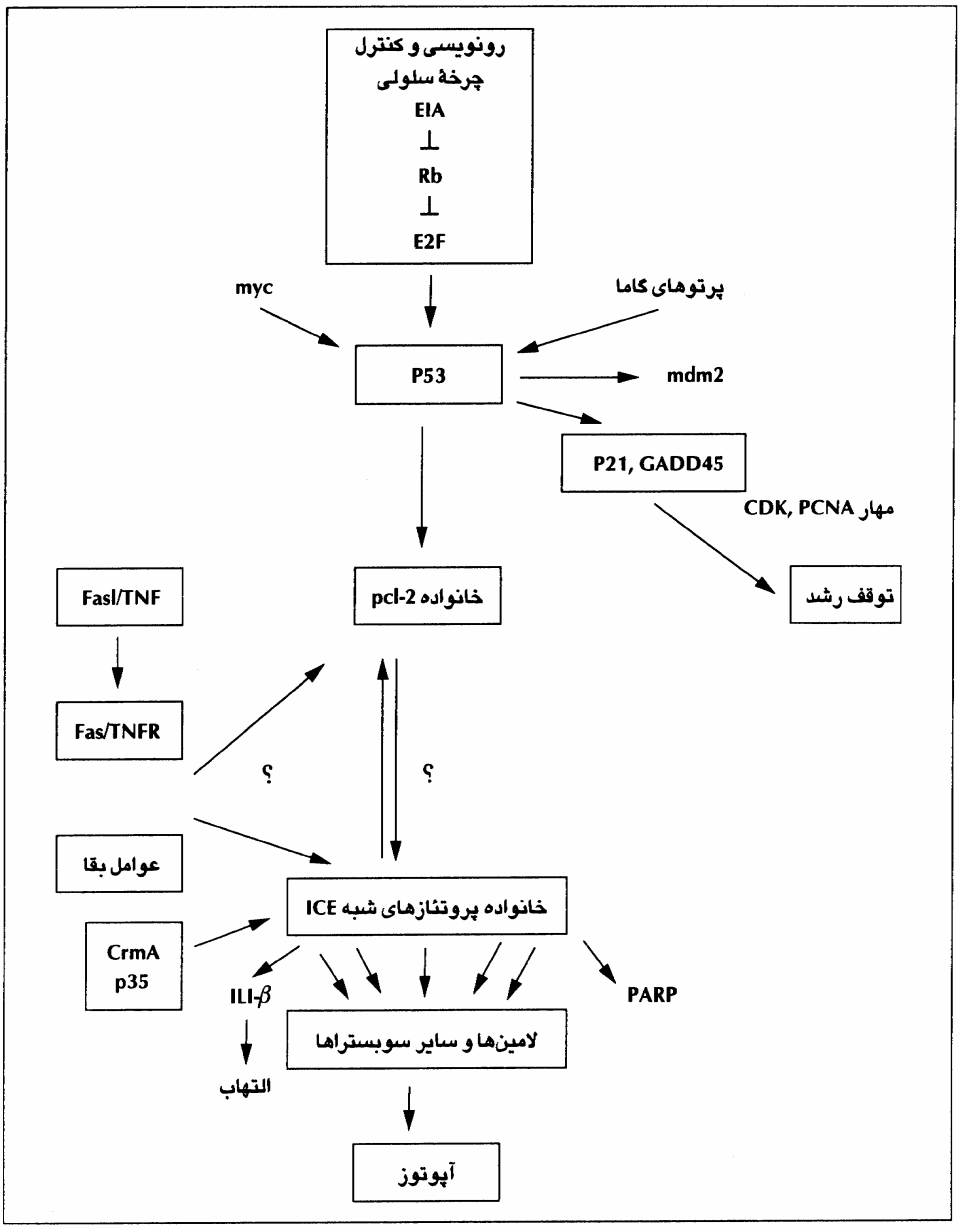
۱ـ۵ عوامل القاکننده آپوتوز

عوامل مجزای فراوانی شامل ویروس‌ها، سموم، داروهای ضدسرطان، گلوکوکورتیکوییدها، پرتوها، حذف عامل رشد، اکسیژن فعال، عامل مرگ تومور (TNF) و عامل رشد ترا ریخت کننده B1 (Transforming growth factor B1 = TGFB1) می‌توانند در انواع گوناگونی از سلول‌ها آپوتوز را القا کنند. البته مکانیسم مولکولی بر هم کنش آنها با سلول هدف و چگونگی اجرای آپوتوز هنوز مشخص نشده است. اگر چه آسیب رساندن به DNA توسط شماری از این مواد ممکن است تا چند روز یا چند ماه طول بکشد، اجرای آپوتوز توسط مولکول‌های اثر کننده سریع است و در طی چند دقیقه یا چند ساعت انجام می‌گیرد (۱۲).

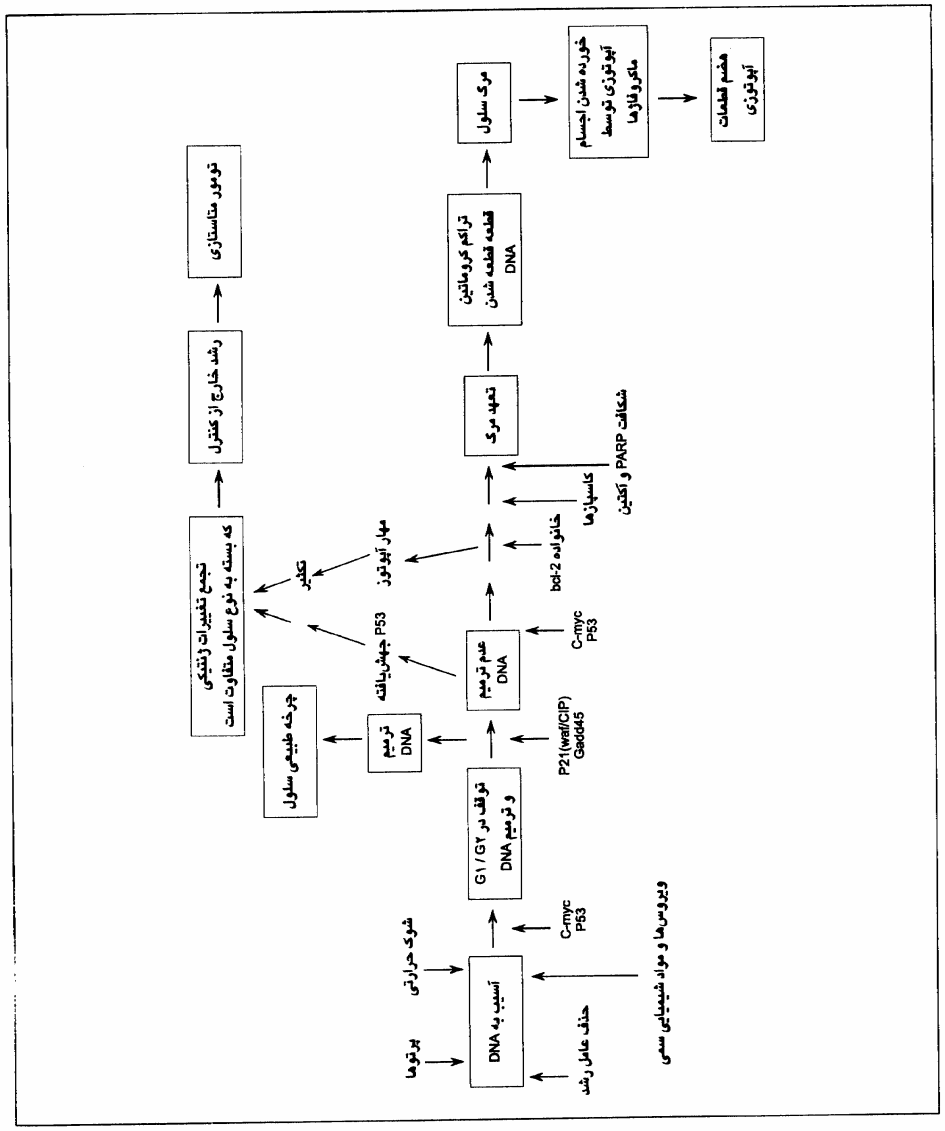
در شکل ۴ بر اساس آسیب به DNA به‌عنوان اولین مرحله، الگویی برای آپوتوز ترسیم شده است.

اگر چه آسیب وارده به DNA ممکن است پاسخ مرگ را آغاز کند، به تنهایی برای ایجاد آپوتوز کافی نیست و اجزای دیگر مسیر، نقشی تعیین کننده دارند. نقص در این مسیر می‌تواند به شکل‌گیری تومور منجر شود، زیرا سلول‌هایی که از نظر ژنتیکی تغییر یافته و قدرت رشد زیادی کسب کرده باشند، به طور طبیعی حذف می‌گردند. در این باره در جای خود بحث خواهد شد (۱۲).

بسیاری از عوامل، تنها موجب فعال شدن مسیر مرگ سلولی می‌گردند و خود بخشی از مسیر پیام رسانی یا اجرای آن محسوب نمی‌شوند. برخی از داروها برای فعال کردن مسیرهای پیام رسانی از گیرنده‌های سطحی استفاده می‌کنند و یا پیام‌هایی را منتشر یا فعال می‌کنند که به یک مسیر مشترک برای آپوتوز منجر می‌گردند. البته پاسخ به یک محرک بیرونی می‌تواند در بین انواع سلول‌های متفاوت یک بافت فرق کند و یا نوع پاسخ به کمیت محرک بستگی



شکل ۳ ـ تنظیم آپوتوز (برای جزییات بیشتر به متن مراجعه شود).



شکل ۴ - رخدادهای پس از آسیب DNA در سلول پستاندار که به آپوتوز یا شکل‌گیری تومور منجر می‌شوند.

داشته باشد. به‌عنوان نمونه مقادیر پایین عوامل شیمی درمانی موجب مرگ سلول‌های توموری از طریق آپوتوز می‌شود، در حالی که میزان بالای آنها از مسیر دیگری منجر به تخریب سلول می‌گردد. هم چنین، بسته به دامنه آسیب، ترمیم می‌تواند از فعال شدن مرگ سلول جلوگیری کند. بنابراین برای استفاده بهینه از عوامل درمانی باید هدف‌های مستقیم و بلافصل آنها را شناسایی کرده و رخدادهایی را که موجب می‌گردند به دقت مطالعه کرد (۱۲).

بسیاری از ویروس‌ها از جمله آنفلوانزا ویروس sindbis مرگ سلولی را به راه می‌اندازد، در حالی که شماری از آنها عوامل ضد مرگ را تولید می‌کنند مانند crmA که مهارکننده قوی خانواده کاسپازها (ICE) است و توسط ویروس آبله گاوی ایجاد می‌شود. ویروس Epstein-barr نیز ژن‌هایی دارد که با سد کردن p53 یا اثری مشابه bcl-2 می‌تواند آپوتوز را مهار کند.

در برخی شرایط، در حالی که یک مسیر آپوتوز توسط ویروس مهار می‌شود، مسیرهای دیگری فعال می‌گردد. به عبارت دیگر بافت‌ها مسیرهای مورد اعتمادی دارند و از مولکول‌های اثر کننده متفاوتی استفاده می‌کنند تا خود را در برابر عفونت‌های خارجی حفظ کنند، هر چند که مسیر عادی آپوتوز توسط خود عامل مهار شود. به علاوه ممکن است ژن‌های ثانویه‌ای داشته باشند که توسط عفونت فعال می‌گردند. القای آپوتوز در سلول آلوده، سرانجام میزبان را محافظت می‌کند، زیرا با شکافت DNAهای سلولی و ویروسی، DNAی بیگانه به طور کلی حذف می‌شود (۱۲).

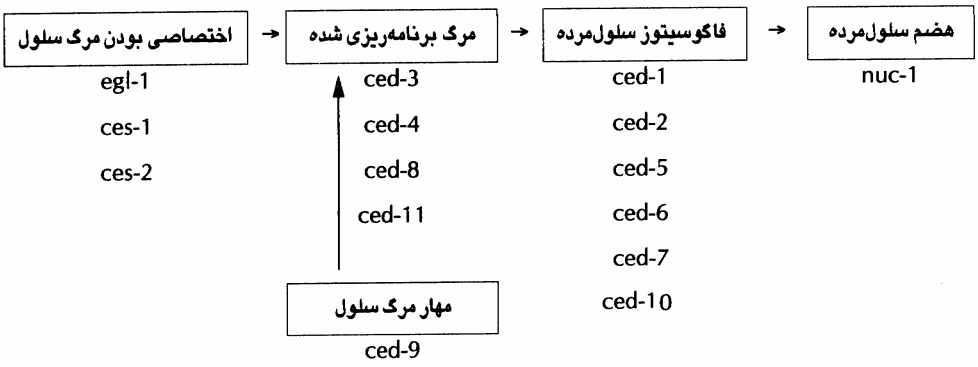
۲ ـ ۵ نماتود c.elegans، الگویی مناسب برای مطالعه مرگ فعال سلولی

نماتود Caenorhabditis. elegans نمونه بسیار ارزشمندی برای تجزیه و تحلیل زیست‌شناسی سلولی و مولکولی در جانوران پر سلولی می‌باشد. مراحل تکوینی جنینی این نماتود به طور دقیق نقشه‌برداری شده است. در نماتود هرمافرودیت بالغ در نهایت ۱۰۹۰ سلول سوماتیک (somatic) شکل می‌گیرند که از آن میان ۱۳۱ عدد دستخوش مرگ برنامه ریزی گردیده می‌شوند. مرگ این سلول‌ها مانند تقسیم و تمایزی که در خلال تکوین رخ می‌دهد، قابل پیش بینی است. از آنجا که مرگ سلول در حیوان زنده را می‌توان زیر میکروسکوپ Nomarsiki مشاهده کرد، بررسی آن اطلاعات ارزشمندی ارایه می‌دهد. این مرگ برنامه ریزی شده شباهت‌های متعددی با آپوتوز سلول‌های پستاندار داشته و از نظر ژنتیکی نیز با آن ارتباط دارد (۱۵).

نماتودهای جهش یافته‌ای شناسایی شده‌اند که در بخش‌های مختلف فرآیند مرگ سلولی نقص دارند، این جهش یافته‌ها پژوهشگران را در شناسایی یک مسیر ژنتیکی برای مرگ سلولی یاری داده‌اند (شکل ۵).

ژنهای شناسایی شده را به چند گروه تقسیم می‌کنند: ژنهای درگیر در راه‌اندازی مرگ یا ژنهای اختصاصی بودن که مقرر می‌دارند کدام

بازآموزی



شکل ۵ ـ ژنهای درگیر در مراحل مختلف مرگ سلولی برنامه ریزی شده در خلال تکوین نماتود C.elegan

رده‌های سلولی باید بمیرند، ژنهای درگیر در خود فرآیند مرگ، ژنهای مورد نیاز برای خورده شدن سلول مرده و سرانجام ژنهایی که در حذف لاشه‌های سلولی وارد می‌شوند. این یافته‌ها چارچوب مفیدی برای پژوهش روی مکانیسم‌های مولکولی آپوتوز در پستانداران فراهم می‌کند. اگر چه در پستانداران این فرآیند به مراتب پیچیده‌تر بوده و ژنهای بیشتری در آن وارد می‌شوند.

شایان ذکر است که تعدادی از ژنهای دخیل در مرگ سلولی نماتود c.elegan کلون شده و ردیف بازی آنها نیز تعیین گردیده است که از آن جمله می‌توان به ژن ced-9 همساخت خانواده ژنی bcl-2 و ژن ced-3 همساخت خانواده آنزیمی ICE اشاره کرد (در مورد این دو خانواده بعداً توضیح کامل داده شده است). البته برای برخی از این ژنها مانند ced-4 تاکنون معادلی در پستانداران شناخته نشده است و همچنین این نماتود هیچ معادلی برای ژن reaper که نقش مهمی در مرگ برنامه ریزی شده در مگس سرکه (Dreosophila Melanogaster) ایفا می‌کند، ندارد. از این رو، الگوی c.elegans برای مرگ سلولی، الگوی کاملی نیست (۱۵).

۳ـ۵ـ پیام رسانی در آپوتوز

یک سلول زمانی وارد آپوتوز می‌شود که اطلاعاتی را از محیط اطرافش گرفته و آنها را به صورت اطلاعات درونی تفسیر نماید. اطلاعات خارجی که جز همان عوامل القا کننده می‌باشند، شکلهای متفاوتی دارند مانند ظهور یا ناپدید شدن هورمونها و سیتوکین‌ها (cytokines) و یا تغییر در برهم کنش‌های مستقیم درون سلولی.

از آنجا که یک محرک ویژه (خارجی) تنها بخشی از اطلاعاتی است که روی تصمیم برخودکشی یا بقا تاثیر می‌گذارد، به طور معمول چنین محرکهایی روی کنترل آپوتوز اثر انحصاری ندارند. همچنین، پیامهای درون

سلولی که القا کننده آپوتوز می‌باشند، اغلب در موارد دیگری تکثیر و یا تمایز سلولی را تحریک می‌کنند، اگرچه در شماری از سلولها برخی از مسیرهای پیام رسانی مانند مسیر fas از اهمیت ویژه‌ای در کنترل آپوتوز برخوردار است (۱۵).

مولکولهای کلیدی که هم در آپوتوز و هم در تکثیر دخالت دارند به طور مکرر دیده می‌شود. از جمله این مولکولها می‌توان پروتئین کیناز C، سرآمید (ceramide) C-myc، p^{53} را نام برد. این پدیده نشان دهنده آن است که مسیرهای پیام رسانی برای کنترل پاسخ‌های مختلف در سلولها و در شرایط متفاوت، سازگاری پیدا کرده‌اند.

مکانیسم‌های با واسطه گیرنده سطح سلول که آپوتوز را کنترل می‌نمایند، اغلب توسط یک سیستم انتقال پیام شامل تحریک گیرنده، فعال شدن آبشارهای پروتئین کیناز / فسفاتاز و آزادسازی پیامبرهای ثانویه برای افزایش یا مهار رونویسی از ژن‌های خاص عمل می‌کند. جالب توجه است که مسیرهای پیام رسانی می‌توانند با هم برخورد داشته باشند. بنابراین پاسخ سلول به یک محرک را به میزان زیادی تغییر دهند. به این پدید تقاطع (crosstalk) می‌گویند. اگر چه تعداد پیام‌های خارجی که آپوتوز را کنترل می‌کنند زیاد است، اما مسیرهای پیام رسانی تنها در حد یک یا چند مورد است و تمام پیام‌ها به این چند مسیر منتهی می‌شود. به‌عنوان مثال طیف وسیع سیستم‌های آپوتوز به محصول ژن‌های خانواده bcl-2 منتهی می‌شود (۱۵).

۱-۳-۵-FAS(APO-1, CD95)

سیتوکین‌ها، پروتئین‌هایی هستند که با اتصال به گیرنده اختصاصی خود که روی سلول هدف قرار دارد تکثیر و تمایز آن را کنترل می‌کنند. این پروتیئن‌ها را دست کم به سه زیر خانواده تقسیم می‌کنند که یکی از آنها زیر خانواده عامل نکروز تومور (TNF) با دو عضو مشهور TNF و fasl می‌باشد. گیرنده این پروتئین‌ها جزء خانواده (tumoar necrosis factor receptor TNFR) می‌باشد که توجه ویژه‌ای روی نقش آن در مرگ سلول شده است.

TNF می‌تواند آپوتوز را القا و هم‌چنین عامل رونویسی NF-KB را فعال کند. البته گیرنده آن در هر مورد فرق می‌کند. احتمالاً پس از اتصال TNF و fasl به گیرنده، این مولکول شکل سه تایی (trtimer) پیدا می‌کند و از طریق این شکل پیام انتقال می‌یابد. مطالعات نشان داده که این مولکول‌ها می‌توانند حتی در حضور مهارکننده‌های سنتزپروتئین یا RNA، آپوتوز را القا کنند و این رخداد به آن معنی است که تمام ماشین لازم برای انتقال پیام در سلول حضور دارد و fas تنها آن را فعال می‌کند (۲۰، ۱۹، ۱۸).

مطالعات اولیه روی ساختمان fas و پروتئین‌های مشابه مانند TNFR1 نشان داده است که این مولکول‌ها دارای قلمرو (domain) سیتوپلاسمی هستند که حاوی ۷۰-۶۰ اسید آمینه است و در القای آپوتوز نقش محوری دارد. به این قلمرو که هم ساخت (homologue)

پروتئین reaper (از اجزای ماشین مرگ سلول در مگس سرکه) نیز می‌باشد، قلمرو مرگ (death domain) نام داده‌اند. از این رو حدس زده می‌شود که پروتئین‌های این خانواده در خلال تکامل زیستی، پس از الحاق اگزون‌های رمزکننده مرگ مربوط به reaper با ژن‌های رمز کننده یک گیرنده سطحی ایجاد شده‌اند و پروتئین دورگه حاصله، توانایی القای آپوتوز را در پاسخ به محرک‌های خارجی دارا شده است (۱۹ و ۱۸).

پروتئین‌های درون سلولی که با fas بر هم کنش دارند نیز اغلب دارای قلمرو مرگ می‌باشند. از جمله این پروتئین‌ها می‌توان FADD، TRADD، RAIDD و RIP را نام برد که همگی در انتقال پیام مشارکت دارند. در نهایت این مسیر موجب فعال شدن اعضایی از خانواده ICE مانند کاسپاز ۸ می‌گردند (۲۱، ۱۹، ۱۸).

fas به طور وسیعی در بافت‌های گوناگون بیان می‌شود و بیشترین سطح بیان آن در تیموس، کبد، قلب و کلیه می‌باشد. از طرف دیگر، بیان fasl محدود به لنفوسیت‌های T فعال شده، سلول‌های کشنده طبیعی و بافت‌هایی مانند بیضه و چشم است که به نام محل‌های مصونیت ایمنی (immune privilege) شناخته می‌شوند (۱۸).

لنفوسیت‌های T که مسئول برداشت سلول‌های عفونی شده با ویروس و نیز سلول‌های سرطانی می‌باشند، در مراحل مختلف رشد و نمو می‌میرند. اغلب سلول‌های T نابالغ یا به جهت نوآرایی نادرست گیرنده آنها فایده‌ای ندارند یا این‌که گیرنده آنها با پادگن‌های خودی بر هم کنش نشان می‌دهد و از این رو مضر محسوب می‌شوند و باید حذف گردند. بیش از ۹۵٪ از سلول‌های T که به تیموس مهاجرت می‌کنند، حذف می‌گردند. در خون محیطی نیز سلول‌های T بالغ که پادگن‌های خودی را تشخیص می‌دهند حذف می‌شوند. در تمام این مراحل، fas اگرچه تنها مولکول موثر نیست. دارای نقش می‌باشد (۱۸).

علاوه بر این، fas در تنظیم سلول‌های B نیز دخالت می‌کند. احتمالاً حذف سلول‌های B که پادتن بر ضد DNAی تک رشته‌ای و دو رشته‌ای تولید می‌کنند بر عهده fas می‌باشد. در کودکانی که در ژن fas نقص دارند، سلول‌های T نمی‌میرند و فنوتیپ سندرم تکثیر لنفوسیت خودایمنی (Autoimmune lymphoproliferative syndrome) یا ALPS را از خود نشان می‌دهند. علایم این سندرم شامل لنفادنوپاتی (lymph adenopathy)، بزرگ شدن طحال (Splenomegaly)، افزایش گلوبولین‌های گاما (Gamma globulinemia) می‌باشد. برخی از بیماران، نیز به بیماری‌های خودایمنی مانند کم خونی همولیتیک (haemolytic anemia)، کاهش تعداد پلاکت‌ها در خون (Thrombocytopenia) و کاهش تعداد گلبول‌های سفید خون (neutropenia) مبتلا می‌شوند. این پدیده ناشی از تولید پادتن ضد خودی بر علیه پلاکت‌ها و گلبول‌های قرمز خون می‌باشد. جهش در ژن fas تنها به صورت ناخالص (heterozygous) دیده می‌شود (۱۸).

با آشنایی از رابطه بین fasl و fas مکانیسم اثر آنها می‌توان ایده کاربردی گرفت. به‌عنوان مثال می‌توان از fasl به‌عنوان داروی پایین آورنده پاسخ ایمنی در پیوند اعضا استفاده کرد. آزمایش‌ها نشان می‌دهد که اگر جزایر لانگرهانس را به همراه میوبلاستمی که fasl را بیان می‌کند، پیوند زده شود، از حمله میزبان در امان می‌ماند. هم چنین اخیراً بیان گردیده است که یکی از علل مقاوم شدن تومورها در برابر آپوتوزبیان fasl در آنها است. در این حال مولکول fasl به گیرنده خود یعنی fas روی سطح سلول‌های کشنده طبیعی و لنفوسیت‌های T کشنده متصل شده و در آنها مسیر آپوتوز را به جریان می‌اندازد (۱۸).

۲-۳-۵-پروتئین تیروزین کینازها

پروتئین تیروزین کیناز (protein tyosin kinise) در انتقال بسیاری از پیام‌ها از گیرنده سطح سلول به هسته نقش مهمی دارند. این پروتئین‌ها ممکن است که نقش گیرنده را هم دارا باشند، در غیر این صورت گیرنده، پس از اتصال لیگاند به آن، الیگومریزه شده و مانند گیرنده‌های اینترفرون‌ها و عامل‌های رشد خونساز در بخش درون سلولی خود PTKها را به کار گرفته و فعال می‌کند و سپس آبشار پیام رسانی فسفریلاسیون فعال می‌گردد. از جمله PTKهایی که در این آبشار وارد می‌شوند می‌توان خانواده‌های src و ganus را نام برد که دومی در تعدادی از مسیرهای پیام رسانی سیتوکین مانند اینترفرون‌ها، اینترلوکین ـ ۳، عامل بازدارنده لوسمی، GM - CSF (Granulocyte-macrophage colony stimulating factor) که آپوتوز را کنترل می‌کنند وارد می‌شود. شواهد تجربی که دخالت PTKها را در مسیرهای کنترل کننده، آپوتوز نشان می‌دهند رو به افزایش است. مانند فعال شدن PTK در پاسخ به پرتوهای یونیزان و یا لزوم نوعی تیروزین کیناز برای تحریک آپوتوز از طریق گیرنده سلول T. لازم به ذکر است که سایر کینازها مانند سرین ـ ترئونین کینازها نیز در آپوتوز وارد می‌شوند (۱۵، ۱۲).

۳-۳-۵-مسیر پیام رسانی Ras

Ras عضو ابر خانواده GTPase با بیش از پنجاه عضو است که به شکل کلید تحت تنظیم GTP/GDP عمل می‌کنند. این خانواده در فعالیت‌های سلولی مانند تکثیر، تمایز، حمل و نقل درون سلولی و سازمان دهی اسکلت سلولی نقش دارند. شواهد نشان می‌دهد که آبشار کیناز Ras/Raf/MAP در جلوگیری از آپوتوز نقش دارد و این ممانعت اغلب در رابطه با تنظیم پروتئین Bcl-2 می‌باشد. Ras می‌تواند از آپوتوز ناشی از حذف عامل رشد در سلول‌های خونساز جلوگیری کند. Ras بیان ژن BCL-XL را نیز القا می‌کند، اما روی ژن Bax اثری ندارد و ظاهراً مکانیسم تنظیم BCL-2/BCL-XL با کمک IL-3/GM-CSF صورت می‌پذیرد (۱۵ و ۱۲).

۴-۳-۵-cAMP

cAMP اغلب توسط پروتئین کیناز وابسته به آن عمل می‌کند. عواملی که میزان cAMP را در سلول T افزایش دهند، موجب قطعه قطعه شدن

DNA می‌شوند. البته نمونه‌هایی از مهار آپوتوز توسط cAMP هم وجود دارد. بنابراین افزایش در میزان cAMP، به همراه سایر اجزای ماشین پیام رسانی بسته به نوع سلول می‌تواند اثرات متفاوتی داشته باشد (۱۵ و ۱۲).

۵ـ۳ـ۵ـ رادیکال‌های اکسیژن و تنش‌های اکسیداتیو

گونه‌های اکسیژن فعال یا ROS (Reactive oxygen species) نقش مهمی در آسیب رساندن به سلول بر عهده دارند. سلول نیز در برابر آن مکانیسم‌های دفاعی دارد که از آن جمله می‌توان به مکانیسم‌های آنزیمی مانند سوپراکسیددیسموتاز (superoxide dismutase)، کاتالاز (catalase) و گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase) اشاره کرد. آنتی اکسیدان‌های غشایی مانند ویتامین E، کینون‌ها و کارتنوییدها و آنتی اکسیدان‌های محلول در آب مانند ویتامین C و تیولما نیز از جمله مکانیسم‌های دفاعی سلول می‌باشد.

پژوهشگران دلایل متعددی برای مشارکت ROS در تنظیم یا اجرای PCD ارایه می‌کنند (۱۵، ۱۲، ۸):

۱ـ افزایش ROS یا ممانعت از فعالیت مسیرهای آنتی اکسیدان سبب القای آپوتوز می‌شود.

۲ـ زمانی که سلول به اجرای آپوتوز تحریک می‌شود، آنیون‌های سوپراکسید را به میزان زیادی تولید می‌کند و غشای سلولی هم دچار پراکسیداسیون می‌شود. شایان ذکر است که این فرآیندها را می‌توان با افزایش بیان bcl-2 به حالت اول برگرداند.

۳ـ آنتی اکسیدان‌ها و در برخی موارد، موادی که رادیکال‌های آزاد را جمع می‌کنند می‌توانند PCD را مهار کنند.

لازم به اشاره است که مطالعاتی نیز صورت گرفته است که با نظر بالا سازگار نیست. به‌عنوان مثال مطالعات به عمل آمده در شرایط دارای اکسیژن بسیار پایین نشان داده است که رادیکال‌های اکسیژن برای آپوتوز لازم نیستند. روی هم رفته می‌توان گفت که تعادل بین تولید و خنثی کردن ROS بر مراحل اولیه آپوتوز موثر می‌باشد.

ROS ممکن است هم در القا و هم در اجرای مرحله اثر کننده آپوتوز نقش داشته باشد. بنابراین، تنظیم حالت تعادل مورد اشاره در بالا در تعیین فرآیندهای انتقال اهمیت زیادی دارد. به طور خلاصه باید گفت که ROS تنظیم کننده اختیاری و نه اجباری PCD می‌باشد.

نیتریک اکسید (NO) نیز که حاصل کار پروتئین ژن NOS می‌باشد، در برخی حالات در القای آپوتوز نقش دارد. NO می‌تواند رونویسی وابسته به کلسیم ژن‌ها را در سلول‌های عصبی تشدید کند. به علاوه ممکن است بین مسیر NO و بیان bcl-2 ارتباطی وجود داشته باشد، زیرا افزایش آن در لنفوسیت‌های B از کاهش بیان bcl-2 جلوگیری می‌کند. مکانیسم این اثر احتمالاً از طریق افزایش غلظت cGMP است (۸ و ۴).

علاوه بر موارد پنج گانه بالا، پروتئین کیناز C و کلسیم نیز در پیام رسانی و تنظیم آپوتوز در

بسیاری از سلول‌ها نقش دارند. مطالعات نشان داده است که افزایش غلظت درون سلولی کلسیم و خالی شدن منابع سلولی آن مانند شبکه آندوپلاسمی موجب آپوتوز در سلول‌های عصبی می‌گردد. هم چنین پیرامون اثر سایر یون‌ها مانند K^+ بر مرگ سلولی، پژوهش‌های متعددی در حال انجام است (۱۵، ۱۲، ۴).

منابع:

1. Clark, p.G.E.;.Clark, S.Ninteenth century research on naturally occurring cell death and related phenomena. Anat. Embryol. 193: - 99, 1996.
2. Schwartz, L.M, Smith, S,W. Jones, M.E etal. Do all programmed cell death occur via apoptosis? P.N.A.S USA. 90: 980-984. 1993.
3. White, K, Grether, M.E. Abrams J.M. etal. Genetic Control ofProgrammed Cell death in Deosophila. Science. 264: 677-683, 1994.
4. Leist M, Nicotera. P.Apoptosis, Excitotoxicity and Neuropatholoyy. Exp Cell Res, 239: 183-201, 1998.
5. Leist, M. Singl B.Castold A. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: A switch in the decision between apoptosis and necrosis. J Exp Med. 185: 1481-1486, 1997.
6. Melino, G; Benassolo, F Knight, R.A etal.S.Nitrosylation regulates apoptisis Nature, 388: 432, 433, 1997.
7. Greenbery, J.T. programmed cell death: A way of life for plants, P.N.A.S,.USA, 93: 12094-12097, 1993.
8. Korsmeyer, G; petit, P, Zamzami, P etal. The biochemistry of programmed cell death. FASEB, J.9:1277-1287, 1995.
9. Jacobson, M.D, WeilM. proammed cell dath in animal development, Cell, 88: 347, 1997.
10. Raff, M.C; Social controls on cell Survival and cell death. Nature, 356: 397-400, 1992.
11. Korsmeyer, S.J. regulators of cell death. TIG. 11: 101 - 105, 1995.
12. Saini, K.S, Walker N.I. Biochemical and molocular mechanims regulating apoptosis. Mol Cell Biochem, 179: 9 - 25, 1998.
13. Thompson, C.B.,A poptosis in the pathogenesis and treatment of disease, Science, 267:1456-1462, 1995.
14. Margolis, RL; Chuang D.M, Post R.M.Programmed cell death: Implications for Neuropsychiatric disorders. Biol. Psychiatry. 35: 946-956, 1994.
15. Hale, A.J.Smith.C.suther land, L.C.etal. Apoptosis: molecular regulation of cell death Eur.J.Biochem, 236: 1 - 26, 1996.
16. Enar, M, Sakahiva, H.Vokoyama, H.etal. A caspose-activated DNAse that degraded DNA during apoptosis and its inhibtor CAD, Nature, 391:43-50, 1998.
17. Schulze, O.K, Walczak, H; Drog, W etal. Cell nucleus and DNA fragmentation are not required for apoptosis.J.Cell Biol. 127: 15-20, 1994.
18. Nagata, S.Apoptosis by death Factor. Cell. 88: 355-365-1997.
19. Nagata, S. Golostein, P. The Fas death Factor, Seience, 267: 1449-1456, 1995.
20. Weil, M; Jacobson, M.D. etal. Constitutive expression of the machinery for programmed cell death.j. Cell Biol. 133:1053-1056, 1996.
21. Zamzami, N; Susin, S.A, MarchettiPetal. Mitochondrial control of Nuclear Apoptosis. J.Exp. Med. 183:1533-1544, 1996.