مقاومت دارویی و شیمی درمانی سرطان

شیوا نعمتی ، طاهره ولد بیگی: دانشگاه تهران، دانشکده علوم زیستی
دکتر مهران حبیبی رضایی: عهده‌دار مکاتبات

چکیده

مواد شیمیایی که با مداخله در عملکردهای بیولوژیکی به منظور درمان مورد استفاده قرار می‌گیرند را دارو می‌نامند. برخی از عوامل بیماری‌زا از جمله میکروارگانیسم‌ها و ... نسبت به موادی که آن‌ها را می‌کشند مقاومت ابراز می‌نمایند، این فرآیند را مقاومت دارویی Drug resistance می‌گویند. علت عمده عدم موفقیت شیمی درمانی در بسیاری از اشکال معمول سرطان بروز مقاومت در برابر داروهای ضدسرطان می‌باشد. این مقاومت ممکن است به‌علت افزایش میزان گلیکوپروتئین P170 باشد. Pgp به‌عنوان یک پمپ سلولی جهت دفع مواد سیتوتوکسیک به خارج از سلول عمل می‌کند و لذا سبب کاهش غلظت دارو در داخل سلول می‌شود. مقاومت دارویی یک مشکل اساسی در درمان سلول‌های سرطانی و عفونت‌هایی است که به وسیله میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شود. ژن کدکننده Pgp در انسان MDR1 نامیده می‌شود. این پروتئین عضو خانواده ABC transporterها بوده و معلوم شده که حدود ۱۲۸۰ باقیمانده اسید آمینه دارد. این پروتئین تراغشایی بوده و دارای دو دومین متشکل از ۶ مارپیچ آلفا در غشا است. مکانیسم احتمالی انتقال دارو توسط این پروتئین معرفی شده است.

■ دارو و مقاومت دارویی

هر ماده شیمیایی یا مخلوطی از ترکیبات شیمیایی را که با مداخله در عملکردهای بیولوژیکی به منظور درمان مورد استفاده قرار گرفته و موجب حفظ سلامتی می‌گردند را دارو می‌گویند. داروها تاثیرات خود را بر روی سیستم‌های بیوشیمیایی بافت‌های هدف در بدن، اعمال می‌نمایند و با اهداف درمانی خود در سیستم‌های شیمیایی که تحت شرایط بیماری القا شده‌اند، نقش اصلاح و ایجاد تعادل را بر عهده دارند. به این ترتیب داروها به طور اختصاصی با تداخل در فرآیندهای سلولی یا بیوشیمیایی خاص که اغلب، هدف (target) نامیده می‌شوند، عمل می‌کنند. به عنوان مثال آنزیمی که توسط دارو مهار می‌شود، یک «هدف دارویی» محسوب می‌شود. باید توجه داشته باشیم که داروهای موثر بر روی عوامل بیماری‌زا، علاوه بر ایجاد مسمومیت در عوامل بیماری‌زا باعث مسمومیت در میزبان نیز می‌شوند، که این دو رخداد با هم در رقابتند. سیاست درمان دارویی در جهت ایجاد اثرات سمی اختصاصی بر علیه عوامل و شرایط بیماری‌زا (جدول ۱) اتخاذ می‌گردد. در این راستا می‌بایستی مسمومیت ایجاد شده توسط دارو، در عوامل بیماری‌زا حداکثر و در عین حال در میزبان به حداقل ممکن برسد.

برخی از عوامل بیماری‌زا از جمله میکروارگانیسم‌هایی مانند باکتری‌ها، ویروس‌ها و مایکوپلاسماها طی فرآیند سازش متقابل، توانایی‌هایی در رشد و ایجاد تغییرات به دست می‌آورند که نسبت به داروهایی که

جدول ۱ ـ مسمومیت‌های اختصاصی ایجاد شده نسبت به عوامل بیماری‌زا توسط داروها

مسمومیت‌های اختصاصی بر علیه عوامل و شرایط بیماری‌زا
■ هدف واحد در انگل
■ تشخیص یا تمیز دادن بین اهداف انگل و میزبانی
■ برتری دادن اهداف انگلی به میزبانی
■ تجمع دارویی وسیع توسط انگل
■ فعالیت دارویی در انگل

به طور معمول آن‌ها را می‌کشند، مقاومت پیدا می‌کنند، این فرآیند را «مقاومت دارویی» می‌گویند. مقاومت دارویی نتیجه تغییرات سازشی میکروب‌ها در جهتی است که منجر به کاهش یا حذف میزان اثر دارو می‌گردد.

مقاومت دارویی در مورد ویروس‌ها وقتی اتفاق می‌افتد که مسیرهای مورد نیاز آن‌ها برای حفظ بقا در حضور داروهای کشنده فعال گردد. در زمینه مقاومت دارویی مقاومت متقاطع (Cross-resistance) نیز مطرح می‌شود، این پدیده زمانی اتفاق می‌افتد که مقاومت سلول (اعم از میکروب‌ها، مایکوپلاسماها، سلول‌های موجود زنده و ...) در برابر یک داروی خاص سبب ایجاد مقاومت آن در مقابل دو یا چند داروی دیگر نیز گردد.

علت عمده عدم موفقیت شیمی درمانی در بسیاری از اشکال معمول سرطان (مثل سرطان ریه، سرطان روده بزرگ و سرطان پستان) بروز مقاومت در برابر داروهای ضدسرطان می‌باشد. مقاومت به شیمی درمانی (شیمی درمانی مبتنی بر استفاده از داروها) ممکن است

هنگام تشخیص تومور و یا بعد از شیمی درمانی بروز پیدا کند. این دو شکل از مقاومت دارویی به ترتیب مقاومت ذاتی (intrinsic) و اکتسابی (acquired) نامیده می شوند. چگونگی و مکانیسم های دقیق انواع مقاومت های دارویی هنوز به روشنی تعیین نشده است. با این حال علل اصلی مقاومت دارویی به خوبی شناخته شده است که عبارتند از: مقدار دارو (doses) که سلول قادر به وفق دادن خود با آن باشد، تغییر در سینتیک دارو (pharmacokinetics) و محدود کردن نفوذ دارو به داخل سلول توموری. محدود کردن نفوذ دارو شاید به علت رگ زایی اندک (poor vascularization) یا نکروز بیش از حد در بخشی از تومور اتفاق بیفتد. این پدیده همچنین در بخشی از تومور در بدن که دست یابی به آن به علت وجود سدهای خونی ـ بافتی مشکل می باشد (برای مثال سد خونی ـ مغزی، خونی ـ بیضه ای و جفت) صورت می گیرد (شکل ۱).

یافته های تحقیقاتی حاکی از آن است که: عوامل دارویی ضدسرطان از طریق مداخله در فرآیندهای رشد و تکثیر سلول سرطانی عمل می کنند. تحقیقات مقاومت دارویی، صورت گرفته در دو دهه گذشته به طور اساسی بر روی مکانیسم های سلولی (یعنی واکنش هایی که سلول در برابر ورود یا خروج دارو از خود نشان می دهد) تمرکز یافته است. اگرچه مکانیسم های مزبور بسیار مهم تر از مکانیسم های فیزیکی (تغییراتی که تحت شرایط خاص محیطی القا می شود) یا مکانیسم های وابسته به دارو (تغییراتی که در ساختمان دارو و یا توسط دارو القا می گردد) هستند، اما بسیاری از واقعیت های مربوطه هنوز در هاله ای از ابهامند!

■ دسته بندی مکانیسم های مقاومت دارویی

مکانیسم های احتمالی که در فرآیند مقاومت دارویی دخالت دارند به شرح زیر می باشند:

۱ـ تبدیل دارو به شکل غیرفعال آن توسط یک آنزیم خاص (یعنی این که در سلول تحت استرس عوامل بیماری زا و دارو، آنزیم خاصی بیان می شود، که این آنزیم، شکل فعال دارو را به حالت غیرفعال در می آورد).

۲ـ تغییر مکان حساس به دارو، برای مثال استقرار پروتئین های مختلف در سطح سلول.

۳ـ افزایش ترشح دارو به خارج از سلول، یا کاهش ورود آن به داخل سلول.

۴ـ افزایش در تعداد سوبستراهای یک آنزیم برای ایجاد رقابت با دارو.

۵ـ تخریب دارو.

مطالعات گسترده ای روی مکانیسم های مهم مقاومت دارویی انجام شده است، که می توان آن ها را به «مکانیسم های مرتبط با عدم تغییر هدف» و نیز «مکانیسم های تغییر هدف دارو» به شرح زیر دسته بندی نمود:

از مکانیسم های مرتبط با عدم تغییر هدف می توان به مواردی از جمله مکانیسم های مرتبط با غلظت و فعالیت داروها به شرح زیر اشاره نمود:

الف ـ مقاومت توسط ایجاد محرومیت (یعنی فعالیت دارو محدود شود)

۱ـ از دست دادن مکانیسم تجمع دارویی (کاهش ورود به سلول)

۲ـ حذف مقادیر بیشتری از دارو یعنی افزایش خروج دارو از سلول (برای مثال مقاومت دارویی ایجاد شده در سلول های سرطانی)

ب ـ مقاومت ایجاد شده توسط مسیرهای متابولیکی

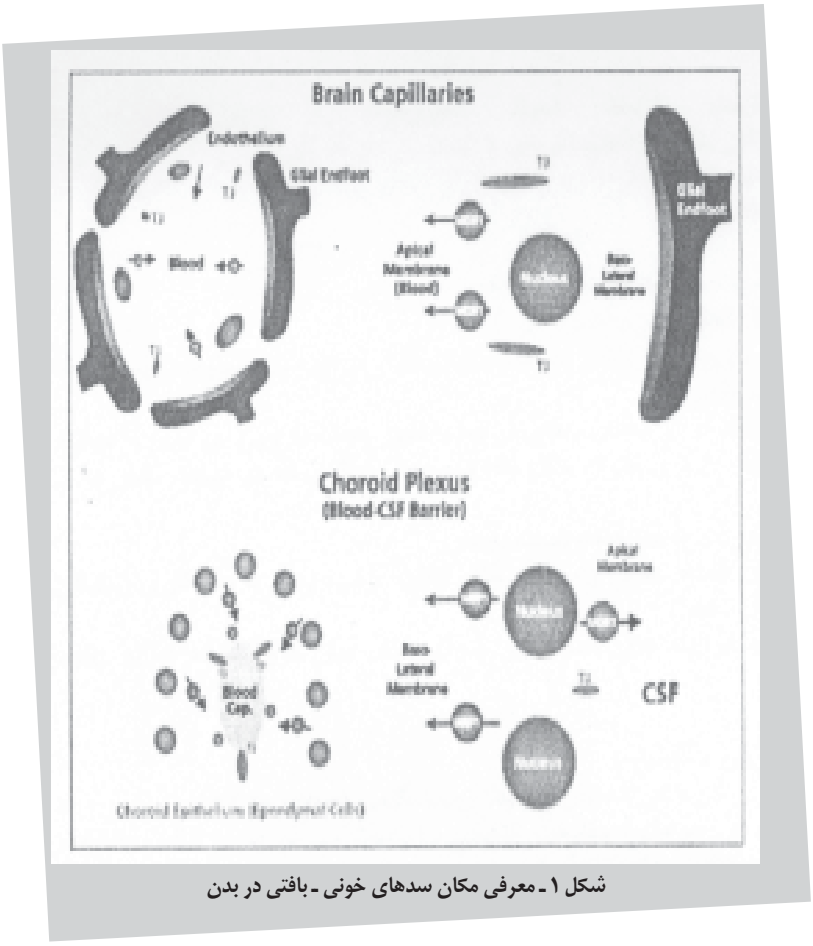
۱ـ تبدیل شکل فعال دارو به شکل غیرفعال آن

۲ـ تبدیل پیش داروهای بزرگ تر به اشکال فعال آن ها (برای مثال مقاومت ایجاد شده در برابر آنالوگ های پورینی در سلول های سرطانی)

از طرف دیگر از مکانیسم های مرتبط با تغییر هدف دارویی می توان به موارد زیر اشاره نمود:

الف ـ حذف هدف دارو (به عنوان مثال، القا مسیرهای دیگری که در نهایت منجر به از کار افتادن دارو در بدن می شود).

ب ـ ایجاد تغییر در تمایل هدف نسبت به دارو



شکل ۱ ـ معرفی مکان سدهای خونی ـ بافتی در بدن

ج ـ بیان فوق العاده هدف (به عنوان مثال تکثیر ژنی، یعنی با دستکاری ژنتیکی مقدار یک پروتئین هدف در سلول را افزایش دهیم).
د ـ تجمع متابولیت های ضد دارو (برای مثال بیان افزایش یافته پارا آمینو بنزوئیک اسید توسط پنوموکوکوس)

■ مقاومت دارویی سلولی

رده های سلولی سرطانی شده در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) قبل از خروج عوامل ضد سرطان، از طریق افزایش غلظت این عوامل، مقاومت انتخابی را به دست می‌آورند. با آنالیز رده های سلولی که در محیط کشت حاوی دارو با غلظت های تعدیل شده زنده می مانند، می توان تغییرات ایجاد شده در سطوح بیوشیمیایی و یا ژنتیکی را در آن ها شناسایی کرد.

غیر فعال سازی دارو یکی از مکانیسم هایی است که به خوبی مطالعه شده است، برای مثال یکی از نتایج حاصل از افزایش فعالیت گلوتاتیون ـ s ـ ترانسفراز، ایجاد مقاومت به عوامل آلکیله شده در سلول می باشد. از سوی دیگر کاهش مجموعه های گیرنده و دارو نیز به عنوان مکانیسم مقاومت دارویی گزارش شده است.

با استفاده از روش های زیر می توان تشکیل مجموعه های گیرنده ـ دارو را کاهش داد:
۱ ـ جابجایی یک اسید آمینه در آنزیم هدف (گیرنده دارو) موجب کاهش تمایل آنزیم به دارو می شود.
۲ ـ بیان فوق العاده آنزیم هدف، مهار کامل آن را غیر ممکن می سازد.
۳ ـ افزایش سطح غلظت سوبسترا و رقابت برتر آن با دارو برای اتصال آن به آنزیم هدف.
۴ ـ کاهش کلی سوبستراها، تشکیل مجموعه هدف ـ دارو را کاهش می دهد.

همچنین در برخی از موارد اصلاح آسیب هایی که به وسیله دارو ایجاد می شود و می تواند منجر به مقاومت گردد، مطرح است.

انواع مختلفی از تغییرات بیوشیمیایی که منجر به مقاومت دارویی می شوند در ارتباط با تغییرات ژنتیکی هستند. از جمله این تغییرات می توان جهش یا افزایش بیان ژن ها (amplification) در ایجاد مقاومت به داروهای خاص را نام برد. جهش می تواند منجر به کاهش بیان یک پروتئین و نیز سنتز یک پروتئین ناپایدار یا غیر فعال گردد. از طرف دیگر در نتیجه بروز جهش تولید پروتئینی با تمایل تغییر یافته به دارو (این امر اغلب توسط موتاسیون های نقطه ای ایجاد می شود) یا افزایش تولید یک پروتئین نرمال مشاهده می شود.

مکانیسم کاهش فعال شدن دارو در درون سلول از دیگر راهکارهای مرتبط با مقاومت دارویی است بسیار از داروهای آنتی متابولیت (5–flourouracil & citarabin) می بایستی به شکل فعال تبدیل شوند تا بتوانند اثرات سیتوتوکسیک خود را اعمال کنند. کاهش تبدیل آن ها به شکل نوکلئوزید یا نوکلئوتید در داخل سلول باعث مقاومت دارویی می شود.

مسیرها و مکانیسم های مختلف مقاومت دارویی برای شماری از داروها شرح داده شدند، اما برای آنتی متابولیت ها این مسیرها منحصر به فردند. بنابراین تعجب آور نیست که

تومورهای سرطانی می‌توانند تعداد زیادی مکانیسم‌های مقاومت به دارو را نسبت به یک داروی خاص ابراز نمایند. برای مثال مقاومت به آنتی‌متابولیت متوتروکسات می‌تواند ناشی از کاهش فعالیت سیستم انتقال غشایی باشد. تمام مکانیسم‌های قابل توجه ذکر شده در بالا در مرحله نخست در رده‌های سلولی انتخابی در شرایط آزمایشگاهی (*in vitro*) به اثبات رسیده است، در حالی که در مورد مکانیسم‌های مقاومت و تفاوت حساسیت به داروها در رده‌های سلولی غیرانتخابی اطلاعات اندکی در دست است.

■ مقاومت چند دارویی (resistance Multidrug) در شیمی درمانی سرطان

بعضی از سلول‌های توموری که مقاوم به گروهی از داروهای سیتوتوکسیک هستند به انواع دیگری از داروها که ارتباطی با داروهای شیمی درمانی ندارند نیز مقاومند. مقاومت چند دارویی ممکن است به علت افزایش میزان گلیکوپروتئین P170 باشد. این گلیکوپروتئین در سطح غشا سلول به‌عنوان یک پمپ سلولی جهت دفع مواد سیتوتوکسیک به خارج سلول عمل می‌کند و لذا سبب کاهش غلظت دارو در داخل سلول می‌شود. پیشرفت در زمینه مقاومت چند دارویی یک مشکل اساسی در درمان سلول‌های سرطانی و عفونت‌هایی است که به وسیله میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا ایجاد می‌شود. یکی از مکانیسم‌هایی که در سلول‌های انسانی و باکتری‌ها اتفاق می‌افتد بیان پروتئین‌های غشایی است که به‌صورت فعال موجب انتقال داروها به خارج از سلول می‌شود. از جمله می‌توان پروتئین‌های پروکاریوتی از قبیل: Cholate transporter، HorA، LmrA، LmrP را نام برد.

در حدود ۴۰ سال پیش پروتئین‌های خاصی شناسایی شدند که قادر به انتقال مواد از غشا پلاسمایی بر خلاف شیب غلظتشان بودند. این پروتئین‌ها برای انتقال مواد از غشا به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم وابسته به هیدرولیز ATP هستند. تعداد زیادی از مکانیسم‌های انتقال فعال شناخته شده‌اند. در غیاب داده‌های حاصل از کریستالوگرافی با اشعه X اطلاعات ساختاری مربوط به پروتئین‌های غشایی مورد نظر را می‌توان از اسپکتروسکوپی، میکروسکوپ‌های الکترونی، الگوریتم‌های پیش‌بینی کننده ساختارهای دوم پروتئین‌ها و جابجایی زیرواحدها، اپی‌توپ‌های نشاندار و مطالعه اتصالات عرضی سیستئین‌های موجود در ساختار این پروتئین‌ها به‌دست آورد. زیر رده بزرگی از پروتئین‌های ناقل غشایی تحت عنوان پروتئین‌های دارای بسته متصل شونده به ATP یا ABC (ATP binding cassette) شناخته شده‌اند. این خانواده یکی از بزرگ‌ترین گروه‌های پروتئینی تراغشایی (transmembrane) می‌باشد که طیف وسیعی از مواد مختلف را از غشا پلاسمایی سلول‌ها منتقل می‌کنند. بعضی از اعضای این پروتئین‌ها در ایجاد بیماری‌های قابل درمانی مثل سیستیک فایبروزیس نقش محوری دارند و برخی دیگر علت اصلی ایجاد مقاومت دارویی نسبت به داروهای ضدسرطان محسوب می‌شوند، که

گروه دوم متعلق به خانواده بزرگ ناقلین ABC (ABC transporter) است و در بین گونه های مختلف به شدت حفاظت شده است.

پدیده MDR، در انتقال فعال آنتراسایکلین ها و وینکا آلکالوییدها به بیرون از سلول های توموری موشی نخستین بار در سال ۱۹۷۳ توسط Keld معرفی شد. این انتقال را می توان با افزودن آنالوگ های سوبسترا که حساس کننده (sensitizer) یا تعدیل کننده (modulator) مواد شیمیایی نامیده می شوند، مهار کرد و بدین ترتیب مقاومت دارویی متوقف می شود.

Pgp (permeability glycoprotein) یک پروتئین ۱۷۰ کیلو دالتونی است که به صورت فسفریله و گلیکوزیله، در غشای پلاسمایی قرار دارد (البته این گلیکوزیلاسیون فقط در یک نقطه، آن هم در خارج سلول صورت گرفته است). این پروتئین متعلق به خانواده ABC است که از گروه پروتئین های انتقالی می باشند. این پروتئین برای اولین بار توسط Juliano و Ling در سال ۱۹۷۶ شناسایی شد و در سال ۱۹۸۶ با موفقیت کلون گردید.

انسان دارای دو ژن MDR تحت عناوین MDR1 و MDR3 (که MDR2 هم نامیده می شود) می باشد. معلوم شده است که پروتئین Pgp یک پروتئین تراغشایی است که از ۱۲۸۰ اسید آمینه تشکیل شده است و متعلق به ژن MDR1 می باشد. برای داشتن یک تصور ذهنی و علمی درست از ساختار سه بعدی این پروتئین در سلول دو مدل علمی پیشنهاد شده است:

۱ـ مدلی که بر اساس آن این پروتئین متشکل از ۱۲ مارپیچ آلفا تشکیل شده که استقرار آن ها در غشا پلاسمایی به صورت حلقوی با مجرای بین مارپیچ ها است.

۲ـ مدلی که بر اساس آن پروتئین از دو بخش همولوگ هر کدام با ۶ مارپیچ آلفا (به صورت ۶ + ۶) تشکیل شده است. هر بخش هومولوگ از این ساختار متشکل از ۶۱۰ ریشه اسید آمینه است که به صورت تصویر آینه ای در روبروی هم قرار گرفته و توسط یک ناحیه دارای انعطاف به هم متصل شده اند ناحیه متصل کننده خود از ۶۰ ریشه اسید آمینه تشکیل شده است. هر نیمه از این پروتئین دارای یک بخش پایانه آمین آبگریز است و از شش مارپیچ آبگریز که از غشا می گذرند تشکیل شده است در ضمن هر نیمه دارای یک بخش آبدوست متصل شونده به ATP تحت عنوان ناحیه متصل شونده به نوکلئوتید یا NBD (Nucleotide Binding Domain) است. همچنین این نواحی دارای فعالیت ATPase هستند. اگرچه این دو جایگاه متصل شونده به ATP از نظر عملکرد مشابه هم هستند ولی کاملاً مستقل از هم عمل می کنند. هر کدام از این جایگاه ها دارای سه ناحیه حفاظت شده تحت عناوین موتیف های والکر (A, B, C motifs Walker) می باشند (شکل ۲).

زمانی که چنین ساختاری در غشا پلاسمایی مورد مشاهده قرار گرفت مشخص شد که این پروتئین به صورت کانالی با قطر ۱۰ نانومتر در غشا مستقر شده است. این پروتئین دارای یک حفره مرکزی به قطر ۵ نانومتر بوده و ضخامت آن در صفحه غشای پلاسمایی حدود ۸ نانومتر

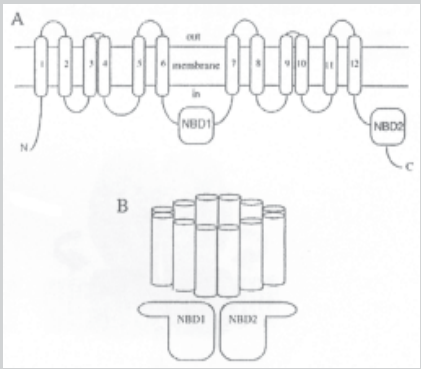
پی در پی ۱۸۹/ ۷۳۰

می‌باشد. از آنجایی که دو لایه غشای پلاسمایی در کل ۴ نانومتر عمق دارد حدود نیمی از پروتئین در بیرون از غشا واقع شده است. سوراخ مرکزی در سمت سیتوپلاسمی بسته بوده و در نتیجه به شکل محفظه مایعی است که به سمت فضای خارج سلولی باز می‌شود (شکل ۲B).

■ مکانیسم‌های احتمالی انتقال دارو توسط Pgp

بر اساس داده‌های به‌دست آمده از منابع معتبر Pgp به‌عنوان یک پمپ تراغشایی عمل می‌کند؛ به این صورت که داروهای وارد شده به سلول را به خارج هدایت می‌کند. هیدرولیز ATP انرژی لازم برای انتقال فعال دارو بر خلاف شیب غلظت آن را فراهم می‌آورد. از اولین فرضیاتی که در این زمینه مطرح شده است این است که اشکال مختلف Pgp یک مسیر آبدوست را فراهم می‌کنند که از طریق آن داروهایی که باید از سیتوپلاسم به فضای بین سلولی منتقل شوند از حفره مرکزی عبور می‌کنند.

بر اساس مکانیسم پیشنهادی دیگر مساله‌ای که بیشتر مطرح می‌شود این است که Pgp مانع عبور دارو از میان غشا لیپیدی می‌شود و دارو از نیم لایه پایینی غشا پلاسمایی به نیم لایه بالا غشا منتقل می‌شود (flipase) و بدین ترتیب وارد فضای خارج سلولی می‌گردد. از طرف دیگر بعضی مطالعات مدلی را ارایه می‌دهند که در آن یک یا چند ناحیه اتصال (binding site)، با سوبسترای دارویی یا مواد مشابه سوبسترا



شکل ۲ ـ A) شمای کلی ساختمان Pgp در غشای پلاسمایی B) نحوه قراگیری این پروتئین در غشا. NBD: دمین متصل شونده به نوکلئوتید (domaine (Nucleotid binding

واکنش می‌دهند. مولکول‌هایی که با Pgp واکنش می‌دهند ممکن است به‌عنوان سوبسترای دارویی Pgp و یا آنتاگونیست دارو طبقه‌بندی شوند. ترکیبات موجود در گروه سوبسترا که بیشتر از چهار بار از غشا عبور کرده‌اند در سم‌زدایی MDR سلول‌ها وارد عمل می‌شوند.

بر اساس مکانیسم پیشنهادی دیگر Pgp یک پروتئین تک زیر واحدی است که دارای دو جایگاه اتصال برای نوکلئوتیدها (NBD2، NBD1) است. این جایگاه‌ها به‌طور اختصاصی به ATP متصل می‌شوند، Pgp همچنین دارای دو ناحیه تراغشایی تحت عناوین TM2، TM1 می‌باشد که به (NBD ها) binding site متصل‌اند (شکل ۳).

در سمت چپ شکل، داروهای واجد ویژگی آبگریزی (دایره‌های) قبل از این که از حد فاصل درون غشا به سمت سیتوپلاسم بچرخند، از نیم لایه درونی جدا شده و وارد سلول

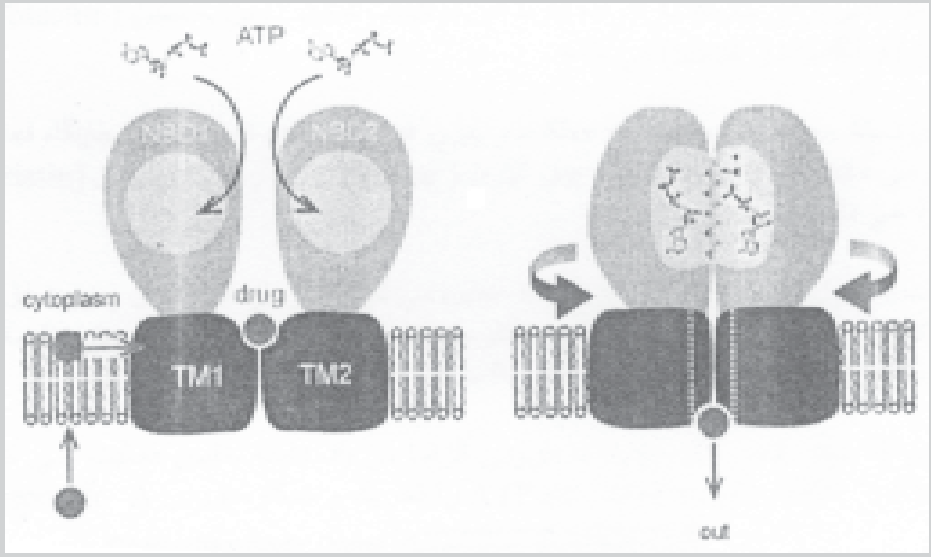
می شوند. داروهای متصل شده به بخش تراغشایی، هیدرولیز ATP را در ناحیه NBD تحریک می کنند و این انرژی صرف انتقال دارو به بیرون از سلول می شود.

یکی دیگر از مکانیسم های ممکن برای ایجاد مقاومت توسط Pgp در برابر شیمی درمانی مبتنی بر نوآرایی ژن آن است. این نوآرایی منجر به بیان بیش از حد Pgp در سلول های سرطانی می شود. تخلیص و احیای Pgp فعال از تخمدان هامستر چینی که نسبت به داروهای ضدسرطان مقاوم شده و بیانش بالا رفته است، نشان می دهد که تحت این شرایط میزان Pgp حدود ۳ درصد بیشتر از کل پروتئین های غشایی می باشد.

■ Pgp به عنوان یک ATPase

برای درک صحیح چگونگی عملکرد Pgp، ابتدا باید چگونگی جفت شدن این پروتئین با فرآیند هیدرولیز ATP که در انتقال داروها الزامی است به خوبی درک شود. جفت شدن فرآیندهای مزبور، تغییرات ساختاری گذرا در پروتئین را در پی دارد، که تمایل بر همکنش مابین ناحیه اتصال دارو و ناحیه اتصال نوکلئوتیدها را بالا می برد. فعالیت ATPase در Pgp، در حضور سوبستراهای مختلف و شیمیوسنتز کننده ها، رابطه میان اتصال دارو و هیدرولیز ATP کاملاً روشن می شود.

بر اساس مطالعات اخیر که بر روی سلول های مقاوم شده به چند دارو صورت گرفته است،



شکل ۳ ـ مکانیسم پیشنهادی برای انتقال دارو توسط Pgp

پی در پی ۱۸۹/ ۷۳۲

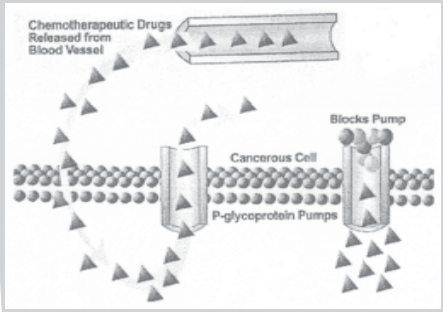
اتصال ATP، به حضور غلظت کمی از دوناروبیسین (Daunorubicin) درون سلولی، بستگی دارد. مطالعات متعددی در مورد محرک های فعالیت ATPase در سطوح پایه در حضور سوبستراهای منتقل شده صورت گرفته است. در این مطالعات از غشاهای مشتق از سلول های رده Sf9 با ویژگی بیان MDR1 (MDR1 – expressing)، سلول های توموری شکمی Ehrich، سلول های تخمدانی هامستر چینی و همچنین وزیکول های غشایی محتوی Pgp، استفاده می شود.

محرک های فعالیت ATPase در پروتئین Pgp در سه گروه دسته بندی شده اند:

گروه I: دسته ای از ترکیبات در غلظت پایین محرک فعالیت ATPase هستند و در غلظت های بالا مانع این فعالیت می شوند. آنالیز سینتیکی نشان می دهد که این دسته از ترکیبات تمایل بالایی برای جایگاه فعال آنزیم دارند و در عین حال تمایل کمی برای جایگاه بازدارنده دارند، این ترکیبات شامل: وین بلاستین (vinblastin)، وراپامیل (verapamil) و تاکسول (taxol) می باشند.

گروه II: ترکیبات این دسته، در مقدار وابسته به عملکرد و بدون هیچ بازدارنده ای و فقط طی برهم کنش با جایگاه فعال آنزیم روی فعالیت ATPase تاثیر می گذارند. این ترکیبات شامل: بیس آنترن (bisantrene)، وین کریستین (vincristin) و دیلتیازم (diltizam) می باشند.

گروه III: این ترکیبات با تمایل بالایی به جایگاه بازدارنده متصل می شوند. این دسته از ترکیبات شامل: سیکلوسپورین A (cyclosporine A)، راپامایسین (Rapamycin) و گرمیسیدین D (Gramicidin D) می باشند.



شکل ۴ ـ مکانیسم مهار پمپ Pgp

باید توجه داشته باشیم که مهارکننده های مقاومت دارویی الزماً در یک دامنه خاص فعالیت نمی کنند مثلاً ورپامایل (verapamil) در غلظت های بالا فعالیت ATPase را تحریک و سیکلوسپورین A (cyclosporine A) در غلظت های پایین فعالیت ATPase را مهار می کند. مکانیسم کلی مهار پمپ Pgp را در شکل ۴ ببینید.

Shapiro و همکارانش با مطالعاتی که انجام دادند به این نتیجه رسیدند که Pgp سه جایگاه برای اتصال به داروها دارد. به نظر می رسد که دو تا از آن ها شامل یک ناقل دارویی هستند، که سوبسترا به یکی از آن ها متصل شده و انتقال توسط دیگری تحریک می شود، جایگاه H برای Hoechst ۳۳۳۴۲ و کلشی سین اختصاصی عمل می کند و جایگاه R برای رودامین ۱۲۳ و آنتراسایکلین ها اختصاصی عمل می کند و سایت سوم شبیه دوتای دیگر

جدول ۲ ـ موقعیت و عملکرد Pgp

بافت / ارگان	مکان	عملکرد
روده ■ **کولون** ■ **ژژنوم**	سطوح راسی (لومینال) سلول‌های استوانه‌ای اپیتلیال سطحی	دفع روده‌ای و جذب کاهش یافته داروها و سموم
کبد و سیستم صفراوی	هپاتوسیت‌های بخش قدامی کانال‌های صفراوی سطوح راسی (لومینال) سلول‌های اپیتلیال مجراهای کوچک صفراوی	دفع کبدی ـ صفراوی داروها و سموم
	هپاتوسیت‌ها	تنظیم بیان سیتوکروم‌ها
پانکراس	سطوح راسی سلول‌های اپیتلیال مجراهای کوچک	نامعلوم
کلیه	سطوح راسی سلول‌های اپیتلیال لوله‌های مجاور نزدیک	نامعلوم
مغز	سطوح لومینال سلول‌های اندوتلیال مویرگ‌های مغزی مربوط به سد خونی ـ مغزی	نگهداری داروها و سموم بیرون از مغز
اعصاب محیطی	سطوح اندوتلیال مویرگ‌های مخچه، شبکه‌های کوروئیدی	مربوط به سدهای خون ـ عصب، داروها و سموم را بیرون از اعصاب نگهداری می‌کنند
رحم	سلول‌های اپیتلیال جفت مشتق از سلول‌های جنینی، سلول‌های مولد استرویید (غده‌های درون‌ریز)	مربوط به سدهای خون ـ عصب، داروها و سموم را بیرون از گنادها نگه می‌دارند نامعلوم، ممکن است استرویید تولید کنند
بیضه و تخمدان	سلول‌های اندوتلیال مویرگی	مربوط به سد خونی ـ تخمدان / بیضه‌ای، نگهداشتن داروها و سموم دور از غدد جنسی
سیستم دفاعی (ایمنی)	سلول‌های دندریتیکی پوستی	مهاجرت سلول‌های دندریتیکی به غدد لنفاوی
	لنفوسیت‌های فعال‌شده	انتقال بعضی از سیتوکین‌ها (خصوصاً اینترلوکین ۴ و ۲ و ۱ و اینترفرون γ) به بیرون از سلول
	سلول‌های کشنده طبیعی و سلول‌های T سم‌زدا $CD8^+$	فعالیت سیتولیتیک کاهش یافته
مغز قرمز استخوان	سلول‌های بنیادی هماتوپوئیتیک	ممکن است داروها و سموم را از مغز استخوان خارج سازد.
غده آدرنال	کورتکس و مودولا	نامعلوم، دارای نقش احتمالی در تولید استرویید
سرخرگ‌های بزرگ	اندوتلیال	نامعلوم، نقش احتمالی در تجمع استرکلسترول درون سلولی در آسیب‌های اترواسکلروسیز

است ولی توانایی انتقال دارو را ندارد. با این وجود Pgp در بافت های معرفی شده در جدول شماره ۲ یافت می شود.

■ کلام آخر

مقاومت دارویی از موضوعات محوری در بحث درمان سرطان محسوب می گردد. مکانیسم های درگیر در این فرآیند بیولوژیک مورد توجه محققان بوده و از آن جمله مکانیسم مرتبط با عملکرد گلیکوپروتئین مسئول نفوذ پذیری غشا سلول به دارو (Pgp) در سال های اخیر مورد تاکید قرار گرفته است. تامین شناخت و آگاهی کافی از خصوصیات ساختاری و عملکردی Pgp نویدبخش اتخاذ سیاست های درمانی معطوف مهار Pgp همراه با تجویز داروهای ضدسرطان خواهد بود.

منابع

1. Litman T. Druley TE. Stein DW. Bates ES. New understanding of multidrug resistance systems, their properties and clinical significance. *Cell Mol Life* Sci. 2001; **58:** 931-959.

2. Peter M. Symmetry and structure in P-glycoprotein and ABC transporters. *Euro J Biochem.* 2000; **267:** 5298.

3. Delph Y. P-glycoprotein and HIV. *GMHC Treat.* 2002; **16:** 11-22.

4. Giuseppe G. Pinnedo HM. Drug Resistance. Department of Medical Oncology, Free university Hospital. *Oncology.* 1996; **1:** 82-87.

5. Hendrik KW. The homodimeric ATP binding cassette transporter LmrA mediate multidrug transport. *EMBO J.* 2002; **19:** 2503-2514.

6. Higgins CF. Mechanisms of Drug Action and Resistance. *Biomembranes.* 1995; **27:** 63-77.

7. Zheleznova. A structure based mechanism for drug binding by multidrug transporters. *Trend Biochem Sci.* 2000; **25:** 39-51.