باز آموزی

آپوتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده و رابطه آن با سرطان

«قسمت دوم»

دکتر محمدرضا نوری‌دلویی
گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران
محمدمهدی یعقوبی
کارشناسی ارشد ژنتیک

خلاصه

آپوتوز (apopotosis) یک اصطلاح توصیفی است که برای سلول‌های در حال مرگ برنامه‌ریزی شده، به کار می‌رود و نقش حیاتی در رشد، نمو و هموستازی در یوکاریوت‌های (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 از نظر تکامل زیستی حفاظت شده‌اند. نقش تنظیم کننده آپوتوز را به عهده دارند. این آنزیم‌ها که معمولاً توسط فعالیت خود کاتالیزوری فعال می‌شوند، 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 شده و در کنترل آپوتوز نقش اساسی دارند. اعضای مختلف این خانواده می‌توانند مهارکننده یا تحریک‌کننده آپوتوز باشند و سرنوشت سلول به موازنه نسبی بین اعضای مخالفی بستگی دارد که با ایجاد هموديمر یا هتروديمر 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 سلولی که تحریک‌کننده تکثیر می‌باشند، القاکننده‌های قوی آپوتوز نیز می‌باشند. 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 می‌کنند. 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.

۴-۵-پروتئازها و آپوتوز

آنزیم‌مبدل‌انترلوکین (interlukin-1B-converting enzyme) 1-B انسانی شباهت زیادی با پروتئین ced-3 نماتود c.elegan دارد. این پروتئین که نقش آن شکافت پیشرو انترلوکین IB که ۳۱ kDa وزن دارد و ایجاد شکل فعال آن یا ۱۷/۵ kDa می‌باشد، دارای خانواده‌ای با بیش از ده عضو است.

از آنجا که این پروتئازها در محل فعال خودداری سیستئین هستند و در سوبسترانیز اسید آسپاریک را شناسایی می‌کنند به آنها نام سیستئین آسپارتاز یا به طور مختصر کاسپاز (Caspase) داده‌اند. ژن آنزیم مبدل انترلوکین 1-B که به طور مخفف به آن ICE هم می‌گویند روی کروموزوم 11q22.2-22.3 قرار دارد. این جایگاه در اغلب نوآرایی‌های سرطانی برخی از لوسمی‌ها و لنفوم‌ها درگیر می‌شود. نقص ژنتیکی در این محل بیماری Ataxia telangiectasia را نیز ایجاد می‌کند. بیماری پیشرونده‌ای که تحلیل عصبی، نقص سیستم ایمنی، ناپایداری کروموزومی، حساسیت به پرتوها و افزایش استعداد سرطان (به ویژه لوسمی ولنفوم) از علایم آن است. چنین به نظر می‌رسد که این تغییرات به دلیل عدم توانایی برای کنترل درست آپوتوز باشد. روی این مشاهدات و شباهت ICE با ced-3 حدس زده می‌شود که این پروتئین و اعضای مشابه آن در کنترل PCD در مهره‌داران نقش مهمی داشته باشند.

باید توجه داشت که خاصیت القاکنندگی آپوتوز که در اعضاء خانواده ICE دیده می‌شود، تنها با افزایش بیان آنها در شرایط in vitro گزارش شده است، و در حال حاضر ایفای چنین نقشی در شرایط in vivo توسط این پروتئازها به روشنی معلوم نیست. تنها سوبسترای شناخته شده ICE هم نقشی در آپوتوز ندارد و شاید ICE از طریق سوبستراهای دیگری در کنترل آپوتوز نقش داشته باشد. البته فعال بودن اعضای خانواده ICE در زمان آپوتوز و تحریک آپوتوز، با افزایش بیان آنها، در سیستم‌های مختلف نشان داده شده است. یکی از مهم‌ترین سوبستراهای اعضای این خانواده آنزیم (POIY ADP-ribose-polymerase) PARP می‌باشد. شکافت این پروتئین که در ترمیم DNA و سلامت ژنوم نقش دارد، از وقایع اولیه آپوتوز است و در تمام مرگ‌های برنامه‌ریزی شده دیده می‌شود. PARP تنظیم‌کننده منفی اندونوکلئازهایی است که در شکافت DNA در آپوتوز نقش دارند. بنابراین، ایجاد PARP غیر فعال منجر به فعال شدن آنها می‌گردد(۴،۳،۲،۱).

شایان ذکر است که برخی از پروتئین‌های ویروسی مانند crmA آبله گاوی و p35 با کولوویروس می‌توانند با مهار شماری از اعضای این خانواده از آپوتوز جلوگیری کنند.

علاوه بر خانواده ICE از جمله سایر پروتئازها که در زمان آپوتوز بیان می‌شوند می‌توان کالپاین (calpain)، کاتپسین (cathepsin)B و D، کلاژناز و فعال‌کننده‌های پلاسمینوژن نوع بافتی و نوع اوروکیناز را نام برد.

از جمله سوبستراهای این پروتئازها می‌توان به ترتیب، پروتئین‌های اسکلت سلولی، گیرنده عامل رشد، عوامل رونویسی و آنزیم‌های انتقال‌دهنده پیام، کلاژن، فیبرونکتین، پرتئوگلیکان‌ها، PARP، لامین B، هیستون HI و... را نام برد(۱).

۵ ـ ۵ ـ ژن‌های پستانداران تعدیل‌کننده آپوتوز

در پستانداران و از جمله انسان، تاکنون ۱۶ ژن شناسایی شده‌اند که پروتئین‌های آنها با فرآورده ژن ced-9 نماتود C.elegans که ژن تنظیم‌کننده مرگ سلولی است، شباهت زیادی دارند. حضور اعضای یک خانواده ژنی، که به نام خانواده bcl-2 شناخته می‌شوند، در نماتود و پستانداران، نشانگر حفاظت مکانیسم‌های مرگ سلولی در خلال تکامل زیستی، به همراه افزایش پیچیدگی آن در موجودات پیشرفته است (۱،۲،۴،۵،۶،۷،۸) (جدول ـ ۲).

چندین عدد از این پروتئین‌ها در ویروس‌های پستانداران دیده می‌شوند، مانند پروتئین BHRF1 در ویروس اپیشتین بار و پروتئین HMW5-HL در ویروس تب خوک آفریقایی. احتمال می‌رود که این پروتئین‌ها به همراه سایر اجزای ویروسی از

جدول ۲ ـ اعضا خانواده bcl-2

ژن	عمل
bcl-2	مهار کننده آپوتوز، به bax و bak اتصال می‌یابد.
bcl-x	شکل L مهارکننده و شکل S تسریع کننده آپوتوز، به bax و bak متصل می‌شود.
bcl-w	مهارکننده آپوتوز
bax	تسریع کننده آپوتوز، به bd-2، bcl ـ XI و EIB19k وصل می‌گردد.
bak	تسریع کننده و گاهی مهارکننده آپوتوز، به bcl-2، bcl-x و EIB19K وصل می‌شود.
mcl-1	مهارکننده آپوتوز
AL	با bcl-2 همساختی دارد.
bad	تسریع کننده آپوتوز به bcl-2 و bcl-xl متصل می‌شود.
Nbk bikl	تسریع کننده آپوتوز، به bcl-2، bcl - xl و EIB19k وصل می‌گردد.
bl-1	مهارکننده مرگ سلولی در مخمر ساکارومیس سروزیه
ced-9	مهارکننده مرگ سلولی در نماتود c.elegans همساخت bcl-2
ASFVHMW5	همساخت bcl-2 در ویروس تب خوکی افریقایی
EBVBHRFI	همساخت bcl-2 در ویروس اپیشتین ـ بار، مهارکننده آپوتوز
EIB1QK	مهارکننده آپوتوز در آدنوویروس، به bax و Bak متصل می‌شود.
BLK	تسریع کننده آپوتوز
BIM	تسریع کننده آپوتوز، به bcl-2 اتصال می‌یابد.

اجرای آپوتوز در سلول آلوده جلوگیری می‌کنند تا همانند سازی ویروس بیشتر انجام شود.

مقایسه ردیف اسید آمینه‌ای در اعضای خانواده bcl-2 قلمروهایی را نشان می‌دهد که درون آنها بخش عمده‌ای از اسیدهای آمینه مشابه و حفاظت شده‌اند. این نواحی را به نام BH1، BH2، BH3 و BH4 نامگذاری کرده‌اند و اعتقاد بر این است که اهمیت عملکردی دارند. تنها پروتئین bad فاقد قلمرو BH3 است و قلمرو BH4 نیز تنها در برخی از اعضا که مهارکننده آپوتوز هستند دیده می‌شود. بررسی‌های جهشی این نواحی نشان می‌دهد که تغییر اسید آمینه‌ای در هر یک از آنها می‌تواند توانایی BCL-2 انسانی در مهار آپوتوز را از بین برد. در پایانه کربوکسیلی شماری از اعضا نیز ناحیه‌ای آب گریز با حدود ۱۲۰ اسید آمینه دیده می‌شود که برای تغییرات پس از ترجمه ولنگر انداختن در غشا لازم است (۱،۲،۴،۸).

برخی از اعضای این خانواده مانند bcl-2، bcl-x و bax با پردازش متناوب (Alternative splicing) دو نوع فرآورده را رمزدهی می‌کنند که تعدادی از آنها فاقد ناحیه ویژه لنگر غشایی می‌باشند. از دو نوع فرآورده ژن bcl-x یعنی bcl-xl و bcl-xs، دومی فاقد بیشتر نواحی BH1 و BH2 و تسریع‌کننده آپوتوزاست، در حالی که bcl - xl مهار کننده می‌باشد. به عبارت دیگر چنانچه در جدول ۲ نیز مشاهده می‌شود، اعضای این خانواده هم مهار کننده و هم تحریک کننده آپوتوز می‌باشند (۱).

مهم‌ترین ژن این خانواده که بیشترین تحقیقات را هم به خود اختصاص داده است ژن bcl-2 می‌باشد. این ژن که نام آن مخفف (B cell Lymphoma/leukemia-2) می‌باشد روی کروموزوم 18q21 قرار دارد و در اثر جابه‌جایی (translocation) که بین کروموزوم‌های ۱۸ و ۱۴ رخ می‌دهد، در مجاورت افزایش دهنده (Enhancer) ژن زنجیره سنگین Ig قرار می‌گیرد و در نتیجه بیان آن افزایش یافته و دایمی می‌شود. نتیجه این افزایش بیان، ایجاد سرطان لنفوم فولیکولی انسانی (Follicular lymphoma) می‌باشد. چنانچه بعداً اشاره خواهد شد، دخالت این ژن در سرطان لنفوم فولیکولی نشان می‌دهد که همیشه افزایش تکثیر سلولی، تنها دلیل ایجاد تومور نیست بلکه کاهش مرگ سلولی که به طور طبیعی باید صورت گیرد نیز منجربه نئوپلازی (neoplasy) می‌شود. به عبارت دیگر، به هم خوردن نظم هموستازی و ایجاد نئوپلاسم می‌تواند هم در اثر افزایش تکثیر سلولی و هم در اثر کاهش مرگ سلولی باشد.

bcl-2 نخستین ژنی بود که مظنون به دخالت درآپوتوز شد. در خلال رشد و نمو رویانی اولیه موش bcl-2 به طور وسیعی در همه بافتها بیان می‌شود اما با پیش روی بیشتر، بیان آن محدودتر می‌گردد. در بزرگسالان بیان آن محدود به بافتهایی است که از سلول پایه بازسازی شده و یا توانایی تکثیر و عمر طولانی دارند.

Bcl-2 مانند ced-9 تنظیم کننده مرگ منفی مرگ سلولی است و می‌تواند از مرگ سلولی در

سلولهای متکی به عامل رشد (مانند IL3)، پس از حذف آن، جلوگیری کند.

نقش انکوژنی bcl-2 از توانایی آن به افزایش بقای سلولهایی که داخل چرخه نیستند و مهار مرگ سلولهای داخل چرخه ناشی می‌شود و بنابراین با انکوژنهایی مانند C-myc که تنظیم چرخه سلولی را برهم می‌زنند همکاری کرده و توانایی مستقلی برای القای تکثیر سلولی ندارد (۱،۲،۸).

در رابطه با کنترل bcl-2 و bax توسط p53 ذکر اشاره‌ای ضروری به نظر می‌رسد. چنانچه می‌دانیم، ژن P53 که از مهمترین ژنهای بازدارنده تومور می‌باشد، می‌تواند پس از آسیب وارده به DNA موجب توقف رشد و القای آپوتوز در سلول آسیب‌دیده شود. P53 همچنین به عنوان تنظیم‌کننده مثبت بیان bax و تنظیم‌کننده منفی بیان bcl-2 عمل می‌کند. به عنوان مثال موش‌های P53-/- دارای میزان بالایی از Bcl-2 و میزان اندکی از Bax می‌باشند. اشاره می‌شود که پروموترژن bax دارای چهار منطقه برای اتصال به P53 می‌باشد و اتصال P53 به آنها به سرعت منجر به افزایش بیان آن (پس از آسیب رسانی به DNA توسط پرتوهای یونیزان) می‌شود. اثر تنظیم کنندگی منفی P53 روی ژن bcl-2 نیز از طریق ناحیه‌ای به طول ۱۹۵ bp واقع در انتهای غیر ترجمه‌ای ۵ ژن، صورت می‌پذیرد (۱،۴).

نکته قابل توجه دیگر، ایجاد هموداپمر (جوردوپار) و هتروداپمر (ناجوردوپار) توسط پروتئین‌های هم‌ردیف ced-9 است. توانایی اعضای این خانواده به ایجاد هموداپمر و هتروداپمرها موجب شد که پژوهشگران الگویی را برای نحوه تعیین پاسخ سلول به آپوتوز ارایه دهند. قبلاً لازم است ذکر شود آزمایش‌های انجام گرفته نشان می‌دهد که bcl-2 با خودش هموداپمر و با Bcl-xl،Bcl-xs،Bax،mcl-2 و Bad هتروداپمر تشکیل می‌دهد. همچنین bcl-xl با خودش هموداپمر و با Bcl-xs،Bax،mcl-1،Bad و نیز bcl-2 هتروداپمر ایجاد می‌کند. Bad هموداپمر ایجاد نمی‌کند و به bd-xl قوی‌تر از Bcl-2 متصل شده و می‌تواند bax را از Bd-xl جدا کند و... بر پایه الگوی ارایه شده، یکی از راه‌هایی که توسط آن حالت داخلی سلول می‌تواند پاسخ آپوتوزی را کنترل کند، نسبت پروتئین‌های مهارکننده آپوتوز به انواع تحریک کننده آن می‌باشد. گفته می‌شود که نسبت bcl2/Bax به عنوان رئوستاتی (Rheostat) عمل می‌کند که آمادگی سلول به آپوتوز را تنظیم می‌نماید. این رئوستات می‌تواند آسیب رسیدن به DNA و فعال شدن P53 یا سرکوب bcl-2 و القای بیان bax موجب انحام مرگ سلولی گردد. در واقع با کاهش میزان پروتئین Bcl-2 و افزایش پروتئین Bax از هموداپمرهای bcl-2 کاسته شده و هموداپمرهای Bax زیاد می‌شوند و چون bax تسریع کننده آپوتوز است، سلول رو به سوی مرگ می‌گذارد. نسبت Bcl-xl/Bcl-xs می‌تواند رئوستات دیگری باشد که با پردازش متناوب mRNAکنترل می‌شود. به‌طور کلی، می‌توان گفت که نسبت اعضای بازدارنده این خانواده (مانند

bcl-xl،bcl-2 و mcl-1) می‌توانند آمادگی سلول‌های پستانداران به آپوتوز را کنترل کند. بنابراین، بیان متناوب اعضای این خانواده که در برخی موارد در سطح برش mRNA و همچنین در سطح رونویسی کنترل می‌شود، ممکن است آمادگی آپوتوز را در خلال رشد و نمو، تمایز جمعیت‌های جدید سلولی و در بافت‌های گوناگون تنظیم کند (۱،۲،۸).

چنانچه پیشتر ذکر شد، بیشترین مطالعه روی نخستین عضو این خانواده یعنی bcl-2 انجام گرفته است. هر چند که به‌ظاهر در تنظیم آپوتوز در پستانداران نقش مهمی را ایفا نمی‌کند. بیان غیرطبیعی یا بی‌رویه این ژن می‌تواند القای آپوتوز توسط محرک‌های مختلف و در سلول‌های متفاوت را مهار کند. همچنین، bcl-2 می‌تواند از بیان زیاد انکوژن C-myc ممانعت به عمل آورد. علی رغم توانایی P53 به کاهش بیان bcl-2، بیان بالای آن می‌تواند آپوتوز وابسته به P53 را مهار کرده و یا به تأخیر اندازد. بیان اجباری bcl-2، همچنین می‌تواند سلول‌ها را به کشته شدن توسط عوامل شیمی‌درمانی رایج مانند متوتروکسات (methotrexate)، سیتوزین آرابینوزید (cytosine arabinoside)، اتوپسید (etopside)، وین کریستین (vincristine) و سیس پلاتین (cisplatin) مقاوم نماید.

از نقطه نظر محل سلولی پروتئین‌های خانواده bcl-2 می‌توان گفت که اگر چه برخی مطالعات بر اتصال bcl-2 به غشای داخلی میتوکندری دلالت دارد، بخش عمده‌ای از مطالعات اخیر نشان داده است که این پروتئین در سطح سیتوپلاسمی غشای هسته‌ای، غشای بیرونی میتوکندری و شبکه آندوپلاسمی قرار دارد. دیگر اعضای این خانواده مانند bd-xl،bd-xs،mcl-1،Blk و Bl-1 نیز اغلب در غشای میتوکندری قرار دارند و گاه با هم برهم کنش هم دارند. برخی نیز به میزان ناچیزی در غشای هسته جای می‌گیرند (۱،۴).

پیرامون مکانیسم‌های احتمالی عمل Bcl-2 (و دیگر اعضای این خانواده) نظریه‌های متعددی ارایه شده است که احتمال تنظیم غلظت Ca^{2+} آزاد سیتوزول (cytosal)، جلوگیری از آزاد شدن کلسیم شبکه آندوپلاسمی، تعدیل نقل و انتقال پروتئین‌ها از خلال سوراخ‌های غشای هسته و مهار پروتئین Bax از آن جمله است.

شایان تاکید است که bcl-2 به تنهایی در مهار آپوتوز وارد نمی‌شود و حتی به احتمال زیاد مسیرهای عمل آن متعدد است. همچنین، تغییرات پس از ترجمه به ویژه فسفریلاسیون که روی آن رخ می‌دهد در عملکرد آن نقش اساسی دارد (۱،۴،۸،۹).

۵ـ۶ـ نقش و اهمیت میتوکندری در کنترل آپوتوز

میتوکندری‌ها دارای یک پتانسیل عبور غشای (Transmembrane potential) هستند که با علامت $\Delta\psi m$ معرفی می‌شود و از توزیع نامتقارن پروتون‌ها و دیگر یون‌ها در دو سمت غشای داخلی میتوکندری ناشی می‌شود.

نتیجه این پتانسیل ایجاد یک شیب شیمیایی (pH) و الکتریکی است که برای عمل میتوکندری لازم می‌باشد. سلول‌هایی که در حال آغاز آپوتوز هستند، دچار کاهش در $\Delta\psi m$ می‌شوند و صرف نظر از نوع محرک آپوتوز می‌توان این کاهش را در بسیاری از سلول‌ها شناسایی کرد (۱۰،۱۱).

کاهش پتانسیل غشایی پیش از ظهور علایم آپوتوز مانند تراکم کروماتین و تجزیه DNA رخ می‌دهد و این امر نشان‌دهنده آن است که این پدیده از وقایع اولیه آبشار آپوتوزی است. به‌هم ریختگی کامل در پتانسیل غشایی،سلول را به طور اجتناب‌ناپذیر وادار می‌کند که به سمت آپوتوز پیش‌روی کند. دستکاری‌های ژنتیکی و عملکردی هم نشان می‌دهد که اغتشاش در $\Delta\psi m$ و آپوتوز هسته‌ای نتیجه از آن را، نمی‌توان از هم جدا کرد. بنابراین، پس از افت در $\Delta\psi m$ علایم عمودی آپوتوز (مشتمل بر اتمام گلوتاتیون غیر اکسیده، تولید اکسیژن و اکنشگر، تجزیه DNA ظهور بقایای فسفا تیدیل سرین روی سطح سلول و در نهایت تجزیه کامل) به‌طور اجتناب‌ناپذیری شکل می‌گیرد. از آنجا که برای عملکرد طبیعی میتوکندری، پتانسیل طبیعی لازم است، فرآیند زیست زدایی میتوکندری در سلول در حال آپوتوز متوقف شده، رونویسی و ترجمه قطع گردیده و برخی از پروتئین‌های بین غشایی مانند سیتوکروم C به درون سیتوزول می‌ریزند. آزاد شدن سیتوکروم C، آبشاری از پروتئازهای ویژه آپوتوز موجود در سیتوزول را به راه می‌اندازد و چنین به نظر می‌رسد که Bcl-2 از آزاد شدن سیتوکروم C به درون سیتوزول جلوگیری می‌کند (۱۰،۱۱).

مطالعات نشان داده است که کاهش در پتانسیل غشایی، از باز شدن سوراخ‌های گذرا تراوایی یا PT (Permeability transition) ناشی می‌شود. غشای داخلی میتوکندری در حالت طبیعی نیمه تراوا است و به همین دلیل شیب الکتروشیمیایی را ایجاد می‌کند. باز شدن این سوراخ‌ها به مولکول‌های در حدود ۱۵۰۰ دالتون یا کوچکتر اجازه عبور می‌دهد و در نتیجه. پروتون‌ها، کلسیم، گلوتاتیون و مانند آن می‌توانند مبادله شوند. در پی این مبادله. پتانسیل غشایی و به تبع آن عملکرد میتوکندری دچار اختلال می‌گردد. مهارکننده‌های PT مانند سیکلوسپورین A از به‌هم‌ریختگی M و همچنین آپوتوز جلوگیری می‌کنند. و در عوض، تحریک کننده‌های PT مانند کلسیم، عوامل پراکسید کننده مانند پراکسید هیدروژن، عوامل کاهنده $\Delta\psi m$ نظیر مهارکننده‌های تنفس، القاکننده قوی آپوتوز نیز می‌باشند. لازم به ذکر است که PT، علاوه بر آپوتوز، در نکروز هم وارد می‌شود و این یکی دیگر از یافته‌هایی است که مرز بین آپوتوز و نکروز را برمی‌دارد (۱۰،۱۱).

این واقعیت که مهارکننده‌های PT مانع تمام علایم آپوتوز می‌شوند، دلالت بر آن دارد که PT به مثابه یک محدودکننده سرعت آبشار آپوتوز عمل می‌کند. برخی از پیامدهای PT (افزایش کلسیم سیتوزول، تمام شدن ذخیره فسفات‌های غنی از انرژی، اکسیداسیون گلوکز، جفت نشدن

زنجیره تنفسی و افزایش تولید آنیون سوپراکسید و آزاد سازی پروتئین آپوتوژن از میتوکندری) ممکن است در هماهنگ سازی مرحله تجزیه آپوتوز وارد شود.

پژوهش‌های اولیه نشان داده است که عصاره سیتوپلاسمی سلول در حال آپوتوز می‌تواند علایم آن را در هسته جدا شده ایجاد کند. بررسی‌های تکمیلی حکایت از آن دارد که عصاره محلول سیتوزول برای این منظور کافی است. از طرف دیگر، میتوکندری سلول طبیعی آپوتوز ایجاد نمی‌کند، مگر این‌که به ایجاد PT تحریک گردد. همچنین، میتوکندری سلولی که در حال آپوتوز است می‌تواند علایم آپوتوز را در هسته سلول سالم ایجاد کند. به عبارت دیگر، میتوکندری می‌تواند آپوتوز را از یک سیستم به سیستم دیگری منتقل کند. چنین به نظر می‌رسد که میتوکندری در حال آپوتوز، از خود پروتئینی به نام آپوتوژن (Apoptogen) آزاد می‌کند. چنین پروتئینی لازم است که دارای نشان ویژگی‌های زیر باشد:

۱ـ در بین همه موجودات زنده حضور داشته و از نظر تکامل زیستی حفاظت شده باشد، زیرا شکل موشی آن در سلول انسان (و برعکس) آپوتوز ایجاد می‌کند.

۲ـ از آنجا که در سلول‌های فاقد میتوکندری وجود دارد، توسط ژنوم هسته‌ای رمزدهی می‌شود.

۳ـ پروتئینی درون غشایی با وزن حدود ۵۰ کیلو دالتون است، از این رو نمی‌تواند سیتوکروم C باشد.

۴ـ به تنهایی و بدون نیاز به اجزای اضافی از سیتوپلاسم، قادر به ایجاد آپوتوز است. در حالی که سیتوکروم C به عامل‌های تکمیلی نیاز دارد.

۵ـ به فاصله کوتاهی (کمتر از ۱۵ دقیقه) آپوتوز هسته‌ای را موجب می‌شود. در حالی که بخش دیگر میتوکندری (سرآمید) که در آپوتوز نقش دارد، به بیش از ۳ ساعت وقت نیاز دارد.

۶ـ فاقد خاصیت DNAse است اما اندونوکلئازهای هسته‌ای را فعال می‌کند.

۷ـ دارای خاصیت پروتئازی یا فعال نمودن پروتئازها می‌باشد (۱۱).

۱ـ۶ـ۵ـ رابطه بین PT و bcl-2

چنانچه اشاره شد bcl-2 در غشای میتوکندری قرار دارد. مطالعات نشان می‌دهد که این پروتئین به صورت پراکنده در نقاط تماس بین غشای داخلی و خارجی و مجاورت PBR (که یکی از پروتئین‌های سوراخ PT است) قرار می‌گیرد. از طرف دیگر، بررسی‌های عملکردی نشان می‌دهد که مهار آپوتوز توسط bcl-2 توسط میتوکندری صورت می‌گیرد و برای ایفای نقش خود جای‌گیری آن در هسته لازم نیست. افزایش بیان bcl-2 می‌تواند از ایجاد PT توسط بسیاری از القاکننده‌های آن جلوگیری کند و این اثر بازدارندگی روی PT به طور مستقیم صورت می‌گیرد.

bcl-2 با مهار PT از آزاد شدن مولکول‌های کوچکی مانند کلسیم از ماتریکس میتوکندری و

پروتئین‌های آپوتوژن از بین دو غشا جلوگیری می‌کند. اشاره می‌شود که bcl-2 نقشی در تشکیل این پروتئین‌ها ندارد، زیرا میتوکندری چه تحریک به تولید bcl-2 بشود و چه نشود، مقدار برابری از این پروتئین‌ها را ترشح می‌کند. به علاوه هسته‌هایی که BCL-2 را بیان می‌کنند نمی‌توانند در برابر اثر این پروتئین‌ها (تراکم کروماتین و تجزیه DNA) مقاومت کنند. از این رو bcl-2 در عمل آنها دخالت نمی‌نماید. بنابراین، احتمالاً bcl-2 توسط مهار PT و محبوس کردن آپوتوژن‌ها در میتوکندری، آپوتوز را کنترل می‌کند. این‌که آیا این عمل از طریق برهم کنش مستقیم فیزیکی bcl-2 با اجزای سوراخ PT است یا خیر؟ به درستی معلوم نیست. بررسی‌های کریستالوگرافی و NMR روی پروتئین bcl-xl که همساخت bcl-2 اما بر عکس آن تسریع کننده آپوتوز است نشان می‌دهد که ساختمان آن شبیه کلی‌سین (colicin) سوراخ کننده باکتریایی می‌باشد. این پروتئین‌ها از یک باکتری ترشح شده و از غشای بیرونی تا غشای درونی سایر باکتری‌ها وصل می‌شوند و به این ترتیب سوراخی ایجاد می‌کنند که شیب یون‌ها را از بین می‌برد و باکتری را می‌کشد. بنابراین، اعضایی از خانواده bcl-2 که تسریع کننده آپوتوز هستند می‌توانند به شکل فعال و به همین روش در PT مشارکت داشته باشند و در عوض، اعضای بازدارنده آپوتوز این توانایی را خنثی کنند.

این یافته‌ها حاکی از آن است که PT یک هماهنگ کننده اصلی در مرحله اثرکننده آپوتوز می‌باشد. لازم به اشاره است که مشاهدات زیاد دیگری نیز وجود دارد که در تضاد با این تصور می‌باشد. آنچه را که روی هم رفته می‌توان نتیجه گرفت این است که PT تنها نقطه کنترل آپوتوز به حساب نمی‌آید و تنظیم آن با فعال شدن پروتئازها در هم آمیخته است (۱۱، ۱۰).

۷-۵- سایر انکوژن‌های تعدیل‌کننده آپوتوز

سایر ژن‌های پیش برنده تومور اثرگذار بر مرگ سلولی شامل ژن‌های رمزکننده پروتئین متصل شونده به GTP ,RAS کینازهای Ab1,raf، عوامل‌رونویسی AP-1،HLF،RD،MYC،MYb،E2F، Nur77 و پروتئین‌های ویروسی Lmp-1،Tax پادگن T بزرگ، E6،ELA/B و E7 می‌باشند.

۱-۷-۵- مولکول‌های پیام‌رسان

ژن‌های RAS خانواده‌ای از پروتئین‌های کوچک متصل شونده به گوانین را رمزدهی می‌کنند که وارد مسیر انتقال پیام می‌شوند. جهش‌هایی که پروتئین‌های RAS را فعال می‌کنند به آن خاصیت انکوژنی می‌دهند و موجب می‌شوند که پروتئین به طور دایم در حالت فعال متصل به GTP قرار گیرد. این جهش‌ها همچنین توانایی مهار آپوتوز را به سلول می‌دهند. H-Ras سلول‌ها را از آپوتوز ناشی از C-myc در محیط خالی از سرم نجات می‌دهد و افزایش بیان Ras فعال شده آپوتوز را در سلول‌های میلوئید موشی مهار می‌کند (۱).

۲ـ۷ـ۵ـعوامل رونویسی

بیان عامل رونویسی MYC علاوه برآنکه برای تکثیر سلولی مهم است، در مرگ برنامه‌یزی شده نیز نقش دارد. MYC با پروتئین رتینوبلاستوم برهم کنش دارد و می‌تواند توقف چرخه سلولی در اثر PBR را نادیده بگیرد. به دنبال آن در حضور برخی از سیتوکین‌های محرک رشد مانند IL-2، بیان MYC موجب تکثیر سلول می‌شود. به عبارت دیگر تکثیر سلولی از کنترل خارج می‌شود. حضور مداوم MYC در شرایطی که رشد متوقف شده است (مانند سلول‌های میلوبید موش) موجب القای آپوتوز می‌شود که وابسته به P53 است. چون MYC فعال‌کننده رونویسی P53 می‌باشد، القای آپوتوز به اجتماع MYC با هترودایمرش (Max) که توسط bcl-2 هم مهار می‌شود، وابسته است. تجارب نشان داده است که MYC برای همه شکل‌های آپوتوز لازم نیست و نمی‌توان آن را به عنوان ژن مرگ نهایی در نظر گرفت.

به نظر می‌رسد که تصمیم سلول برای تکثیر یا مرگ در پاسخ به افزایش بیان MYC، تحت اثر سایر پیام‌ها و محرک‌های بقا می‌باشد. مطالعات نشان داده است که خانواده پروتوانکوژن‌های Rel که شامل NF-xB هم می‌باشد، هم به عنوان محرک و هم به مثابه بازدارنده آپوتوز عمل می‌کنند. اثرات افزایش بیان Rel نه تنها در هر سلولی متفاوت است، بلکه افزایش بیان آن در یک سلول نیز آثار متفاوتی دارد (۱).

ژن Myb در وضعیت ترانس، MYC را فعال می‌کند و بیشترین سطح بیان آن در سلول‌های خون‌ساز است. کاهش بیان Myb از تکثیر جلوگیری کرده و در سلول‌های نوروبلاستوم موجب بروز آپوتوز می‌شود. البته به نظر می‌رسد که مانند MYC، آثار Myb نیز ویژه هر سلول بوده و وابسته به حضور دیگر عوامل بقا است (۱).

عامل رونویسی Ap-1 از تجمع فرآورده‌های پروتوانکوژن‌های fos و jun که هر دو در شروع آپوتوز نقش فعال دارند، ایجاد می‌شود. این عامل رونویسی پس از آپوتوز ناشی از حذف عامل رشد، در سلول‌های میلومای موشی متکی به IL-2 و IL-6 به طور موقت و گذرا القا می‌شود (۱).

E2F یکی دیگر از عوامل رونویسی انکوژنی است که آپوتوز را از طریق بر هم کنش با PRB تعدیل می‌کند. BRB یک فسفوپروتئین ۱۰۵ کیلو دالتونی است که تنظیم چرخه سلولی را بر عهده دارد. در مرحله G0/G1 سلول، PRB به شکل هیپوفسفریله است و در اواخر G1 هیپرفسفریله شده و این حالت در مراحل G2،S و M همچنان باقی می‌ماند. فسفریلاسیون روی بقایای سرین و ترئونین و توسط کینازهای وابسته به سیکلین انجام می‌یابد. عقیده بر آن است که PRB هیپوفسفریله در مهار رشد فعال بوده و می‌تواند به تعدادی از پروتئین‌های سلولی مانند E2F متصل گردد.

E2F برای رونویسی ژن‌های دخیل در کنترل رشد و سنتز DNA (مانند c-myc،c-myb، cdc2 و

DNA پلی‌مر از آلفا) لازم است. افزایش بیان E2F، سلول‌های خاموش را وارد مرحله S کرده و از خروج سلول‌های داخل جلوگیری می‌کند، به علاوه فیبروبلاست‌های جنین موش صحرایی را تراریخت کرده و در نهایت منجر به آپوتوز می‌شود (۱).

عامل رونویسی nur77 که گیرنده هورمون استرویدی هسته‌ای می‌باشد، در خلال آپوتوز القا شده و برای آن لازم می‌باشد. این عامل ممکن است بیان ژن‌های پایین دست (Downstream) را که در آپوتوز وارد می‌شوند تنظیم کند.

برای ایجاد پاسخ آپوتوزی، عامل nur77 باید به DNA متصل می‌گردند. از این خانواده اعضای دیگری هم شناسایی شده‌اند که به ردیف ویژه‌ای از DNA متصل می‌شوند، که از جمله آنها می‌توان TINVR (که در خلال آپوتوز القا می‌شود) را نام برد (۱).

bzip خانواده دیگری از عوامل رونویسی است که در آپوتوز نقش دارد. یکی از اعضای این خانواده به نام ces-2 در نماتود c.elegan تعیین می‌کند که کدام سلول باید بمیرد. این ژن به طور مستقیم یا غیر مستقیم ژن ces-1 را مهار می‌کند و به عنوان مسئول مرگ دو نورون ترشح کننده سروتونین شناخته شده است. از دیگر اعضای این خانواده که در پستانداران وجود دارند می‌توان HIF، DBP و TEF/VBP را نام برد که فعال کننده رونویسی هستند و ردیف خاصی را در DNA تشخیص می‌دهند و به علاوه می‌توانند با هم هترودایمر شکل دهند. باید گفت که این ژن‌ها به طور مستقیم در اجرای آپوتوز نقشی ندارند. بلکه روی ژن‌های دیگری که هنوز شناخته نشده‌اند و ممکن است از مسیر اصلی آپوتوز باشند اثر می‌گذارند. به عبارت دیگر این ژن‌ها در ایجاد حساسیت به آپوتوز در سلول‌های خاصی نقش دارند و مقرر می‌دارند که کدام سلول کشته شود و کدام یک باقی بماند (۱۲).

در یک جمع‌بندی کلی، الگوی عمومی که از تعدیل آپوتوز توسط عوامل رونویسی انکوژنی برمی‌خیزد، این است که افزایش بیان آنها، پاسخ آپوتوزی را برمی‌انگیزد. آثار نهایی این عوامل (خواه آپوتوزی یا انکوژنی) توسط الگوهای هم‌پوشان فعال سازی در حالت ترانس (transactivation) به هم متصل می‌شوند. به عنوان نمونه E2F بیان ژن‌های myc و myb را تنظیم می‌کند و myb و AP-1 نیز تنظیم بیان myc را بر عهده دارند. علاوه بر این، ژن گیرنده Fas که در پی فعال شدن سلول T، بیان آن زیاد می‌شود. در پروموتر خود دارای ردیف‌هایی برای اتصال myb و AP-1 می‌باشد. بنابراین، بر اساس اطلاعات جاری به روشنی معلوم نیست که افزایش بیان Fas از افزایش سطح myb ناشی می‌شود یا از افزایش سطح AP-1، E2F و myc با PRB بر هم کنش دارند و افزایش بیان myb و Rel می‌تواند هم القا کننده و هم بازدارندهٔ آپوتوز باشد، امری که به نوع سلول بستگی داشته و حتی در درون یک سلول در شرایط متفاوت فرق می‌کند. به بیان دیگر، پاسخ سلول به افزایش

پی‌درپی ۱۳۳ - ۱۴۲

بازآموزی

بیان، به سایر پیام‌ها بستگی دارد و خود این پیام‌ها ممکن است به چرخه سلولی بستگی داشته و یا ویژه سلول باشند.

۳-۷-۵- انکوپروتئین‌های ویروسی

ویروس‌های DNA دار تومورزا برای همانند سازی ژنوم خود به مکانیسم‌های سلول میزبان وابسته هستند. در نتیجه این ویروس‌ها با ژن‌های اولیه خود فرآورده‌هایی را رمزدهی می‌کنند که می‌توانند به پروتئین‌های ویژه‌ای مانند PBR و p53 که چرخه سلولی را تحت کنترل خود دارند، متصل شوند. آدنوویروس، پاپیلوماویروس انسانی، ویروس اپیشیتین بار (Epstein-barr) و SV40 همگی از این مکانیسم استفاده می‌کنند. علاوه بر این، برخی ویروس‌ها ژن‌های بازدارنده توموری دارند که پاسخ سلول میزبان به عفونت را مانع می‌شوند (۱،۲،۴،۸).

۸-۵ بازدارنده‌های تومور و آپوتوز

۱-۸-۵-p53 و آپوتوز

فسفوپروتئین p53، فرآورده یک ژن بازدارنده تومور است که در بیشتر سرطان‌ها غیر فعال می‌شود. ایجاد موش‌های جهش یافته p53- نشان داده که اگر چه وجود این ژن برای رشد و نمو طبیعی لازم نیست، موش‌ها تا سن ۶ ماهگی به انواع تومورهای خود به خودی مبتلا می‌شوند. p53 طبیعی به عنوان عامل رونویسی عمل می‌کند و اگر به طور مستقیم به DNA وصل شود، رونویسی را فعال می‌کند اما اگر با بر هم کنش با پروتئین TBP (protein TATA binding) به پروموتر وصل گردد، رونویسی را مهار می‌نماید. پایانه C آن برای اتصال به DNA لازم است و پایانه N آن قلمرو فعال سازی در وضعیت ترانس قوی دارد. از زمان شناسایی این پروتیئن در حدود یک دهه پیش، نقش آن در بسیاری موارد، به ویژه موارد زیر مشاهده شده است (۴، ۱):

الف - تنظیم بیان ژن به عنوان عامل رونویسی.

ب - نظارت بر کنترل چرخه سلولی توسط p21 waf1/cip.

ج - ترمیم DNA آسیب دیده از طریق آنزیم ترمیم Gadd45.

د - حفظ نظارت ژنومی و پاسخ به آسیب DNA ژنومی.

هـ - پیش آگهی سرطان و مقاومت دارویی.

و - سرطان زایی ویروسی و شیمیایی.

ز - مرگ سلولی ناشی از کمبود اکسیژن.

ح - آپوتوز.

ط - تمایز و یا آپوتوز.

p53 در پاسخ سلول به پرتوهای یونیزان و سایر عوامل آسیب رسان به DNA مشارکت فعال دارد.

تاباندن پرتوهای یونیزان روی سلول پستاندار موجب توقف کوتاه مدت سلول در مراحل G1 و G2 و مرگ آپوتوز می‌شود. پس از پرتودهی، سطح درون سلولی p53 افزایش می‌یابد. سلول‌های واجد نسخه طبیعی ژن در Go/G1 و سلول‌های جهش یافته در G2 متوقف می‌شوند. این نقطه کنترل به سلول اجازه می‌دهد

تا DNA را ترمیم کند. البته اگر آسیب بسیار زیاد باشد، آپوتوز انجام می‌شود. این سیستم تکثیر سلول‌های واجد آسیب وسیع DNA را مانع شده و از ایجاد تومور جلوگیری می‌کند. به همین دلیل p53 را به عنوان محافظ یا نگهبان ژنوم می‌شناسند.

برای تحریک پاسخ p53، ایجاد شکستگی در DNA ضروری است و سایر شکل‌های آسیب مانند الکیلاسیون منجر به تجمع P53 نمی‌شوند. تحریک بیان P53 پس از آسیب رسیدن به DNA در اثر پرتوهای یونیزان، در بیماران Ataxia telangiectasia رخ نمی‌دهد و به همین دلیل این افراد به پرتوها حساس هستند.

مکانیسمی که توسط آن p53، در پی آسیب دیدن DNA، سلول را در مرحله G1 متوقف می‌کند، از طریق نقش آن به عنوان عامل رونویسی انجام می‌شود. افزایش سطح p53 در اثر پرتویونیزان موجب بالا رفتن رونویسی تعدادی از پروتئین‌ها (از جمله p21 waf1 / cip1، GADD45 و Mdm2) می‌گردد. p21 waf1/cip1 یک اثر کنندهٔ مهم پایین دست نقطه کنترل G1 توسط p53 است و به عنوان باز دارنده قوی کینازهای وابسته به سیکلین عمل کرده و منجر به توقف چرخهٔ سلولی در مرز G1/S می‌شود. القای ژن GADD45 که در پی پرتویونیزان صورت می‌گیرد، در مهار پیشرفت چرخهٔ سلولی مهم بوده و به عملکرد طبیعی p53 وابسته است. Mdm2 نیز در یک حلقهٔ پس خورد منفی (Negative feedback loop) از فعالیت رونویسی p53 جلوگیری می‌کند.

آسیب رسیدن به DNA سلول پستانداران علاوه بر توقف چرخه سلولی یک نتیجه غالب دیگر، یعنی آپوتوز، هم دارد، که اغلب از طریق مسیر وابسته به p53 انجام می‌شود. نوع تصمیم سلول در پاسخ به آسیب DNA و تعیین توقف چرخه یا آپوتوز بستگی به شرایط سلول دارد. تیموسیت‌های نابالغ موش‌های جهش یافته در p53 می‌توانند همانند تیموسیت‌های موش طبیعی در پاسخ به انواع محرک‌هایی مانند گلوکوکورتیکوییدها (Glucocorticoid)، فوربول استر (Phorbol ester) و یا یونومایسین (Ionomycin) وارد آپوتوز شوند، در حالی که همین سلول‌ها بر خلاف سلول موش طبیعی نمی‌توانند در اثر تابش پرتوهای یونیزان وارد آپوتوز شوند. شایان ذکر است حساسیت تیموسیت‌هایی که دارای یک نسخه طبیعی از p53 هستند، به آپوتوز ناشی از پرتو، حد واسط سلول طبیعی و سلول -/- p53 می‌باشند و بنابراین گفته می‌شود که اثر p53 در این مسیر وابسته به مقدار ژن است. هم چنین، سلول‌های مغز استخوان و اپی تلیال روده موش‌های جهش یافته -/-p53 نیز به آپوتوز ناشی از پرتو مقاوم هستند. در حالی که در پاسخ به سایر محرک‌ها، آپوتوز را اجرا می‌کنند. این مشاهدات نشان دهنده آن است که برای اجرای آپوتوز مسیرهای زیادی وجود دارد که ممکن است برخی وابسته به p53 و شماری مستقل از آن باشند.

تنظیم مستقیم رونویسی اعضای خانواده، bcl-2 ممکن است در القای آپوتوز توسط p53 مهم باشد. حضور یا عدم حضور عوامل رشد هم می‌تواند آپوتوز یا توقف رشد متکی به p53 را تحت تأثیر قرار دهد. به طور نمونه سلول‌های خون ساز مشتق از مغز استخوان اگر در حضور عامل رشد مناسب کشت داده شوند به القای آپوتوز در اثر پرتو مقاوم هستند، اما در مرحله G1 متوقف می‌شوند و در صورتی که بدون عامل رشد کشت داده شوند، آپوتوز وابسته به p53 رخ می‌دهد که پس از آسیب رسیدن به DNA به میزان زیادی تسریع نیز می‌گردد.

عدم توانایی برای اجرای آپوتوز پس از آسیب DNA، پیامد بالینی مهمی دارد. نبود آپوتوز ناشی از p53 ممکن است یکی از مکانیسم‌های مقاوم شدن تومورهای جهش یافته p53، به شیمی درمانی و پرتودرمانی باشد. به علاوه موش‌های مهندسی ژنتیک شده که آللهای p53 جهش یافته را بیان می‌کنند، استعداد زیادی به ایجاد تومور در اثر پرتو دارند (در این رابطه در بخش آپوتوز و سرطان بیشتر بحث شده است). هم چنین بیماران دارای تومور ویلمز (Wilms tumour) (نوعی تومور کلیه که در کودکان ایجاد می‌شود و معمولاً همراه با حذف نوار p13 از کروموزوم یازده است)، اگر در ژن p53 خود نیز جهش یافته باشند پیش آگهی کمتری داشته و نسبت به بیماران دارای ژن طبیعی p53 به شیمی درمانی و پرتو درمانی مقاوم‌تر هستند. بنابراین، باید توجه داشت که استفاده از پرتودرمانی در این افراد، ممکن است موجب ایجاد جهش‌هایی ناشی از پرتو و تومورهای جدید گردد (۱،۴،۱۳،۱۴).

۲-۸-۵-pRB و آپوتوز

PRB (فرآورده ژن رتینوبلاستوم) نه تنها پیشرفت چرخه سلولی را کنترل می‌کند، بلکه نقش مهمی در تکوین و تمایز برخی از سلول‌ها نیز دارد. موش‌های جهش یافته -/-PRB در بین روزهای ۱۴-۱۰ حاملگی می‌میرند و میزان تقسیم سلولی و آپوتوز در دستگاه‌های خون ساز و عصبی آنها بالا می‌رود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که PRB نه تنها در مهار تکثیر و ترایختی، بلکه در آپوتوز نیز وارد می‌شود. PRB می‌تواند در برخی سلول‌ها، آپوتوز ناشی از پرتو را، در مکانیسمی جدا از p53، مهار کند. مکانیسم حفاظت از آپوتوز توسط این پروتئین کمابیش ناشناخته است. یک مکانیسم پیشنهادی، القای یک حالت خاموشی است که در آن سلول‌ها کمتر به آپوتوز حساس هستند. چنین به نظر می‌رسد که فرآورده ژن رتینوبلاستوم دارای نقش دوگانه است: کنترل پیشرفت چرخه سلول و مهار آپوتوز. از این رو PRB و پروتئین‌های مشابه آن در تعیین نوع پاسخ سلول به یک محرک فرضی و این که رشد متوقف گردد یا آپوتوز اجرا شود، باید دارای نقش کلیدی باشند.

چنانچه پیشتر اشاره شد، P53 و PRB با پروتئین‌های ویروسی بر هم کنش دارند. به طور مشخص SV40، برخی از آدنوویروس‌ها و HPV

نـــوع ۱۶ و ۱۸، انکـوپروتئین‌هایی را رمـزدهی می‌کنند که به P53 و PRB متصل می‌شوند.

به ظاهر دلیل این رخـداد آن است کـه بـرای تکثیر ویـروس، بـازداشت ایـن دو پـروتئین لازم مـی‌باشد. پـروتئین‌هایی کـه بـه PRB مـتصل می‌شوند اغلب آن را غیر فعال کـرده و مـنجر بـه توقف چرخه سلولی در مرحله G1 می‌گردند. علت این امر نـیز آن است کـه وادار کـردن سـلول بـه ورود بـه مـرحـلهٔ S بـرای آغـازِ هـمانندسازی ویروس الزامی می‌باشد.

علاوه بر ژن‌هایی کـه بـحث دخـالت آنـها در آپوتوز صـورت گـرفت، تـعدادی دیگـر از ژن‌هـا (مـــانند ژن APC، c-Jun، پـروتئین‌هایِ شـوک حـــرارتـــی، پـروتئین‌هایِ مـرتبط بـا تـنش، cdc25، عـامل تـنظیم کـنده انـترفرون ۱، NFKB، عاملِ رشد شبه انسولین و گیرندهٔ آن) شناسایی شـدهانـد کـه نـقشِ ویـژه آنـها نـاشناخته است، امـا بـه نـحوی بـا آپـوتوز در ارتـباط مـی‌باشند (۱،۴،۸).

۶ـ آپوتوز و سرطان

در بخش‌های پیشین، پـیرامـون ارتـباط بـین تنظیم هموستازی و کنترل تعداد سلول، با رشـد تومور و نقشی که ژن‌های متفاوت مانند خانواده bcl-2 و p53 در این ارتباط دارند و هم چنین نوع تـصمیم سـلول بـه ادامـه رشـد یـا تـوقف آن خودکشی سـلول، مـطالبی ارایـه گـردید. در ایـن قسمت، جمع بندی یافته‌ها و دیدگاه‌های جاری در این خصوص معرفی شده است (۱۵، ۴،۱۴، ۱).

۱ـ۶ـ آپوتوز و الگوی چند ضربه‌ای پیدایش سرطان

الگوی چند ضربه‌ای سرطان مـقرر مـی‌دارد که برای ایجاد تـراریـختی بـدخیم، لازم است کـه چندین جهش در یک سـلول رخ دهـد. بـه عـبارت دیگـر، فـعال شـدن انکـوژنها و غـیر فـعال شـدن ژنهای بازدارندهٔ تومور، با هم، مـوجب مـی‌شود که سلول اولیه تراریخت گـردد. امـا بـرای ایـن‌که این سلول به اندازه‌ای رشد کند که برای مـیزبان مشکل آفرین بـاشد، بـاید از دست مـرگ بـرنامه ریزی شده فـرار کـند، یـعنی در ژن‌هـای اجـرای آپوتوز آن جهش به وجود آید، چرا کـه بـه طـور طـبیعی نگـاهبان ژنـوم یـعنی p53، سـلول دارای آسیب ژنتیکی را شناسایی کرده و آن را با مـرگ برنامه ریزی شده از مـیان بـر مـی‌دارد. پـیش از آنکه ژن c-myc بتواند تراریخت کننده باشد، لازم است که رخدادی از القای آپوتوز جلوگیری کند و همچنین غـیر فـعال کـردن Rb بـه تـنهایی، مـرگِ سلولی وابسته به p53 را به راه انداخته و از ایجاد تومور ممانعت می‌شود، مگر این که آپوتوز مهار شود. بنابراین، فعال شدن انکوژنها و غـیر فـعال شدن ژنهای بازدارندهٔ تومور مـمکن است بـرای افـزایش گسـتردهٔ سـلول‌های تـوموری کـافی نباشد، مگر این که سـلول تـوموری در تـوانـایی خود برای اجرای اپوتوز دچار نقص شود.

رخداد جهش در ژن‌هـای مـوثر بـر آپـوتوز، علاوه بر ایجاد تراریختیِ بدخیم، می‌توانـد بـرای توانایی سلول توموری جهت ایجاد متاستاز هـم نـقش اسـاسی داشـته بـاشد. چـرا کـه سـلول

متاستازی با وجود عدم دریافت بسیاری از عوامل بقا و پیام‌هایی که سلول طبیعی از محیط خارج دریافت می‌کند، باید بتواند زنده بماند. در حالی که چنانچه پیشتر گفته شد، یکی از محرک‌های آپوتوز، عدم دریافتِ عامل رشد یا بقا می‌باشد.

شایان ذکر است که جهش در ژن‌های کنترل کنندهٔ آپوتوز به تنهایی و بدون جهش ثانویه در ژن‌های تنظیم کننده رشد، برای تومورزایی کافی نیست. به طور نمونه مطالعات نشان داده که تا ۵۵ درصد از جمعیت طبیعی انسان دارای جابه‌جایی (۱۸، ۱۴) ژن bcl-2 می‌باشد و فراوانی آن با افزایش سن هم بالا می‌رود، در حالی که هیچ گونه علایمی از بدخیمی دیده نمی‌شود. در حقیقت سلول‌هایی که حاوی این جابه‌جایی هستند به طور بالقوه و در صورت ایجاد جهش‌های بیشتر، توانایی ایجاد لنفوم را دارند.

با غیر فعال شدن p53 یک مرحله تنظیم کننده تکثیر حذف می‌گردد و سلول دارای همانندسازی غیرعادی نیست به آپوتوز مقاوم‌تر می‌شود. اثر دو سویهٔ غیر فعال شدن p53، حضور وسیع این جهش را در بسیاری از سرطان‌های انسانی توجیه می‌کند و برای ما روشن می‌سازد که چرا بسیاری از ویروس‌های سرطان زا سعی در غیر فعال کردن آن دارند (۱،۴،۸،۱۴،۱۵،۱۶).

۲ـ۶ مقاومت به شیمی درمانی

یکی از مهم‌ترین مشکلاتی که در بیماران سرطانی در حال درمان پیش می‌آید، ایجاد تومورهایی است که به چند دارو مقاوم هستند. این پدیده می‌تواند خود به خود ایجاد شود اما در بیمارانی که از پیش تحت درمان بوده‌اند، شایع می‌باشد. فنوتیپ مقاومت چند دارویی را در موارد کمی می‌توان به افزایش بیان ژن mdr-1 نسبت داد. این ژن یک پمپ غشایی را رمزدهی می‌کند که مجموعهٔ ویژه‌ای از عوامل ضد نئوپلاسمی را به بیرون از سلول می‌فرستد. مکانیسم شایع‌تر مقاومت چند دارویی را با بررسی آپوتوز در این بیماران می‌توان شرح داد.

تصور مرسوم این بوده است که پرتودرمانی و شیمی درمانی روی سلول‌های توموری آسیب‌های مرمت‌ناپذیرِ متابولیک یا فیزیکی ایجاد می‌کنند و به این روش موجب مرگ نکروزی سلول می‌گردند اما مطالعات روی سلول‌های کشته شده با پرتو و یا یکی از داروهای ضد تومور نشان داده است که این عوامل تغییرات آپوتوزی را در سلول ایجاد می‌کنند. سلول‌هایی که در معرض شیمی درمانی قرار می‌گیرند به شکل انفعالی کشته نمی‌شوند، بلکه اغلب به این دلیل می‌میرند که مکانیسم‌های نظارت درونی تغییر و تحولاتی را در فرآیندهای سلول شناسایی می‌کنند که توسط شیمی درمانی ایجاد شده‌اند و سپس آپوتوز را فعال کرده و به کار می‌اندازند. این مشاهدات نشان می‌دهد که یک مکانیسم مهم مقاومت دارویی در تورموها ناشی از عدم اجرای آپوتوز می‌باشد. مطالعات روی دودمان‌های سلول توموری در شرایط in vitro و in vivo اهمیت این ایده را

تأیید می‌کنند.

افزایش بیان bcl-2 و bcl-xl به طور همزمان موجب افزایش مقاومت تومور به شیمی درمانی و پرتودرمانی می‌گردد. داروهای آزمایش شده شامل ضد متابولیت‌ها، آنتراسیکلین‌ها، عوامل ایجاد کننده پیوند عرضی در DNA، بازدارنده‌های توپوایزومراز و بازدارنده‌های دوک میتوزی بوده‌اند. سلول‌های با بیان بالای bcl-xl که در معرض داروهای شیمی درمانی قرار می‌گیرند در مرحله‌ای از چرخهٔ سلولی که این داروها اثر می‌کنند متوقف می‌شوند و با حذف دارو از محیط، چرخهٔ سلولی و تکثیر ادامه می‌یابد. این پدیده نشان می‌دهد که سلول تیمار شده زنده است و دارو نتوانسته است آن را بکشد. افزایش بیان ژنِ bcl-xl در سلول‌های تومور ی نیز پس از استفاده از دارو گزارش شده است. بیان bcl-xl و bcl-2 در نوروبلاستوم موجب کاهش حساسیت سلول به آپوتوز در مقابل داروهای شیمی درمانی می‌شود و مقاومت دارویی در لوسمی میلوبید حاد با افزایش بیان bcl-2 مرتبط می‌باشد.

به شیوهٔ مشابه غیر فعال شدن p53 نیز با افزایش مقاومت دارویی همراه است و احتمالاً دلیل آن کاهش آپوتوز وابسته به p53 است. در عین حال مکانیسم‌های آپوتوز مستقل از آن حضور داشته و عمل هم می‌کنند. داروهای جهش زا یا پرتوها در تومورهای موش‌های جهش یافته -/-p53 نیز موجب توقف چرخهٔ سلولی شده و آپوتوز را اجرا می‌کنند. این امر نشان دهنده آن است که برای ایجاد مقاومت دارویی، افزایش بیان یک ژن ضد آپوتوزی مانند bcl-2 اثر قوی‌تر دارد تا غیر فعال شدن p53 که ژن به راه اندازندهٔ آپوتوز می‌باشد (۱،۴،۸،۱۴،۱۵،۱۷).

۳-۶-بیان ژن ضد آپوتوزی و میزان جهش

افزایش بیان ژن‌های ضد آپوتوز در سلول‌های سرطانی، مکانیسم اصلی ممانعت از افزایش سلول‌ها را منسوخ می‌کند و موجب پیشرفت غیر طبیعی چرخه سلولی می‌شود. به طور طبیعی سلول‌هایی که دچار میتوز غیر عادی، حذف کروموزومی و یا جهش ژنومی وسیعی گردند، به تقسیم ادامه نمی‌دهند بلکه وارد برنامه مرگ آپوتوزی می‌شوند. افزایش بیان ژن‌های ضد آپوتوزی موجب می‌شود که چنین سلول‌های غیر طبیعی، زنده مانده و به رشد خود ادامه دهند. بنابراین اشتباهات ژنتیکی، تجمع یافته و هر چه بیشتر می‌شود و از آنجا که جلوگیری از آپوتوز مرحله عمومی در سرطان‌زایی محسوب می‌شود این ساز و کار می‌تواند دلیل افزایش ناپایداری‌های وسیع کروموزومی در سلول‌های سرطانی به حساب آید. تسریع در تکامل تومور یکی دیگر از پیامدهای افزایش بیان ژن ضد آپوتوزی در سلول تومور می‌باشد. از آنجا که به طور معمول داروهای شیمی درمانی و پرتوها به طور ذاتی جهش زا هستند، سلول‌هایی که در معرض میزان بالایی از آنها قرار گیرند کشته می‌شوند، مگر این که مسیرهای آپوتوزی مسدود شده باشند.

بنابراین، بیان ژن ضد آپوتوزی موجب تسریع فرآیند جهش زایی و ایجاد جهش‌های جدید در سلول سرطانی، به دنبال روش‌های درمانی مذکور می‌گردد. ایجاد ناهنجاری‌های کروموزومی یکی دیگر از ره آوردهای عوامل شیمی درمانی می‌باشد. سلول‌هایی که در معرض وین‌کریستین (Vincristine) یا نیکودازول (Nicodazde) قرار گرفته‌اند این اختلال را نشان می‌دهند. این عوامل در شکل‌گیری دوک میتوزی اختلال ایجاد می‌کنند و موجب توقف چرخهٔ سلولی و اجرای آپوتوز در سلول توموری می‌گردند. اگر سلول دچار افزایش بیان bcl-xl شده باشد در پاسخ به این عوامل متوقف گشته اما نمی‌میرد و با حذف دارو بدون این که میتوز را کامل کنند شروع به تکثیر می‌نمایند و بنابراین پلی پلوییید می‌شوند (۱،۴،۸،۱۴،۱۵).

۴-۶-درمان سرطان

چنانچه ذکر گردید، تنظیم آپوتوز عاملی تعیین کننده در ایجاد تومور و درمان آن است. یکی از هدف‌های پژوهشگران بهره برداری از این چشم انداز جدید در زیست‌شناسی سرطان در مقیاس بالینی است. هر چه ارتباط بین روند بیماری و فعالیت ژن‌های گوناگون ضد آپوتوزی روشن‌تر می‌شود، جستجو برای تومورهایی که ژن‌های تنظیم گر آپوتوز را بیان می‌کنند، ضمن کمک به پیش آگهی سرطان، بر تصمیم برای نوع درمان هم اثر می‌گذارد. به طور اصولی‌تر باید گفت که مطالعه مکانیسم‌های آپوتوزی تاثیرپذیر از بدخیمی، فرصت بسیار مغتنم و جدیدی را برای طراحی راه کارهای کاملاً نو در مسیر درمان ایجاد کرده است.

یافته‌های غیر قابل انتظار در مورد این که درمان‌های رایج و نسبتاً موفق جاری یعنی پرتودرمانی، شیمی درمانی و تعدیل هورمونی همگی آپوتوز را القا می‌کنند، موجب افزایش علاقه و انگیزهٔ پژوهشگران برای درمان، به طور مشخص از طریق مسیرهای آپوتوزی شده است. این درمان‌ها می‌توانند اختصاصی‌تر بوده و اثرات سمی کمتری داشته باشند. اخیراً برای درمان لنفوم سلول B با استفاده از پادتن ضد bcl-2 تلاش‌هایی شروع شده است. راه حل دیگر می‌تواند استفاده از الیگونوکلئوتیدهای ضد معنی (Antisense) یا پلاسمیدهای دارای ضد-معنی القاپذیر باشد.

نمونه دیگر بهره برداری بالینی، کشتن سلول‌های توموری با استفاده از سیستم Fas و Fasl است. شماری از سلول‌های سرطانی به ویژه تومورهای لنفویید، Fas را بیان می‌کنند. بنابراین، می‌توان با ارایه لیگاند Fasl به آنها، این سلول‌ها را از بین برد. اما نظر به این که درمان سیستمیک با Fasl آثار جانبی مضری در پی دارد، باید بتوان به کمک روش‌هایی، Fasl را تنها به بافت توموری تزریق کرد و یا کاری کرد که تنها در آنجا هدف‌گیری کند (۱،۴،۸،۱۴،۱۵،۱۸).

با عنایت به مطالب بالا، تردیدی نیست که طراحی پروتکل‌های درمانی برای تحریک آپوتوز در سلول‌های هدف و در راستای درمان سرطان در آینده، نقش اساسی ایفا خواهد کرد.

بازآموزی

منابع:

1. Hale, A.J.Smith.C. Sutherland, L.C. etal. Apoptosis:molecular regulation of cell death Eur.J.Biochem, **236**:1 - 26, 1996.

2. Korsmeyer, S.J.regulators of cell death. TIG. **11**:101 - 105, 1995.

3. Martin, S.J, Green, D.R. Protease activation during Apoptosis: death by a thousands cut? Cell **82**: 349 - 352 - 1995.

4. Saini, K.S, Walker N.I. Biochemical and molocular mechanims regulating apoptosis. Mol Cell Biochem, **179**:9 - 25, 1998.

5. Ameisen, J. C. The origin of porgrammed cell death. Scince, **212**:1278 - 1279: 1996.

6. Golestein, p. Controlling cell death, Science, **275**:1081 - 1082, 1997.

7. Hedge, R, Srinivasula, S. M, Ahmad, M.etal. BLK a BH3 - containing mouse protein that interact with bcl-2 and Bcl - xl is a potent death agonist. The J.biol. chemistry. **273**(14):7783 - 7786. 1998.

8. WhitE.life, Death and pursuit of Apoptosis. Genes 8.development. **10**: 1 - 15, 1996.

9. Gajewski, T. F Thompson. C.B.Apoptosis meet signal transduction: Elimination of a BAD influence. Cell, **87**:589 - 562, 1996.

10. Zamzami, N; Susin, S.A, MarchettiPetal. Mitochondrial control of Nuclear Apoptosis.j.Exp. Med. **183**:1533 - 1544, 1996.

11. Zamzami, N, Kroemer, G.Susin. S.A.Mitochondvial control of Apoptosis. Immunology today. **18**: 44 - 51, 1997.

12. Thompson, C.B.,A Fate worse than death, Natuer, **382**:492 - 493, 1996.

13. Raff, M.C; Social controls on cell Survival and cell death. Nature, **356**:397 - 400, 1992.

14. Rudin, C.M,. Thompson.C.B, Apoptosis and cancer, 1997.

15. Thompson, C.B.Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease, Science, **267**:1456 - 1462, 1995.

16. leist, M, Singl, B.Castold; A. etal. Intracellular adenosine triphosphate (ATP) concentration: A switch in the decision buween apoptosis and necrosis.J.Exp.Med. **185**: 1481 - 1486, 1997.

17. Nagata, S.Apoptosis by death factor. Cell. **88**:355 - 365 - 1997.

18. Vaux, D.L; haeker, G; An evlutionary perspective on apoptosis. Cell **76**: 777 - 779. 1994.