نقش استاتین‌ها در مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی

دکتر محسن رضایی[1]، لیلا زیدونی[2]

۱. گروه سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه جندی شاپور اهواز

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی دانشکده داروسازی دانشگاه جندی شاپور اهواز

خلاصه

مرگ برنامه‌ریزی شده سلول یک فرآیند فیزیولوژیک ضروری برای حذف سلول‌های آسیب دیده می‌باشد. هرگونه اختلال در عملکرد آپوپتوز منجر به گسترش تومور می‌شود. شناسایی عوامل جدیدی که باعث القای آپوپتوز درسلول‌های تومور می‌شوند، اهمیت زیادی در درمان سرطان‌ها دارند.استاتین‌ها اغلب برای پایین آوردن کلسترول خون و کاهش مرگ و میر در بیماران قلبی تجویز می‌شوند و اثرات سودمندی مستقل از اثرشان در کاهش کلسترول خون نشان می‌دهند. بررسی‌ها نشان می‌دهد که استاتین‌ها اثرات ضدسرطان در برخی تومورها از خود نشان می‌دهند. این مقاله به بررسی تاثیرات استاتین‌ها بر القای مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌پردازد.

واژگان کلیدی: آپوپتوز، سرطان، استاتین‌ها، میتوکندری

■ مقدمه

آپوپتوز یکی از شکل‌های مرگ سلولی است که از نظر بیولوژیکی اهمیت فراوان دارد. آپوپتوز در بسیاری از فرآیندهای طبیعی و فیزیولوژیک بدن شامل تکامل، هموستاز، تنظیم سیستم ایمنی و حذف سلول‌های آسیب دیده و مضر نقش دارد. در طول فرآیندهای تکاملی مثل تشکیل انگشتان حذف سلول‌های بافت مزانشیم بین انگشت‌ها به واسطه آپوپتوز اتفاق می‌افتد و در مراحل اولیه تکامل بافت عصبی حدود ۵۰ درصد نورون‌ها دچار مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی می‌شوند. هم‌چنین تشکیل ساختارهای میان‌تهی و حفره‌مانند نیازمند حذف آپوپتوتیک سلول‌های اضافه می‌باشد. در طول تکامل دستگاه تناسلی، حذف اندام‌های تناسلی زنانه و اندام‌های تناسلی مردانه در جنس مخالف از طریق آپوپتوز صورت می‌گیرد. هم‌چنین آپوپتوز از طریق تنظیم سیستم ایمنی در حفظ هموستاز بدن نقش دارد. روزانه میلیون‌ها لنفوسیت B و T در سیستم ایمنی تولید می‌شوند که ۹۵ درصد آن‌ها از طریق آپوپتوز از بین می‌روند. سلول‌هایی که DNA آن‌ها صدمه دیده و ترمیم نشده، سلول‌های آلوده به ویروس، سلول‌هایی که دچار رشد و تکثیر خارج از کنترل شده‌اند و سلول‌های سیستم ایمنی که سبب واکنش‌های خود ایمنی می‌شوند، همه از طریق آپوپتوز حذف می‌شوند. هرگونه انحراف درتنظیم آپوپتوز منجر به بیماری‌های خودایمنی و سرطان می‌شود.

اغلب یافته‌ها در مورد مکانیسم‌های مولکولی تنظیم‌کننده آپوپتوز از مطالعات ژنتیکی با استفاده از کرم الگانس از خانواده نماتودها حاصل شده است. ژن‌های متعددی در این‌گونه شناسایی شده‌اند که در مرگ آپوپتوتیک و حذف سلول‌های سوماتیک نقش دارند. مسیر آپوپتوز درکرم الگانس بسیار ساده و دارای اساس مشابه با ارگانیسم‌های بالاتر می‌باشد و مولکول‌های شرکت‌کننده در این مسیر با همولوگ‌های ساختاری خود در رده‌های بالای جانوری منطبق هستند. فرآیند آپوپتوز در کرم الگانس با فعال شدن سیستئین پروتئاز ced-3 (مشابه کاسپازها) و الیگومر شدن آن با پروتئین فعال‌کننده ced-4 (Apaf-1) صورت می‌گیرد. فعالیت کمپلکس ced-4 /ced-3 توسط ced-9 (مشابه پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز خانواده Bc-l2) و egl-1 (مشابه پروتئین‌های پروآپوپتوتیک خانواده Bc-l2) تنظیم می‌شود.

واقعه اصلی در آپوپتوز شکستن سوبستراهای سلولی در اثر فعالیت پروتئولیتیک کاسپازهای فعال شده می‌باشد. بیش از ۱۰۰ پروتئین در فرآیند آپوپتوز توسط کاسپازها شکسته می‌شوند که شامل پروتئین‌های لازم برای همانندسازی، رونویسی و ترجمه DNA، پروتئین‌های اسکلت سلولی، کینازها و فسفاتازها می‌باشند. تخریب پروتئین‌های اسکلت سلولی موجب می‌شود سلول قادر به حفظ شکل خود نباشد و مرگ سلولی اتفاق می‌افتد و در صورت غیرفعال شدن سیستم همانندسازی و رونویسی و ترجمه توسط کاسپازها سلول قادر به ادامه بقا نخواهد بود. بنابراین، فعال‌سازی کاسپازها یک نقطه کلیدی در مسیر آپوپتوز است و به‌دنبال فعال شدن آن‌ها سلول از راه‌های گوناگون از بین می‌رود.

آپوپتوز دو مسیر سیگنالی آبشاری مهم به نام مسیر داخلی (مسیر آپوپتوزوم یا میتوکندریایی)و

مسیر خارجی (مسیر گیرنده یا DR) دارد که هر دو آن‌ها با فعال کردن کاسپازها، منجر به شکستن زیرساخت‌های داخل سلولی می‌شود.

■ کاسپازها

کاسپازها جزء خانواده سیستئین پروتئاز هستند که نقش محوری در شروع و فاز اجرایی آپوپتوز ایفا می‌نمایند و همولوگ ced-3 درکرم الگانس می‌باشند. به‌دنبال فعال شدن، این آنزیم‌ها روی سوبستراهای خاصی عمل و تغییرات بیوشیمیایی و مورفولوژیک در سلول آپوپتوتیک ایجاد می‌نمایند. خانواده کاسپازها در پستانداران دارای ۱۴ عضو است. این آنزیم‌ها به‌طور پیوسته به‌صورت پروآنزیم در تمام سلول‌ها ساخته می‌شوند و به فرم غیرفعال در سلول حضور داشته و در پاسخ به محرک‌های پروآپوپتوتیک فعال می‌شوند و طی روندی آبشاری منجر به فعال شدن کاسپازهای دیگر می‌گردند. تمام کاسپازها دو مشخصه مهم مشترک دارند، اول این‌که سیستئین پروتئاز هستند و در جایگاه فعال خود دارای اسیدآمینه سیستئین می‌باشند، دوم این‌که عملکرد این پروتئین‌ها نسبت به توالی چهار اسید آمینه بعد از آسپارتات اختصاصی است و پروتئین‌ها را از سمت انتهای کربوکسیل اسید آمینه آسپارتات می‌شکنند. ساختار اصلی همه کاسپازها متشکل از یک زیرواحد کوچک و زیرواحد بزرگ می‌باشد. جایگاه فعال این پروتئازها از کنار هم قرار گرفتن زیر واحدهای بزرگ و کوچک دو مولکول کاسپاز تشکیل می‌شود.

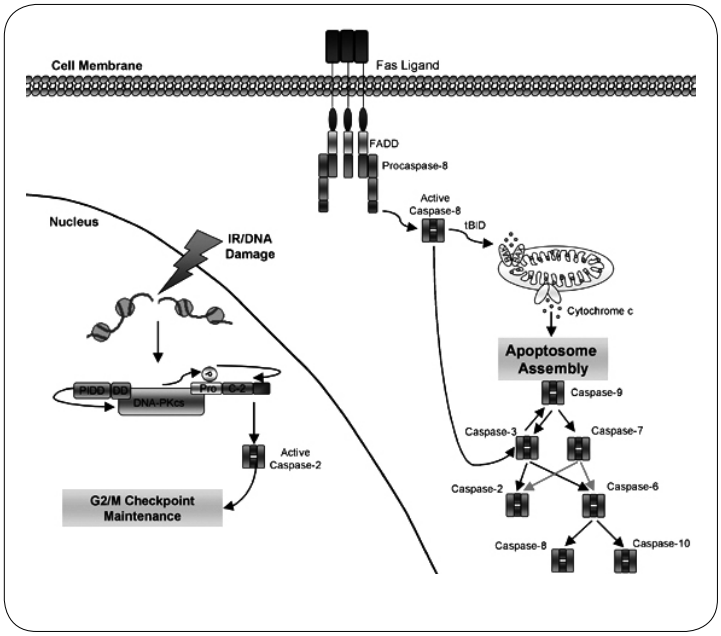
کاسپازها بر اساس عملکرد به سه گروه طبقه‌بندی می‌شوند:

■ کاسپازهای آغازگر: شامل کاسپازهای ۲–۸–۹–۱۰ می‌باشند و در مراحل آغازین آپوپتوز ایفای نقش می‌کنند. علاوه بر زیر واحدهای کوچک و بزرگ، دارای ناحیه موثر مرگ (کاسپازهای ۸–۱۰) و گروهی دیگر دارای ناحیه فراخوان کاسپازها (کاسپازهای۲ و۹) هستند. این نواحی دارای خاصیت هومو افینیتی بوده و باعث اتصال پروتئین‌های دارنده این نواحی به یکدیگر می‌شوند.

■ کاسپازهای اجرایی: شامل کاسپازهای ۳–۶–۷ که در اثر فعالیت‌های پروتئولیتیک کاسپازهای آغازگر فعال شده و با تاثیر بر روی پروتئین‌های مختلف سلولی باعث بروز تغییرات مورفولوژیک آپوپتوز می‌گردند. از آن‌جایی که این کاسپازها برای انجام عمل خود نیاز به تجمع ندارند، بنابراین، فاقد مناطق گروه اول هستند.

■ کاسپازهای التهابی: شامل بقیه کاسپازها که نقش ان‌ها در آپوپتوز شناخته نشده و در تبدیل پیش‌سازهای سایتوکین‌ها به فرم فعال نقش دارند. از جمله کاسپاز ۱ که در تبدیل انترلوکین ۱ و ۸ به فرم فعال ایفای نقش می‌کند. ساختار و طبقه‌بندی کاسپازها در (شکل ۱ و ۲) نشان داده شده است.

تاکنون بیش از ۱۰۰ نوع از سوبستراهای کاسپاز شناخته شده است و مرتبا سوبستراهای جدیدی به این تعداد اضافه می‌شود. این سوبستراها پروتئین‌هایی هستند که اعمال مختلفی را انجام می‌دهند و دارای ریشه آسپارتات در ساختار خود هستند که توسط کاسپاز کاتالیز می‌شوند. تخریب این پروتئین‌ها در اغلب موارد منجر به غیرفعال شدن آن‌ها و یا فعال شدن پروتئین‌های هدف می‌گردد. در میان پروتئین‌هایی که کاتالیز آن‌ها



شکل ۱ ـ مسیر خارجی آپوپتوز

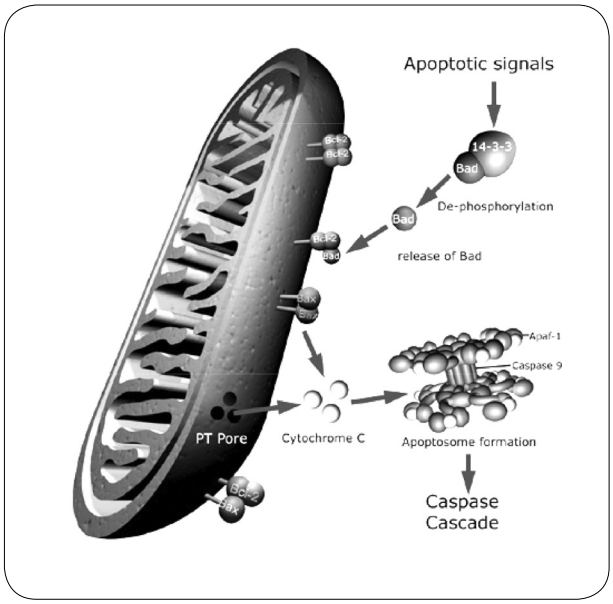
توسط کاسپاز منجر به غیرفعال شدن آن‌ها می‌شود می‌توان از پروتئین‌های اسکلت سلولی نظیر لامین، آلفا فودرین و اکتین نام برد.

■ مسیرخارجی آپوپتوز

مسیر خارجی که با درگیر شدن اعضای خانواده گیرنده‌های فاکتور نکروزدهنده تومور (TNF) که خانواده گیرنده‌های مرگ نامیده می‌شوند، فعال می‌گردد. گیرنده‌های مرگ متعلق به خانواده گیرنده فاکتور نکروزدهنده تومور می‌باشند. زمانی که این گیرنده‌ها توسط لیگاندهای مربوط تحریک می‌شوند سبب فعال شدن کاسپازها و القای آپوپتوز می‌گردند. ویژگی پروتئین‌های این خانواده داشتن دامنه‌های غنی از سیستئین در بخش خارج سلولی است که از این طریق لیگاند اختصاصی خود را می‌شناسند. تعداد این دامنه‌ها در پروتئین‌های مختلف این خانواده از یک تا شش متغیر است. این گیرنده‌ها در بخش سیتوپلاسمی خود دارای توالی به نام ناحیه مرگ می‌باشند و از این‌رو، در انتقال پیام آپوپتوزی به درون سلول شرکت می‌نمایند. تاکنون حدود بیست پروتئین از این خانواده شناسایی شده‌اند که همگی به جز دو مورد در تنظیم پاسخ‌های ایمنی نقش دارند. شناخته‌ترین گیرنده‌های مرگ عبارتند از:

Fas- TNFR1- DR3- DR4- DR5-DR6-
CAR1-P57

مدل اولیه گیرنده مرگ FAS است که به‌دنبال



شکل ۲ ـ مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز

آن کاسپاز ۸ فعال شده بعد از ورود به سیتوزول آبشار کاسپازها شامل کاسپاز ۳ – ۶ – ۷ را به راه می‌اندازد و باعث مرگ سلولی می‌شود.

باند شدن لیگاند FAS به FAS باعث الیگومره شدن کاسپاز ۸ با واسطه مولکول آداپتور FADD می‌شود. کاسپاز ۸ فعال شده باعث عمل پروتئولیک روی کاسپاز ۳ گردیده و آن را فعال می‌کند. از طرف دیگر، کاسپاز ۸ مسیر میتوکندریایی آپوپتوز را با شکستن Bid و تبدیل آن به tBid شروع می‌کند که باعث ترشح سیتوکروم C از میتوکندری و در نهایت تشکیل آپوپتوزوم می‌شود که در نتیجه کاسپاز ۹ فعال شده، باعث به راه انداختن فعالیت آبشاری کاسپازها با کمک کاسپازهای اجرایی ۳ و ۷ می‌گردد. کاسپاز ۷ فعالیت آبشاری کاسپازها را بدون کاسپاز ۳ هم می‌تواند به راه بیاندازد.

اتصال لیگاندهای مربوط به گیرنده‌های مرگ منجر به تریمریزاسیون این گیرنده‌ها و تشکیل کمپلکس علامت‌دهنده القای مرگ (DISC) می‌گردد. تجمع گیرنده‌های مرگ در سطح غشا موجب حرکت پروتئین‌های آداپتور نظیر FADD (حوزه مرگ مرتبط با Fas) به سمت غشا و اتصال آن‌ها به ناحیه مرگ گیرنده می‌شود. FADD از ناحیه C ـ ترمینال به بخش سیتوپلاسمی گیرنده مرگ و از ناحیه N ـ ترمینال به پروکاسپازهای آغازگر متصل می‌شود. به این طریق پروکاسپازهای آغازگر در اثر واکنش اتوپروتئولیتیک، به کاسپاز فعال

تبدیل شده و سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی می‌شوند. به کمپلکس تشکیل شده (مجموعه لیگاند ـ گیرنده مرگ ـ مولکول آداپتور ـ پروکاسپاز آغازگر) کمپلکس علامت‌دهنده القای مرگ (DISC) گفته می‌شود.

نقش کاسپاز ۲ در مرگ سلولی یک معما است. کاسپاز ۲ ضرورتا همیشه در طول فرآیند آپوپتوز وجود دارد. فقدان ژن کاسپاز ۲ در مایس باعث نقص در کنترل مرگ سلولی شد. یک مسیر جدید فعالیت کاسپاز ۲ در پاسخ به آسیب DNA است که منجر به توقف چرخه سلولی می‌شود. آسیب DNA منجر به فعالیت کیناز DNA-PKcs می‌شودکه این کیناز باعث فسفوریله فعال شدن کاسپاز ۲ می‌گردد. فعالیت کیناز DNA-PKcs با PIDD بالا می‌رود که باعث پیداشدن یک کمپلکس سه قسمتی با کاسپاز ۲ و DNA-PKcs می‌شود.

موادی که به DNA آسیب می‌رسانند مثل اتوپوزید (داروی نیمه صناعی مشتق از پودوفیلوتوکسین که در درمان تومورهای بیضه و کارسینوم سلول کوچک ریه به‌کار می‌رود) باعث فعال شدن کاسپاز ۲ می‌شوند. وقتی DNA در طول چرخه سلولی آسیب می‌بیند، تقسیم سلولی متوقف می‌شود تاDNA تعمیرشود، کاسپاز ۲ فعال شده، DNAآسیب‌دیده در مرحله G2/M را با واسطه مکانیسمی که هنوز مشخص نیست، بازرسی می‌کند.

سلول‌های فاقد کاسپاز ۲ در چک کردن DNAآسیب‌دیده دچار نقص هستند. هم‌چنین سلول‌هایی که فاقد ژن Bid هستند، در ارزیابی DNA آسیب‌دیده دچار نقص هستند. پس، کاسپاز ۲ وBid با هم در ارزیابی DNA آسیب دیده نقش دارند. شاید Bid شکسته شده باعث توقف چرخه سلولی شود، هر چند تا به حال مبهم باقی مانده است. کاسپاز ۲ نقش مهمی در چرخه سلولی دارد سلول‌هایی که فاقد کاسپاز ۲ هستند، در آن‌ها پرولیفراسیون سلول‌ها سریع‌تر، تغییر شکل سلول‌ها به‌وسیله آنکوژن Ras/E1A و تشکیل تومورهای مهاجم زیاد است، پس به‌نظر می‌رسد که کاسپاز ۲ یک پروتئین سرکوبگر تومور است که در کنترل چرخه سلولی همکاری دارد.

■ مسیرداخلی آپوپتوز

مسیر داخلی آپوپتوز در اثر فقدان سیتوکین‌ها آسیب DNA، نبود فاکتور رشد، شوک گرمایی اشعه‌های یونیزان، استرس‌های سیتوتوکسیک و هورمون‌های گلوکوکورتیکوییدی اتفاق می‌افتدکه عامل اصلی آن تحریک رسپتورنیست اما می‌تواند با گیرنده‌های مرگ هم فعال شود.

میتوکندری از اندامک‌های مهم درون سلولی است که هم در حیات و هم در مرگ سلولی نقش دارد. ساختمان میتوکندری شامل ماتریکس غشای داخلی، فضای بین غشایی و غشای خارجی می‌باشد. غشای داخلی حاوی مولکول‌های متنوعی نظیر ATP سنتاز و زنجیره انتقال الکترون و غشای خارجی حاوی کانال‌های آنیونی وابسته به ولتاژ است. در فضای بین دو غشا، سیتوکروم c پروکاسپازهای خاص، آدنیلات کیناز ۲، اندونوکلئاز G و فاکتور القاکننده آپوپتوز (AIF) قرار گرفته‌اند. این اندامک انرژی رایج سلول را به فرم ATP فراهم می‌سازد و هوموستاز داخل سلولی را در ارتباط با یون‌ها و استرس‌های اکسیداتیو حفظ

می‌نماید. در پاسخ به سیگنال‌های مرگ سلولی نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری سبب آزاد شدن مولکول‌های پروآپوپتوتیک از قبیل فاکتور القاکننده آپوپتوز، سیتوکروم c، Smac/DIABLO و اندونوکلئاز G از فضای بین دو غشای میتوکندری به داخل سیتوپلاسم می‌شوند. Smac/DIABLO اثر آنتاگونیستی روی مهارکننده‌های کاسپاز دارد. فاکتور القاکننده آپوپتوز (AIF) یک فلاوپروتئین ۵۷ کیلو دالتونی است که در حالت طبیعی نقش آنتی‌اکسیدانی در میتوکندری دارد.

آزاد شدن سیتوکروم c یک واقعه معمول در آپوپتوز است. سیتوکروم c در درون سیتوپلاسم با اتصال به مولکول Apaf-1 و پروکاسپاز ۹ آپوپتوزوم را به‌وجود می‌آورند. آپوپتوزوم کمپلکسی با وزن مولکولی یک مگادالتون و دارای ۷ واحد از هر یک از مولکول‌های حاوی Apaf-1، سیتوکروم C و پروکاسپاز ۹ می‌باشد. Apaf-1 در حالت عادی در سلول به‌صورت بی‌اثر و غیرفعال حضور داشته و در پروسه آپوپتوز در اثر آزادسازی سیتوکروم c از میتوکندری فعال می‌گردد. برای فعال شدن پروتئین Apaf-1 ایجاد میان کنش بین این پروتئین و سیتوکروم c ضروری است. با مکانیسمی که به‌درستی مشخص نیست، سیتوکروم c و dATP/ ATP باعث الیگومر شدن Apaf-1 می‌گردند. اتصال سیتوکروم c به Apaf-1 باعث باز شدن تاخوردگی این پروتئین و آشکار شدن نواحی پلیمریزه کننده آن می‌گردد. این نواحی در حضور ATP یا dATP پایدار می‌شوند و با اتصال به ناحیه نظیر خود بر روی مولکول پروکاسپاز ۹ باعث فعال شدن آن می‌گردد. فعال شدن کاسپاز ۹ منجر به فعال شدن کاسپازهای اجرایی (کاسپازهای ۳-۶-۷) و اجرای آپوپتوز می‌شود.

از سوی دیگر، با افزایش نفوذپذیری غشای خارجی، مولکول‌های دیگری غیر از سیتوکروم c نیز وارد سیتوپلاسم می‌شوند. یکی از این مولکول‌ها به نام Smac/Diablo با غیرفعال کردن IAPS (که اثر مهاری بر روی کاسپاز ۳ و کاسپاز ۹ دارد) منجر به تشدید آپوپتوز می‌گردد. آزاد شدن مولکول فلاوپروتئین AIF از میتوکندری به درون سیتوپلاسم و ورود آن به هسته باعث قطعه قطعه شدن DNA و اجرای آپوپتوز از طریق غیروابسته به کاسپاز می‌گردد.

شکل (۳) به‌طور شماتیک مسیر داخلی آپوپتوز را نشان می‌دهد. در مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی کاسپاز آغازگر، کاسپاز ۹ می‌باشد که فعال شدن آن سبب فعال شدن کاسپازهای اجرایی (کاسپاز ۳ و ۶ و ۷) می‌گردد. کاسپازهای اجرایی روی سوبستراهای خود عمل کرده و فرآیند آپوپتوز صورت می‌گیرد.

مولکول‌های تنظیم‌کننده متعددی شناخته شده که در مسیر آپوپتوز نقش دارند، از جمله اعضای خانواده IAPs و Bcl-2 می‌باشند.

■ خانواده Bcl-2

مسیر داخلی آپوپتوز (مسیر میتوکندریایی) به‌صورت کامل به‌وسیله پروتئین‌های خانواده Bcl-2 کنترل می‌شود. Bcl-2 اولین مثال از یک انکوژن بود که بیشتر از تحریک تکثیر سلولی، سبب مهار مرگ سلولی می‌شود. بعد از شناسایی همولوگ‌های Bcl-2 مشخص شد که ویژگی ساختاری تمام پروتئین‌های خانواده Bcl-2 داشتن ناحیه BH می‌باشد و بر این

اساس به سه گروه تقسیم می‌شوند: (شکل ۲)

- مولکول‌های مهارکننده آپوپتوز شامل Bcl-2, Bcl-XL, Bcl که دارای چهار ناحیه BH به نام BH1-BH2-BH3-BH4 در ساختمان خود می‌باشد.
- مولکول‌های پروآپوپتوتیک شامل: Bid, Bim Bad که در ساختمان خود فقط ناحیه BH3 را دارند (BH3-only).
- مولکول‌های پروآپوپتوتیک BH123 از جمله Bax که در ساختمان خود دارای نواحی BH1-BH2-BH3 بوده و فاقد ناحیه BH4 هستند.

آنتی‌آپوپتوتیک‌ها Bcl-2, Bcl-XL, Bcl این پروتئین‌ها به پروتئین‌های پروآپوپتوتیک همتای خود متصل و باعث غیرفعال شدنشان می‌شوند این پروتئین‌ها برای زنده ماندن سلول حیاتی و ضروری هستند. کمبود Bcl-2 درمایس نشان داد که خون‌سازی و تشکیل جنین طبیعی است اما سلول‌های لنفوییدی در طحال و تیموس دچار آپوپتوز شده‌اند. به‌غیر از دو پروتئین BCl-2 و BCL-X7 که متصل به غشای خارجی میتوکندری هستند، سایر پروتئین‌های این خانواده سیتوزولی می‌باشند.

Bak و Bax در اثر بیان زیاد باعث آپوپتوز می‌شوند و هر دو نقش ضروری و موثری در مسیر داخلی آپوپتوز دارند چون که کمبود Bak در موش نشان داد که آپوپتوز به‌صورت طبیعی انجام می‌گیرد و حذف Bax باعث کم شدن فنوتیپ غیرطبیعی می‌شود و در کمبود هر دو در هنگام تولد نقص درخون‌سازی و سیستم عصبی مرکزی وجود دارد.

فعالیت Bak و Bax آن نقطه شروع بدون برگشت آپوپتوز در مسیر داخلی است. Bax فعال شده از سیتوزول وارد غشای خارجی میتوکندری (OMM) می‌شود و Bak فعال شده هم آماده پیوستن به OMM می‌باشد. Bak و Bax فعال شده هر دو با هم اختلال در OMM را که نفوذپذیری غشای خارجی میتوکندری (MOMP) نامیده می‌شود شروع می‌کنند.

اگرچه ظاهراً بین Bak و Bax تشابه وجود دارد اما شبیه هم نیستند و برای فعالیت مسیرهای جداگانه‌ای دارند. Bax به‌صورت منومر در سیتوزول و Bak در غشای خارجی میتوکندری است و شواهد نشان می‌دهد که اعضای خانواده BH3-only نقش مهمی را در فعال شدن Bak و Bax باز می‌کند. به‌عنوان نمونه، مهاجرت پروتئین Bad از سیتوزول به میتوکندری و اتصال آن به Bc1-xl باعث جدا شدن Bc1-xl از یک پروتئین پروآپوپتوز به نام Bax می‌شود. سپس Bax آزاد شده الیگومریزه می‌شود. بدین صورت باعث رهاسازی سیتوکروم c می‌گردد در حالی‌که اتصال Bc1-xl به Bax در غیاب Bad مانع از الیگومره شدن Bax و رهاسازی سیتوکروم C می‌شود.

- خود فعالیت Bad هم توسط فسفریلاسیون آن توسط کینازهای مختلف سلولی نظیر MAPK تنظیم می‌شود. پروتئین Bad فسفریله شده، توسط پروتئینی سیتوزولی به نام ۳-۳-۱۴ بلوک می‌شود این امر مانع ورود Bad به میتوکندری می‌شود.

پروتئین‌های پروآپوپتوتیک Bad، Bim، Bid دارای ۹ اسیدامینه پشت سرهم و منحصر به فرد هستند که دومین BH3 نامیده می‌شود این‌ها در سلول‌هایی که فاقد Bak و Bax هستند، نمی‌توانند آپوپتوز ایجاد کنند. Bid یکی از اعضای BH3only

است که در سیتوزول موجود بوده و در اثر فعالیت کاسپاز ۸ تجزیه و تبدیل به تکه ای به نام (tBid) می‌شود و tBid وارد میتوکندری شده، با Bax متصل شده و از تاثیر مولکول‌های ضدآپوپتوزی جلوگیری می‌کند. مولکول Bid به‌عنوان حلقه واسطه بین دو مسیر داخلی و خارجی القای آپوپتوز عمل می‌کند. به این صورت که اتصال گیرنده مرگ به لیگاند خود موجب فعال شدن پروکاسپاز ۸ و آن نیز باعث فعال شدن مولکول Bid می‌شود. این مولکول نیز با اتصال به غشای خارجی میتوکندری باعث رها شدن سیتوکروم c و آغاز مسیر داخلی آپوپتوز می‌گردد به نحوی که ضربه آغازی Bid برای شروع دو مسیر سیگنالی آپوپتوز که با تحریک گیرنده مرگ ترغیب می‌شود لازم و ضروری است.

مولکول‌های مهارکننده آپوپتوز خانواده Bcl-2 با اتصال به ناحیه BH3 در مولکول‌های پروآپوپتوتیک مانع الیگومر شدن و فعال شدن آن‌ها می‌شوند. افزایش بیان Bcl-2 یا Bcl-XL به‌طور مؤثری سبب مهار پاسخ آپوپتوتیک به محرک‌های سیتوتوکسیک از طریق مهار تولید ROS، بلوک کردن منفذ نفوذپذیری میتوکندری و جلوگیری از آزادسازی سیتوکروم C می‌گردد. Bcl-2 علاوه بر اثر آنتی‌آپوپتوتیک بر روی میتوکندری، از طریق کنترل غیرمستقیم فعال شدن آپوپتوزوم می‌تواند سبب مهار شدن مسیرهای مستقل از Apaf-1 و کاسپاز ۹ و وابسته به کاسپاز ۷ گردد.

■ مولکول‌های خانواده IAPs

بیان مولکول‌های پرواپوتوتیک مثل Bcl-2 Bcl-XL توسط فاکتور رونویسی NF-κB تنظیم می‌شود. NF-κB در شرایط خاص علاوه بر القای بیان مولکول‌های پروآپوتوتیک سبب فعال شدن تعدادی از ژن‌های آنتی‌آپوپتوتیک مثل IAPs می‌شود. IAPs پروتئین‌های مهارکننده آپوپتوز هستند که تاکنون هومولوگ‌های فراوانی از آن‌ها شناسایی شده است. IAPs به‌طور مستقیم از طریق واکنش با کاسپازها سبب غیرفعال شدن آن‌ها می‌شوند. این پروتئین‌ها به‌وسیله دو مولکول Smac /Diablo که در اثر نفوذپذیر شدن غشای میتوکندری وارد سیتوپلاسم می‌شوند، مهار و غیرفعال می‌گردند. اتصال Smac / Diablo به این مولکول‌ها سبب جدایی کاسپاز از آن‌ها و غیرفعال شدنشان می‌گردد.

■ نقش آپوپتوز در تشکیل و مهار تومور

رشد و تقسیم سلول‌های طبیعی تحت تاثیر ژن‌های مختلفی است، جهش در این ژن‌ها سبب رشد و تکثیر خارج از کنترل سلول‌ها و تشکیل تومور می‌شود. ژن‌هایی که در ایجاد تومور نقش دارند، بر اساس عملکرد در دو گروه پروتوانکوژن‌ها و ژن‌های سرکوب‌کننده تومور قرار می‌گیرند. پروتوانکوژن‌ها کدکننده پروتئین‌هایی هستند که در رشد سلولی شرکت دارند و به واسطه جهش در ناحیه پروموتور به انکوژن‌های فعال تبدیل شده و بیان آن‌ها افزایش می‌یابد. محصولات اونکوژن‌ها تحت عنوان انکوپروتئین‌ها نیز در افزایش رشد سلولی دخالت دارند ولی برخلاف حالت طبیعی، این فعالیت آن‌ها خارج از کنترل است و منجر به تشکیل تومور می‌شود. پروتوانکوژن ras یکی از G پروتئین‌های غشایی است که در انتقال پیام‌های سلولی نقش

دارد و حدود ۳۰ درصد از سلول‌های سرطانی به‌علت جهش در پروتوانکوژن ras ایجاد می‌شود. ژن‌های سرکوب‌کننده تومور در مواقع آسیب DNA مانع تقسیم سلولی و ایجاد تومور می‌شوند، بنابراین اختلال در فعالیت آن‌ها همراه با تومورزایی است. ژن P53 یکی از ژن‌های سرکوب‌کننده تومور می‌باشد که هنگام آسیب DNA در فاز G1 علاوه بر مهار چرخه سلولی از طریق تحریک بیان P21، سبب بیان ژن bax نیز می‌شود. محصول این ژن پروتئین BAX است که سبب القای آپوپتوز و از بین رفتن سلول سرطانی می‌گردد. جهش در ژن P53 در ۵۰ درصد سرطان‌های انسانی دیده می‌شود.

در طول سال‌های اخیر مشخص شده که تشکیل تومور منحصرا ناشی از تکثیر بیش از حد سلولی به دلیل فعال شدن انکوژن ها نیست بلکه تا میزان مشابهی به دلیل اختلال در مسیرهای کنترل آپوپتوز می‌باشد. اکثر سلول‌های توموری به‌دلیل بیان نامناسب پروتئین‌های آنتی‌آپوپتوتیک یا غیرفعال شدن فاکتورهای پروآپوپتوتیک نسبت به آپوپتوز مقاوم هستند. bcl-2 اولین ژن شناخته شده مرتبط با آپوپتوز بود که در تشکیل تومور نقش داشت. افزایش بیان bcl-2 در بسیاری از سرطان‌ها مشاهده شده و به‌واسطه مهار مستقیم آپوپتوز به پایداری سلول‌های سرطانی کمک می‌نماید. به‌طور معکوس در برخی سرطان‌ها کاهش بیان پروتئین پروآپوپتوتیک BAX وجود دارد وجهش در ژن‌های bax سبب تحریک تشکیل تومور می‌شود. بنابراین هرگونه نقصان در فرآیند آپوپتوز منجر به تشکیل و پیشرفت تومورهای بافتی مختلف می‌شود و در مقابل القای آپوپتوز در سلول‌های توموری راهکار بسیار مناسبی در درمان سرطان می‌باشد. داروها و عوامل مختلفی وجود دارند که می‌توانند سبب القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی شوند و شناسایی عوامل القاکننده آپوپتوز به پیشرفت داروهای جدید در درمان سرطان کمک می‌نماید.

سرطان کولون یکی از مهم‌ترین سرطان‌های منجر به مرگ در جوامع غربی است. در ایران نیز شیوع این سرطان رو به افزایش است و طبق آمار موجود در حال حاضر چهارمین سرطان شایع در بین مردان و زنان می‌باشد.

در مطالعه‌ای در بیماران مدولابلاستوما مشخص شد که شاخص آپوپتوتیک به تنهایی تقسیم بر شاخص میتوتیک اثر مهمی در زنده ماندن و طول عمر بیشتر این بیماران دارد.

این فرضیه وجود دارد که مقاومت در برابر آپوپتوز در سلول‌های اپی‌تلیال کولون منجر به پیشرفت و گسترش تومور می‌شود. شناخت عوامل القاکننده آپوپتوز در سلول‌های سرطانی کولون سبب گسترش راهکارهای درمانی در مهار تومور بافت کولون می‌شود.

■ استاتین‌ها

استاتین‌ها موثرترین داروهای کاهنده کلسترول و LDL و آنالوگ‌های ساختاری HMG-CoA می‌باشند که به‌طور رقابتی آنزیم HMG-CoA ردوکتاز را مهار می‌کنند. HMG-CoA ردوکتاز آنزیم کلیدی و تنظیم‌کننده سرعت در مسیر سنتز کلسترول می‌باشدکه تبدیل HMG-CoA را به موالونات و در نهایت کلسترول کاتالیز می‌کند. نتیجه مهار این آنزیم، مهار تولید کلسترول کبدی است. پاسخ

جبرانی به کاهش کلسترول کبدی، افزایش بیان گیرنده‌های کلسترول و LDL بر سطح هپاتوسیت‌ها و در نتیجه افزایش کلیرانس کلسترول و LDL در خون و کاهش سطح پلاسمایی کلسترول و LDL است. عمده‌ترین مصرف استاتین‌ها پیشگیری و درمان بیماری‌های آترواسکلروتیک است. استاتین‌ها سبب کاهش پیامدهای مشکلات قلبی ـ عروقی از جمله انفارکتوس میوکارد، فیبریلاسیون دهلیزی و نقص عملکردی کلیه می‌شوند و تجویز آن‌ها پس از اعمال جراحی، کاهش عوارض قلبی ـ عروقی را به دنبال دارد. استاتین‌ها علاوه بر آثار درمانی در بیماران هیپرکلسترولمی، در بیماران با سطوح طبیعی کلسترول موجب کاهش مرگ و میر ناشی از مشکلات قلبی ـ عروقی هستند.

در مسیر سنتز کلسترول، موالونات به‌عنوان متابولیت HMG-CoA ردوکتاز علاوه بر کلسترول پیش‌ساز مولکول‌هایی از خانواده ایزوپرنوییدها از جمله فارنسیل پیروفسفات و ژرانیل ژرانیل پیروفسفات نیز می‌باشد. اتصال ایزوپرنوییدها به پروتئین‌های مختلف سلول از جمله G پروتئین‌های انتقال‌دهنده پیام‌های سلولی برای عملکرد آن‌ها ضروری است. بنابراین، استاتین‌ها به واسطه مهار سنتز این مولکول‌ها آثار متفاوتی مستقل از اثرشان بر سنتز کلسترول نشان می‌دهند. از طریق مهار متالوپروتئینازهای درون سلولی و فاکتورهای رونویسی مثل فاکتور هسته‌ای B نقش تنظیم‌کنندگی در ترمیم عروق دارند. در بیمارانی با سندروم‌های حاد عروق کرونری یا کاردیومیوپاتی‌های ایدیوپاتیک درمان با استاتین‌ها سبب کاهش واکنش‌های التهابی شامل تغییر پروتئین‌های فاز حاد، TNF-α و اینترلوکین ۶ می‌شود. استاتین‌ها همچنین موجب کاهش صدمات بافتی ناشی از ایسکمی در اعضایی مثل قلب، ریه و مغز هستند و با افزایش فعالیت No در اندوتلیال عروق، سبب اتساع عروق و کاهش فشار خون می‌شوند.

مطالعات اخیر نشان می‌دهد، استاتین‌ها به واسطه ایجاد تداخل در عملکردهای حیاتی سلول مثل تکثیر و تمایز سلولی می‌توانند برای پیشگیری یا درمان سرطان مفید باشند، بر اساس مطالعات انجام شده استاتین‌ها می‌توانند باعث القای مرگ سلولی با دو مکانیسم آپوپتوز یا نکروز در رده‌های مختلف سلولی شوند. القای آپوپتوز در سلول‌های سرطانی یکی از مکانیسم‌های عملکردی داروهای شیمی درمانی است و در درمان سرطان ضروری می‌باشد، بنابراین تشخیص مرگ سلولی القا شده توسط استاتین‌ها کاربرد تازه‌ای از این داروها را معرفی می‌کند.

■ استاتین‌ها و آپوپتوز

مطالعات متعددی نشان می‌دهد استاتین‌ها قادر به القای آپوپتوز در سلول‌های توموری مختلف می‌باشند. برای مثال سلول‌های سرطانی رابدومیوسارکوم، مدولابلاستوم و منومیلوییدی در مواجهه با غلظت‌های مختلف لواستاتین دچار آپوپتوز می‌شوند. سلول‌های مالتیپل میلوما درجات مختلفی از حساسیت را نسبت به آپوپتوز ناشی از لواستاتین نشان می‌دهند. سلول‌های لوسمی میلوییدی حاد حساسیت قابل توجهی نسبت به آپوپتوز القا شده توسط لواستاتین دارند و سلول‌های لوسمی لنفوییدی حاد پاسخ آپوتوتیک ضعیفی در مواجهه با لواستاتین نشان می‌دهند. هم چنین آثار آپوپتوتیک

مرتبط با استاتین‌ها در رده سلولی لوسمی میلوییدی حاد در مواجهه با سرواستاتین مشاهده شده است. سرواستاتین اثر آپوپتوتیک ۱۰ مرتبه قوی‌تر نسبت به لواستاتین بر سلول‌های AML دارد. استاتین‌ها از طریق مسیر میتوکندریایی سبب القای آپوپتوز در سلول‌های ماهیچه‌ای و در نتیجه میوپاتی می‌شوند. شدت نکروز و آپوپتوز القا شده توسط استاتین‌ها در لنفوبلاست انسانی به شرح زیر است: پراواستاتین کمتر از سیمواستاتین و فلوواستاتین و آن‌ها کمتر از سریواستاتین و آتورواستاتین می‌باشند.

مکانیسم‌های احتمالی در القای آپوپتوز توسط استاتین‌ها به‌واسطه نقش آن‌ها در مهار آنزیم HMG-CoA ردوکتاز و مهار سنتز موالونات می‌باشد. موالونات علاوه بر کلسترول پیش‌ساز مولکول‌های ایزوپرنوییدی از جمله فارنسیل پیروفسفات (FPP) و ژرانیل ژرانیل پیروفسفات (GGPP) می‌باشد. اتصال این مولکول‌ها به برخی پروتئین‌های سلولی از جمله G پروتئین‌های غشایی و در واقع ایزوپرنیله شدن این پروتئین‌ها برای عملکرد آن‌ها ضروری است. Rho و Ras از شناخته شده‌ترین پروتئین‌های ایزوپرنیله هستند که انتقال پیام‌های سلولی مهم در رونویسی ژن‌های مرتبط با فعالیت‌های حیاتی سلول از جمله تکثیر و تمایز و آپوپتوز نقش دارند. استاتین‌ها به واسطه تغییر عملکرد این پروتئین‌ها آثار مهمی بر سلول دارند. استاتین‌های طبیعی (لواستاتین سیمواستاتین، آتورواستاتین) و استاتین‌های مصنوعی (سرواستاتین) اثر سیتوتوکسیک روی لنفوسیت‌های T و B و میلوماسل دارند که به واسطه القای آپوپتوز به‌دلیل تغییر پروتئین‌های درگیر در تنظیم سیگنال‌های سلولی است. فلوواستاتین به‌صورت وابسته به دوز قادر به مهار مسیر موالونات و مهار انتقال پیام‌های سلولی و وقفه در فرآیند میتوز می‌شود. به این ترتیب آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی کولون القا می‌کند. سیمواستاتین قادر است از طریق مهار انتقال پیام‌های سلولی سبب القای آپوپتوز شود. استاتین‌های لیپوفیلیک باعث آپوپتوز در سلول‌های عضلات صاف عروق می‌شوند که مهار این اثر از طریق موالونات، فارنسیل پیروفسفات نشان‌دهنده نقش ایزوپرنوییدها در آپوپتوز سلول‌های عضلات صاف عروق است. فلوواستاتین سبب مهار رشد و القای آپوپتوز در سلول‌های اندوتلیال عروق می‌شود. مکانیسم احتمالی، نقش استاتین‌ها بر مهار سنتز ایزوپرنوییدها است. مهار مستقیم آنزیم HMG-CoA ردوکتاز توسط لواستاتین در سلول‌های لوسمی میلوییدی، رابدومیوسارکوم، مدولابلاستوما و کارسینومای سلول‌های سنگ فرشی رحم پاسخ آپوپتوتیک را به دنبال دارد.

در مطالعات مختلف افزایش بیان مولکول‌های پروآپوپتوتیک Bim , Bax و کاهش بیان مولکول‌های مهارکننده آپوپتوز مانند Bcl-2 و فعال شدن کاسپازها در مواجهه با استاتین‌ها مشاهده شده است. لواستاتین سبب آپوپتوز در سلول‌های سرطانی سینه از طریق کاهش بیان Bcl-2 می‌شود. هم چنین القاکننده مؤثر آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پروستات از طریق فعال‌سازی کاسپاز ۷ است. لواستاتین در رده‌های سلولی گلیوبلاستوما باعث مرگ سلولی شدید می‌شود که افزایش قابل توجه پروتئین پروآپوپتوتیک Bim را به دنبال دارد. در سلول‌های سرطانی کولون، مواجهه با لواستاتین آپوپتوز القا شده توسط 5-FU را تشدید

می‌کند و همراه با کاهش بیان Bcl-2 و افزایش بیان Bax است.

فلوواستاتین به‌صورت وابسته به دوز قادر به مهار مسیر موالونیک اسید و مهار انتقال سیگنال سلولی و وقفه در فرآیند میتوز می‌شود. به این ترتیب آپوپتوز را در سلول‌های سرطانی کولون القا می‌کند. لواستاتین در سلول‌های تیروییدی پروتئولیز لامین B را القا و باعث مهار تجمع آن در هسته می‌شود و در نتیجه، سیتوکروم C از میتوکندری به درون سیتوزول آزاد می‌شود. لواستاتین سبب آپوپتوز در سلول‌های سرطانی سینه از طریق کاهش بیان Bcl-2 (یکی از پروتئین‌های بازدارنده آپوپتوز) و ErbB2 (پروتو ـ انکوژن کدکننده گیرنده‌های فاکتور رشد اپیدرمال) است. در سلول‌های سرطانی که افزایش بیان ErbB2 وجوددارد، القای آپوپتوز توسط لواستاتین کاملا مهار می‌شود. لواستاتین در رده‌های سلولی گلیوبلاستوما باعث مرگ سلولی می‌شود که همراه با افزایش قابل توجه سطح Bim (پروتئین پروآپوپتوتیک) می‌باشد. مطالعات بر روی فلوواستاتین در محیط in vitro نشان داده که این دارو ساپرس‌کننده رشد پرومیلوسیت‌ها (سلول‌های پیش‌ساز میلوییدی) است. تحقیقات نشان داده‌اند در بیماران سرطانی که تحت شیمی درمانی قرار گرفته‌اند، میزان کلسترول به‌صورت غیرطبیعی بالا می‌رود، این مساله به دلیل افزایش بیان mRN کدکننده گیرنده‌های HMG-CoA ردوکتاز و LDL است. این افزایش کلسترول منجر به افزایش مقاومت سلول‌ها در برابر عوامل شیمی درمانی می‌شود. برای رفع مقاومت ایجاد شده پیشنهاد می‌گردد که استاتین‌ها به همراه سایر داروهای شیمی‌درمانی سرطان استفاده شوند تا از طریق کاهش سطح کلسترول ارزش درمانی را بهبود بخشند.

اگرچه مکانیسم دقیق عملکرد آن‌ها مشخص نیست اما شواهدی وجود دارد که استاتین‌ها باعث مرگ سلول‌های سرطانی میلوییدی می‌شوند و حساسیت آن‌ها را نسبت به شیمی‌درمانی از طریق انسداد پاسخ‌های تطابقی کلسترول افزایش می‌دهند. بر اساس مطالعات دیگر به نظر می‌رسد که تأثیر مهارکنندگان ژرانیل ترانسفرازها همچون لواستاتین در مقایسه با مهارکنندگان فارنزیل ترانسفرازها بر این سلول‌ها بیشتر باشد. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که میزان فعالیت آنزیم HMG-CoA ردوکتاز و سطح گیرنده‌های LDL در سلول‌های سرطانی کولون در مقایسه با سلول‌های طبیعی بالا می‌رود. در نتیجه، این فرضیه شکل می‌گیرد که در میزان انتقال کلسترول به سلول‌های سرطانی کولون و پیشرفت این بیماری ارتباطی وجود داشته باشد. مطالعات نشان داده‌اند که لواستاتین باعث افزایش بیان پروتئین p21 می‌شود. این پروتئین نقش واسطه در مهار رشد سلول‌های سرطانی کولون دارد. هم‌چنین در بررسی‌های in vivo نشان داده که آتورواستاتین باعث مهار تولید تومور می‌شود و هنگامی که به همراه سلکوکسیب که مهارکننده آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ است، مصرف شود، تأثیرات افزایشی آنتی‌تومور در موش خواهد داشت. بر اساس مطالعات انجام شده استاتین‌ها باعث کاهش شیوع سرطان پانکراس هم می‌شوند. پس از انجام یک مطالعه وسیع بر روی نیم میلیون نفر توضیح داده شد که استفاده

از استاتین‌ها در بیشتر از شش ماه باعث کاهش ۶۷ درصد خطر سرطان در بیماران می‌شود. البته اثرات حفاظتی استاتین‌ها در مورد این سرطان به عواملی همچون سن و نژاد وابسته می‌باشد اما وابستگی خاصی به مسایلی همچون دیابت، سیگار و الکل ندارد. غلظت ۱/۶میکرومول سیمواستاتین بعد از ۷۲ ساعت درمان در محیط کشت باعث مرگ شدید سلول‌های ملانوما شد و به‌صورت in vivo مثل یک داروی آنتی‌پرولیفراتیو عمل کرده و باعث آسیب به رشد و گسترش ۶۸ درصد تومور شد. لواستاتین در ۷۲ ساعت باعث تاثیر مرگبارش بر روی سلول‌های سرطانی AML شدکه حتی موالانات نتوانست سلول‌های AML را از غلظت سیتوتوکسیته لواستاتین نجات دهد و معلوم شدکه دوز بالای لواستاتین در زمان کوتاه در درمان بیماران AML مفید است. استاتین‌ها از طریق حساس کردن سلول‌های سرطان کولورکتال به مواد شیمی‌درمانی باعث کاهش خصوصیت متاستازی تومور شدند. داده‌ها نشان می‌دهدکه ترکیب استاتین‌ها با داروهای دیگر مثل دوز پایین آسپیرین یا داروهای ضدالتهاب غیراستروییدی ممکن است در جلوگیری و درمان سرطان کولورکتال مفید باشد.

بر اساس مطالعات سیمواستاتین می‌تواند بر مقاومت دارویی ایجاد شده در مولتیپل میلوما غلبه کند. هم‌چنین تأثیر استاتین‌ها به‌صورت in vitro بر ضدتومورهای بدخیم ملانوما، سرطان تیروئید اوستئو سارکوما، گلیوما و سلول‌های مدولا بلاستوما نیز ثابت شده است. به‌علاوه استاتین‌ها خواص ضدتوموری در مورد سلول‌های سرطانی سنگفرشی نیز داشته‌اند که این اثر نتیجه درمانی لواستاتین، در بیماران با متاستاز سلول‌های سنگفرشی در نواحی سر، بینی و سرویکس می‌باشد. مطالعات نشان داده‌اند که بلوک شدن مسیر ژرانیل ژرانیلاسیون پروتئین برای القای آپوپتوز توسط لواستاتین در سلول‌های سرطانی لوکمی ضروری است.

منابع

1. Rezaei M. Rasekh H. Ahmadiani A. Involvment of Subcellular organelles in Inflammatory pain-Induced oxidative stress and apoptosis in the rat hepatocytes. Arch Iran Med 2008;11(4):407-417.

2. Rezaei M. Galedari HR. Kalantari H. Programmed cell death Induced by Lovastatin and tocopherol in human colorectal carcinoma cell line HT29 .Toxicol Let 2010; 196S: S37-S351.

3. Rezaei M. Arast Y. Solgui. The effect of alfa tocopherol and lovastatin on apoptosis induce in human colorectal carcinoma cell line.Arak Med Uni J(AMUJ) 2010;13(2):9-16.

یادآوری: علاقمندان به استفاده از تمام منابع این مطلب می‌توانند با دفتر نشریه رازی تماس بگیرند.