آپوپتوز: مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی

مریم هنردوست* دکتر حوریه سلیمانجاهی** دکتر فرزاد رجایی***

* دانشجوی دکترای پزشکی مولکولی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین
** دانشیار گروه ویروس‌شناسی دانشگاه تربیت مدرس تهران
*** دانشیار بافت‌شناسی و جنین‌شناسی مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی قزوین

آدرس نویسنده مسؤول: قزوین، بلوار شهید باهنر، دانشگاه علوم پزشکی قزوین، گروه علوم تشریحی، تلفن ۳۳۲۴۹۷۰- ۰۲۸۱
Email: farzadraj@yahoo.co.uk

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۲/۱/۱۴

چکیده

فرایند آپوپتوز یا مرگ برنامه‌ریزی شده سلول به عنوان روشی حفاظت شده، تحت کنترل ژن‌هاست که به منظور حذف سلول‌های ناخواسته یا غیرضروری در موجودات زنده به کار می‌رود و در بسیاری از مکانیسم‌های سیستم ایمنی یا بیماری‌ها مداخله می‌کند. اصلی‌ترین تفاوت این مسیر با نکروز سلولی به عنوان مسیر اصلی حذف سلول‌های ناخواسته، در عدم ایجاد التهاب و اثر محدود به سلول‌های هدف است. آپوپتوز در فرایندهای مهم زیست شناختی مانند تکامل طبیعی، هومئوستاز بافتی، حذف سلول‌های تخریب شده یا آلوده به ویروس و حذف سلول‌های ایمنی فعال شده علیه آنتی ژن‌های خودی نقش بسیار حیاتی را بر عهده دارد. این فرایند در تنظیم میزان رشد، تکثیر سلول‌ها، تکامل و سلامت بدن بسیار مهم بوده و بروز بسیاری از بیماری‌های اتوایمیون، سرطان‌ها و عفونت‌های ویروسی نتیجه عملکرد ضعیف یا مهار شدن پدیده مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی است. بنابراین هدف اصلی مطالعه‌های آپوپتوزی، تمرکز بر روی شناخت اجزای مولکولی و مکانیسم‌های تنظیمی به خصوص خانواده Bcl-2 و خانواده IAP به عنوان مهم‌ترین گروه‌های تنظیمی است و این اطلاعات کمک می‌کند تا با به کارگیری عوامل درمانی که این فرایند را متأثر می‌کنند، درمان بیماری‌های تخریب عصبی و بیماری‌های تکثیری نظیر سرطان دور از ذهن نباشد.

کلیدواژه‌ها: آپوپتوز، مرگ برنامه‌ریزی شده سلول، کاسپاز، خانواده Bcl-2، خانواده IAP

مقدمه:

واژه آپوپتوزیز یا آپوپتوز (Apoptosis) یک واژه یونانی و به معنی ریزش برگ درختانِ پاییزی است. در سال ۱۹۷۲ هنگامی که کر (Kerr) و همکارانش برای نخستین بار تفاوت میان نکروز و آپوپتوز را مشاهده کردند، گمان نمی‌بردند که پدیدهٔ اکتشافی آن‌ها روزی سرلوحه مطالعه‌های ضد سرطان قرار گیرد.[۱] مکانیسم آپوپتوز یکی از اصلی‌ترین راه‌های حذف سلول‌های ناخواسته است که در بدن موجودات پرسلولی و حتی تک سلولی انجام می‌شود. بسیاری از ویروس‌ها محصول‌های خاصی را جهت کنترل این فرایند زیستی به نفع خود تولید می‌کنند و سیستم ایمنی نیز برای مقابله با بسیاری از پاتوژن‌ها از جمله ویروس‌ها از این مسیر استفاده می‌کند.[۲-۴] شکل‌گیری اندام‌ها و بافت‌های بدن انسان در دورهٔ جنینی و کنترل میزان رشد و تکثیر سلول‌های بدن همگی از نتایج این پدیده زیستی است.[۵] به عنوان مثال، وقوع پدیده آپوپتوز در سلول‌های جنین انسان باعث جدا شدن انگشتان دست از هم می‌شود. به هم خوردن سرعت وقوع این پدیده چه به صورت افزایشی و چه کاهشی باعث ایجاد سرطان یا بیماری‌هایی نظیر آلزایمر و پارکینسون می‌شود.[۶و۷] شناسایی این فرایند سلولی و راه‌های کنترل آن در دست‌یابی به داده‌های ضد سرطانی و ضد التهابی راه گشاست.[۸] مطالعه‌ها نشان داده‌اند هر عاملی که از رشد و تکامل طبیعی سلول‌ها جلوگیری کند، مانند قرارگیری در معرض عوامل توکسیک یا انجماد،

Archive of SID

www.SID.ir

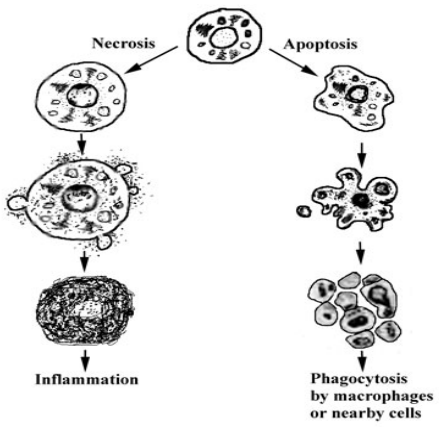
ممکن است زمینه را برای بروز آپوپتوز در آن‌ها فراهم کند.[۹]

انواع مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی: آپوپتوز یک فرایند بیوشیمیایی هماهنگ است که به مرگ سلول منتهی می‌شود[۱۰و۱۱] و به سه نوع آپوپتوز، شبه آپوپتوز و شبه نکروز دسته‌بندی می‌شود. مهم‌ترین حالت مرگ برنامه‌ریزی شده حالت آپوپتوز است که نقش کلیدی را در تکامل، سیستم ایمنی و زندگی طبیعی موجودات پرسلولی بازی می‌کند.[۱]

آپوپتوز: آپوپتوز یک رخداد طبیعی سلولی است که به کمک آن میزان رشد و تکثیر سلول‌های بدن تنظیم و از ایجاد سرطان جلوگیری می‌شود. چون در این فرایند، سلول مسؤول مرگ خود است، به آن خودکشی سلولی هم گفته می‌شود. سیستم ایمنی با به کارگیری این فرایند بسیاری از اعمال ضد آنتی ژنی خود را انجام می‌دهد. حذف سلول‌های آلوده، حذف کلون‌های T و B فعال شده بر علیه آنتی ژن‌های خودی و به طبع آن جلوگیری از بروز بیماری‌های اتوایمیون از نتایج به کارگیری فرایند آپوپتوز هستند.[۱۲] هنگام آپوپتوز مشخصات اصلی سلول عبارت است از: تراکم کروماتین درون هسته، چروکیدگی سیتوپلاسم، قطعه قطعه شدن DNA به قطعه‌های ۱۰۰ تا ۲۰۰ جفت بازی و ایجاد حالت نردبانی در ژل الکتروفورز، از دست دادن چسبندگی سلول و تخریب اسکلت سلولی، انتقال فسفاتیدیل سرین از نیمه داخلی به نیمه خارجی غشای سلول، بالونی شدن سطح سلول و تولید اجسام آپوپتوزی.

تفاوت میان آپوپتوز و نکروز: دو راه برای مرگ سلولی شناخته شده است؛ نکروز و آپوپتوز. تفاوت‌های بیوشیمیایی و موفولوژیکی بسیاری بین نکروز و آپوپتوز وجود دارد (شکل شماره ۱).

نکروز پاسخ طبیعی سلول به صدمه‌های فیزیولوژیکی است که با برهم خوردگی توانایی سلول برای نگه‌داری هموئوستازی شروع می‌شود، با نفوذ آب و یون‌های خارج سلولی تمام اندامک‌های درون سلولی به خصوص میتوکندری متورم می‌شود و سپس با از هم پاشیدگی غشای سلولی و لیز سلولی تخریب صورت می‌گیرد و اجزای سیتوپلاسمی نظیر آنزیم‌های لیزوزومی در مایع خارج سلولی رها می‌شوند. بنابراین به علت پاسخ‌های التهابی، مرگ سلولی از طریق نکروز با تخریب گستردهٔ بافتی همراه است.[۱۱و۱۲] برخلاف آن در آپوپتوز که اکثراً به علت تحریک‌های داخل سلولی اتفاق می‌افتد، سلول خودکشی می‌کند. سلول آپوپتوزی مشخصات موفولوژیکی خاصی دارد که مشخص‌ترین آن‌ها اجسام آپوپتوزی است. این اجسام شامل قسمتی از سیتوپلاسم و هسته در وزیکول‌های پلاسمایی و همچنین حاوی ریبوزوم است. این وزیکول‌ها خیلی سریع توسط فاگوسیت‌ها یا سلول‌های اپی‌تلیال مجاور شناسایی و هضم می‌شوند؛ بدون این که پاسخ التهابی ایجاد کنند.[۸و۱۳] این اصلی‌ترین تفاوت میان نکروز و آپوپتوز است.



شکل ۱- تفاوت میان مراحل نکروز و مرگ برنامه‌ریزی شده سلول

فرایند آپوپتوزیز: پدیده آپوپتوز نخستین بار در یک نماتود هرمافرودیت به نام Caenorhanditis elegans مشاهده شد. بعد از شناسایی آپوپتوز در این جاندار، شناسایی پدیده‌های مشابه در پستانداران آغاز شد. فرایند آپوپتوز هم مانند تمام مسیرهای سلولی از مسیرهای مشخص و توسط تحریک‌های خاص القا می‌شود. این

A. Archive of SID

www.SID.ir

تحریک‌ها اغلب منشاء درون سلولی دارند و می‌توان آن‌ها را به چهار دسته اصلی طبقه‌بندی کرد: ۱-صدمه‌هایی نظیر تشعشع یا سموم، ۲- پیام فقدان یا کمبود عوامل رشد یا هورمون‌ها، ۳- فعال شدن از مسیر اتصال لیگاند به گیرنده (که از مهم‌ترین مسیرهای فعال‌سازی است) ۴- فعال‌سازی از طریق سلول‌های سیستم ایمنی نظیر لنفوسیت‌های T کشنده و سلول‌های T کشنده.[۱۴و۱۵] پیام مرگ از مسیرهای فوق به سلول ابلاغ و یاخته از طریق مسیر گیرنده لیگاند یا مسیر میتوکندریایی آماده مرگ می‌شود. مسیر اینترفرون و پروتئین کیناز R از مسیرهای فعال‌سازی مرگ سلولی در هنگام مواجهه با dsRNA به خصوص در عفونت‌های ویروسی است.[۱۶] پروتئین‌های ویروسی زیادی نیز موجب القای این پدیده می‌شوند. پروتئین تولید شده از ژن E2 در پاپیلوما ویروس‌ها از طریق ایجاد توقف در چرخه سلولی G1 و در ویروس HIV، پروتئین Nef با افزایش TNF (Tumour necrosis factor) و پروتئین gpX با ایجاد رادیکال آزاد مثال‌هایی از القای آپوپتوز توسط ویروس‌ها در سلول‌ها هستند.[۴و۱۷و۱۸]

مولکول‌های تنظیم کننده آپوپتوز

پروتئین‌های خانواده B-cell lymphoma 2: مولکول BcL-2 ابتدا به عنوان پروتوانکوژن در لنفومای فولیکولار سلول‌های B شناسایی شد. سپس این مولکول به عنوان همولوگ پستانداری یکی از اعضای اصلی آپوپتوز در C.elegance معرفی شد. Bcl-2 یک پروتئین غشایی است که اساساً در غشای خارجی میتوکندری قرار دارد. نوزده عضو از خانواده Bcl-2 در پستانداران شناسایی شده است. این خانواده چهار موتیف حفاظت شده BH1-BH2-BH3-BH4 دارد که با توجه به فعالیت و ساختار به سه دسته تقسیم شده‌اند: الف- اعضای ضد آپوپتوز که شامل حداقل دو موتیف حفاظت شده هستند: Bcl-2 ، Bcl-XL و غیره. ب- اعضای پرو آپوپتوز که شامل چهار دسته حفاظت شده هستند Bax (BCL2-associated X protein)، Bak و غیره. ج- شامل Bik، Bin، Bad و غیره هستند.

این گروه تنها دارای موتیف حفاظت شده BH3 بوده و این ناحیه برای القای خاصیت کشندگی کافی و ضروری است.[۸و۱۹]

اعضای ضد آپوپتوز و پرو آپوپتوز به صورت هترو دایمر در می‌آیند و به نظر می‌رسد که اعمال یکدیگر را معین می‌کنند. حدس زده می‌شود که غلظت‌های مشابه وابسته آن‌ها مانند یک تنظیم‌کننده قوی برای برنامه مرگ سلولی عمل می‌کند. در ویروس‌ها هم پروتئین‌های مشابهی با اختلاف کم وجود دارند. برای مثال، E1B در آدنوویروس‌ها BHRF-4 و BLAF-1 در EBV، PUL_{37} در HCMV، KSbcl-2 در HHV-8، NeF در HIV و L.T.Ag در SV_{40} از همولوگ‌های ویروسی این خانواده محسوب می‌شوند.[۲۰و۲۱]

کاسپازها: اجرایی‌ترین عضو مجموعه هستند. نام کاسپازها (Cysten spartate-Proteinase) از عملکرد آن‌ها گرفته شده است. این خانواده در پستانداران چهارده عضو دارد که یازده عضو آن‌ها آنزیم‌های انسانی هستند. این آنزیم‌ها مسیر مرگ را هماهنگ می‌کنند و با تجزیه سوبستراهای مخصوص خود از ناحیه H_3N^+…Asp$\downarrow$-xxa…COOH نقش مهمی در پیشبرد مرگ سلولی دارند.[۲۲و۲۳] بیان این پروتئازها به صورت پروآنزیم (زیموژن) است و به وسیله شکسته شدن توسط سالین کاسپازها یا گرانزیم B فعال می‌شوند. این آنزیم‌ها در حالت زیموژن سه ناحیه اصلی دارند: پیش دومین N- ترمینال، زیر واحد بزرگ شامل جایگاه فعال (حاوی سیستئین) و زیر واحد کوچک شامل C- ترمینال. این سه ناحیه توسط آسپارتات از هم جدا می‌شوند. کاسپازها، پروتئازهای اختصاصی هستند و سوبسترای خود را از محل آسپارتات خاصی، که با توانایی کاسپاز سازگار است تجزیه می‌کنند و باعث تخریب پروتئین‌ها یا فعال‌سازی کاسپازهای دیگر می‌شوند. تمام کاسپازها به وسیله رویداد تجزیه‌ای پروتئازی فعال می‌شوند. کاسپاز فعال تترامری شامل دو زیر واحد بزرگ و دو زیر واحد کوچک است.[۲۴] اکتین، وایمنیتن، کراتین و کادهرین، سوبستراهای مناسبی برای کاسپازها محسوب می‌شوند. کاسپازها را از نظر تقدم

Archive of SID

www.SID.ir

و تأخر شرکت در فرایند مرگ سلولی به دو دسته آغازگر و اجرایی دسته‌بندی می‌کنند. کاسپازهای آغازگر مانند کاسپاز ۸، در ابتدای فرایند فعال می‌شوند و کاسپازهای اجرایی مانند کاسپاز ۳ در مراحل بعدی و توسط کاسپازهای آغازگر فعال می‌شوند و آبشار کاسپازی را به راه می‌اندازند.[۱۱و۱۲]

ممانعت‌کننده‌های کاسپازی: سلول‌های طبیعی ممانعت‌کننده‌های خاصی را علیه کاسپازها به کار می‌گیرند. این پروتئین‌های مهارکننده IAP (Inhibitor of apoptosis protein) نام دارند و اولین بار در باکولو ویروس‌ها شناسایی شدند. ولی به تدریج همولوگ‌های انسانی آن‌ها نیز شناسایی شد. X-IAP، سوروایوین و cIAP-1/2 از این دسته‌اند.[۲۵و۲۶] اتصال ممانعت‌کننده‌ها به کاسپازها و مهارکنندگی آن‌ها به وسیله نواحی BIR (baculoviral inhibition of apoptosis protein repeat) موجود در IAP رخ می‌دهد. ناحیه BIR حفاظت شده است و ۷۰ اسید آمینه دارد که به صورت پشت سر هم در باکولو ویروس‌ها تکرار می‌شوند. ناحیه رینگ قسمت دیگری از IAP هاست که به عنوان یک لیگاند عمل می‌کند و قادر به تنظیم پردازش غیرمستقیم کاسپاز است. می‌توان گفت IAPها از طریق رقابت با سوبسترا برای اتصال به کاسپازها موجب ممانعت از افعالیت و در نهایت تخریب کاسپازهای شرکت‌کننده در فرایند آپوپتوز می‌شوند.[۲۶] اتصال ممانعت‌کننده‌ها به کاسپازها و مهارکنندگی آن‌ها به وسیله نواحی BIR موجود در IAP رخ می‌دهد. در نزدیکی ناحیه رینگ منطقه CARD (Caspase associated recruitment domain) وجود دارد که گفته می‌شود IAP ها از طریق این ناحیه به طور غیرمستقیم پردازش کاسپازها را تنظیم می‌کنند. مثال‌هایی از وجود IAP در ویروس‌ها عبارتند از: A224L در آدنو ویروس، IAP در باکولو ویروس با مهار کاسپازهای ۳، ۶ و۷، vICA در سایتو مگالو ویروس با مهار کاسپاز ۸، ICP4 در HSV و Nef در ویروس HIV.[۱۳و۲۹-۲۷]

مولکول P53: مولکول P53 یکی از مهم‌ترین مهارکننده‌های چرخه تکثیر سلولی است که آن را محافظ ژنوم می‌نامند. این مولکول با ایجاد وقفه در مرحله G2 باعث مهار چرخه سلولی می‌شود و با القای آپوپتوز از ایجاد تومور جلوگیری می‌کند. تخریب DNA عامل اصلی فعالیت این مولکول است.[۱۳و۳۰-۲۸] E7 در ویروس پاپیلوما، T Ag در SV40، IE72 در سایتو مگالو ویروس و پروتئین های E4، E1 A , ORF4 در آدنو ویروس‌ها با فعال‌سازی مولکول P53 به راه‌اندازی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول کمک می‌کنند در حالی که E6 در ویروس پاپیلوما، IE2 و IE1 در سایتو مگالو ویروس و X protein در HBV باعث مهار این مولکول می‌شوند و از این طریق به زندگی سلول آلوده کمک می‌کنند.[۲۲]

یون کلسیم: هرگاه میزان یون کلسیم درون سلولی به واسطه فعالیت گسترده پمپ Ca^{2+}-ATPase افزایش یابد یا میزان کلسیم ورودی به اندامک‌هایی نظیر رتیکولوم اندوپلاسمی، هسته و میتوکندری زیاد باشد، آنزیم‌های پروتئازی و اندونوکلئازی وابسته به Ca^{2+} (کاسپازها) فعال شده و مقدمات آپوپتوز فراهم می‌شود.[۵و۶]

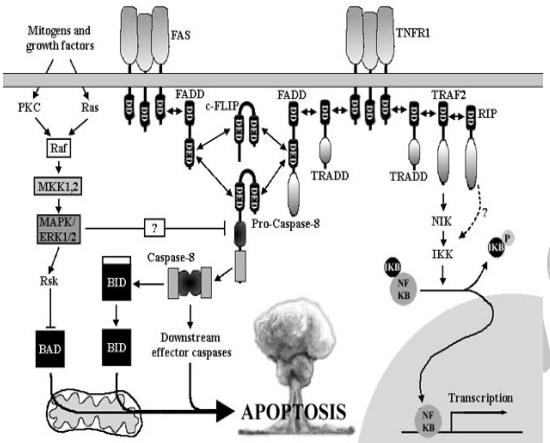
مسیرهای مرگ سلولی: بسته به این که پیام مرگ از چه طریقی به سلول ابلاغ شود، مسیر فعال‌سازی مرگ سلولی متفاوت است. اگر پیام‌ها داخلی باشند، اولین اندامک فعال شده میتوکندری خواهد بود و اگر پیام از طریق رسپتورهای سطحی سلولی بیان شود، انتقال پیام از طریق مولکول‌های سازگارکننده (Adaptor) به آبشار کاسپازی خواهند رسید. میزان مرگ سلولی القا شده توسط رسپتورها شدیدتر از مسیر میتوکندریایی است.

مسیر رسپتوری: رسپتورهای مرگ، رسپتورهای سطحی سلول هستند که پیام را از طریق لیگاندهای مخصوص انتقال می‌دهند و آبشار کاسپازی را فعال می‌کنند (شکل شماره ۲). مهم‌ترین رسپتورهای مرگ، خانواده رسپتوری TNF شامل TNFR-1، CD95(Fas)، TRAMP، TRAIL-1 و TRAIL-2 هستند که مشخصه همه آن‌ها وجود پنج کپی از سیستئین در ناحیه

Archive of SID

www.SID.ir

خارج سلولی آن‌هاست.[۲۶و۲۷] در انتهای کربوکسیل این رسپتورها ناحیه درون سلولی به نام DD (Death domain) وجود دارد. وقتی این رسپتورها به لیگاند خود TNF α، لیمفوتوکسین، FasL و غیره متصل می‌شوند، مرگ سلولی اتفاق می‌افتد. اتصال TNF-α به رسپتور موجب می‌شود مولکول TRADD (TNF-R associated death domain) از طریق واکنش DD به رسپتور TNF متصل شود و خود TRADD هم با DD دوم به خود DD مولکول FADD (Fas-associateddeath domain) اتصال یابد و FADD هم از طریق واکنش (Death effecter domain) DED-DED به پروکاسپاز ۸ متصل شود. تجزیه و تبدیل پروکاسپاز ۸ به کاسپاز ۸ یا فرم فعال آن باعث راه‌اندازی آبشار کاسپازی می‌شود. در مرحله بعد، کاسپاز اجرایی۳ فعال و به نوبه خودباعث فعال‌سازی سایر کاسپازهای اجرایی و پیشرفت چرخه آپوپتوز می‌شود.[۳۰و۳۱] TNFR-1 با به کارگیری مولکول سازگارکننده دیگری به نام RAdd (recombinant human ADAM15 disintegrin domain) نیز می‌تواند خودکشی سلولی را القا کند. RADD از طریق DD خود با مولکول سازگارکننده بعدی به نام RIP واکنش می‌دهد و RIP از طریق دومین CARD عمل می‌کند. مسیر رسپتوری Fas (D95) نیز مانند مسیر TNF-R فعال می‌شود. FasL به صورت ترایمر است و با اتصال Fas به FasL سریعاً کمپلکس پیام‌رسانی القاکننده مرگ از طریق DD فعال می‌شود. FADD از ناحیه DD خود به دومین سیتوپلاسم Fas و از طریق DED خود به پروکاسپاز ۸ متصل می‌شود. FADD تنها مولکول سازگارکننده در این مسیر است و از این منظر با مسیر TNF-R، که از دو مولکول سازگارکننده استفاده می‌کند، متفاوت است. به کمپلکس FADD، Fas و پروکاسپاز ۸، دیسک DISC (dealth inducing signaling complex) گفته می‌شود. مولکول متفاوتی به نام c-FLIP (FLICE inhibitory protein) مسیر مرگ سلولی را از طریق Fas مهار می‌کند. c-FLIP شبیه پروکاسپاز ۸ است، اما مکان فعال پروتئازی را ندارد. بنابراین اگرچه کمپلکس پیام‌رسانی Fas را به خدمت می‌گیرد، اما پیام مرگ را منتقل نمی‌کند. بسیاری از پروتئین‌های ویروسی نقش تنظیم‌کنندگی برای همدیگر دارند. به عنوان مثال ORF_4 پروتئین E_4 آدنو ویروس مسیر Fas را فعال می‌کند، اما E_1B باعث مهار آن می‌شود. gp_{120}، tat و vpr در HIV همگی به فعالیت مسیر Fas کمک می‌کنند. پروتئین کور در HIV به دومین سیتوپلاسمی FasL متصل می‌شود و فعالیت کاسپاز ۳ را افزایش می‌دهد. اما ORVs3 در HSV و Ks13 در HHV-8 با استفاده از مسیر FLIP نقش مهارکنندگی را ایفا می‌کنند.[۳۰-۳۳]



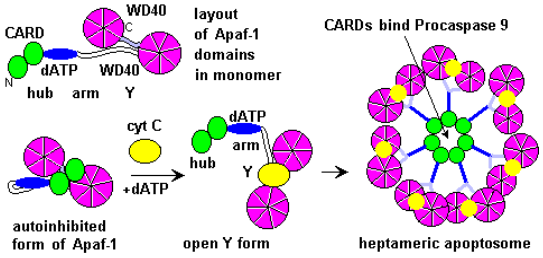
شکل ۲- مسیر رسپتوری و میتوکندریایی مرگ برنامه‌ریزی شده سلول

مسیر میتوکندریایی یا خانه مرگ: میتوکندری به عنوان یکی از اصلی‌ترین اندامک‌های فعال در مسیر مرگ سلولی شناخته شده است. این اندامک با رهایی مولکول‌های فعال‌کننده مکانیسم خودکشی سلولی به صورت مستقیم و یا غیرمستقیم در این فرایند شرکت می‌کند.[۳۰] برخی آنکوپروتئین‌ها مثل محصولات ژن‌های مهارکننده تومور، عوامل عفونت‌زای ویروسی و عوامل دارویی می‌توانند از طریق تأثیر مستقیم بر روی میتوکندری، آپوپتوز را فعال کنند. این پدیده به

Archive of SID

www.SID.ir

بیماری‌های مختلفی نظیر سرطان، تخریب عصبی و ایدز منجر می‌شود. آبشار کاسپازی با رهایی سیتوکروم C از میتوکندری کامل می‌شود. مولکول‌های خانواده Bcl-2 این مرحله را کنترل می‌کنند.[۳۴-۳۶] سایر اعضای این خانواده فعالیت Bak و Bax را القا می‌کنند و سبب القای نفوذپذیری غشای میتوکندریایی و خروج سیتوکروم C از میتوکندری می‌شوند. محل استقرار Bak و Bax قبل از ارسال پیام مرگ متفاوت است. Bak به غشای رتیکولو اندوپلاسمی متصل است، در حالی که Bax به صورت منومر در سیتوزول حضور دارد. پیام آپوپتوز آن‌ها را روی غشای میتوکندری به هم نزدیک می‌کند و با همواليگومریزه کردن آن‌ها با هم، منافذی در سطح غشای میتوکندری ایجاد می‌کند که از طریق آن‌ها خروج سیتوکروم C، اندونوکلئاز G، AIF و Smac اتفاق می‌افتد. AIF (Apoptosis inducing factor) به عنوان فعال‌کننده مکانیسم آپوپتوز و Smac به عنوان مهارکننده فعالیت IAP در فرایند خودکشی سلول شرکت می‌کنند. سیتوکروم C مسیر بعد از میتوکندری را تحریک می‌کند و به یک مولکول پروتئینی به نام Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor 1) متصل می‌شود. این اتصال و ترکیب شدن به Apaf-1 اجازه می‌دهد که ساختار آن تغییر شکل یابد و چندین مولکول از Apaf-1 به هم متصل شوند. در این صورت حالت چرخ مانندی پدید می‌آید که شامل هفت مولکول Apaf-1 است. این حالت چرخ مانند آپوپتوزوم نام دارد و می‌تواند هفت مولکول کاسپاز ۹ را به خدمت گیرد (شکل شماره ۳).[۳۴و۳۷]



شکل ۳- ایجاد آپوپتوزوم

مکانیسم فعال شدن کاسپاز ۹ هنوز مشخص نیست، اما چندین نظریه وجود دارد. براساس نظریه‌ای، کمپلکس Apaf-1، کاسپاز ۹ و سیتوکروم C باعث فعال‌سازی کاسپاز ۹ می‌شوند و سناریوی دیگر بیان می‌کند که ارتباط در کمپلکس آپوپتوزوم با یکدیگر و اثر متقابل هر کمپلکس روی کاسپاز ۹ دیگری باعث فعال‌سازی کاسپازی می‌شود.[۳۴و۳۷] به هر صورت فعال شدن آنزیمی کاسپاز ۹ به فعالیت کاسپاز ۳ منتهی می‌شود. کاسپاز ۳ به عنوان اجرایی‌ترین عضو این مجموعه اعمال گوناگونی را انجام می‌دهد.

وقایع هسته‌ای: نشانه اصلی آپوپتوز قطعه قطعه شدن DNA است که به وسیله فعال‌سازی اندونوکلئاز خاصی انجام می‌شود. مراحل تجزیه DNA عبارتند از:

۱- غیر فعال‌سازی آنزیم‌های درگیر در تعمیر DNA. آنزیم پلی ADP پلیمراز یا PARP (polymeras Poly ADP-ribose) اولین پروتئین شناسایی شده به عنوان سوبسترای کاسپازهاست. این آنزیم در بازسازی DNA تخریب شده دخالت دارد و باعث اصلاح عیوب DNA می‌شود.[۹] کاسپاز ۳ مانع فعالیت PARP در تعمیر DNA می‌شود.

۲- غیر فعال‌سازی آنزیم‌های درگیر در تکثیر سلولی. توپوایزومراز II یکی از آنزیم‌های مهم و اساسی در تکثیر و تعمیر DNA هسته است. کاسپازها می‌توانند باعث غیر فعال شدن این آنزیم شوند و بدین وسیله DNA سلولی را تخریب کنند.

۳- شکستن پروتئین هسته‌ای ساختاری- لامین‌های غشای هسته توسط کاسپاز ۶ تخریب و باعث تراکم کروماتین و قطعه قطعه شدن آن در سلول‌های آپوپتوزی می‌شوند.

۴- قطعه قطعه شدن DNA- این پدیده به علت تولید آنزیم CAD (Caspase Activated DNase) رخ می‌دهد. CAD به صورت طبیعی غیر فعال است. CAD یا مهارکننده CAD به وسیله کاسپاز ۳ تجزیه و CAD فعال، رها می‌شود و به علت خاصیت DNase خود که قوی‌تر از DNase I و DNase II سلولی است، DNA را

Archive of SID

www.SID.ir

به سرعت قطعه قطعه می‌کند. قطعه‌های نهایی ۱۸۰ تا ۲۰۰ جفت باز دارند و روی ژل به صورت نردبانی دیده می‌شوند. این ساختار نردبانی نیز یکی از مشخصات اصلی فرایند آپوپتوز است.[۱۱و۳۸و۳۹]

تغییرات اسکلت سلولی: اکتین، وایمنتین و کادهرین از سوبستراهای مناسب کاسپازها محسوب می‌شوند. کاسپازها با تجزیه و شکست مولکول‌های فوق اسکلت سلولی را تخریب و متزلزل می‌کنند. متورم شدن سلول به دلیل تجزیه و فعال‌سازی ژلوسین کیناز به وسیله p^{21}، اتفاق می‌افتد که باعث تجزیه فودرین و جدا شدن غشای سیتوپلاسمی از اسکلت سلولی می‌شود. این اتفاق در کشش و امتداد میکرو فلامان‌ها مؤثر است.[۴۰] در برخی گونه‌های سلولی خروج فسفاتیدیل سرین به سمت خارجی غشا نیز وابسته به کاسپازهاست.[۳۹] مکانیسم دقیق این رویدادها هنوز شناسایی نشده، اما نتیجه تمام این واکنش‌ها سوق یافتن سلول به سمت تولید اجسام آپوپتوزی است.

اجسام آپوپتوزی: بعد از تمامی تغییرات ذکر شده سلول به اجسام وزیکول مانندی تقسیم می‌شود که هر کدام از آن‌ها دارای مقداری از محتویات سلولی هستند. سلول‌های مجاور یا فاگوسیت‌های حرفه‌ای اجسام آپوپتوزی را به دام می‌اندازند و هضم می‌کنند، بدون این که واکنش‌های التهابی سلولی را فعال سازند. بدین ترتیب سرنوشت یک سلول آپوپتوزی به پایان می‌رسد و این چرخه ادامه می‌یابد.[۸و۱۱و۱۶]

❋ بحث و نتیجه‌گیری:

به طور کلی فرایند آپوپتوز شامل نوع خاصی از مرگ سلولی است که در غیاب التهاب رخ می‌دهد. حذف سلول‌های ناخواسته در بسیاری از موجودات پرسلولی و حتی تک سلولی توسط این فرایند سازماندهی می‌شود. آپوپتوز سلولی با تولید و آزادسازی عوامل مختلف آغاز می‌شود و به انجام می‌رسد. آثار ناشی از آپوپتوز وابسته به محیطی است که در آن مرگ برنامه‌ریزی شده سلول رخ می‌دهد. مرگ در اثر آپوپتوز در بعضی از سلول‌های جاندار می‌تواند باعث راه‌اندازی و بلوغ سلول‌های دندرتیک در سیستم ایمنی شود. سیتوکین‌هایی مثل 1L-1β و انترفرون نوع یک در راه‌اندازی این فرایند میانجی‌گری می‌کنند.[۲۶و۳۸] امروزه با به کارگیری ژن‌های القاکننده آپوپتوز و در مواردی با به کارگیری ژن‌های مهارکننده این فرایند، هدایت سیستم ایمنی به سمت دلخواه در تعادل میان پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال به کار گرفته می‌شود. از طرف دیگر، اثر این ژن‌ها در درمان سرطان، بیماری‌های خود ایمنی و آلرژی مورد بحث و بررسی است.[۱۳و۱۵و۳۹و۴۳-۴۱]

❋ مراجع:

1. Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implication in tissue kinetics. Br J Cancer 1972 Aug; 26 (4): 239-57
2. Mustafa A. Correlation between levels of apoptosis, levels of infection and hemagglutinin receptor binding interaction of various subtypes of influenza virus: does the viral neuraminidase have role in this associations. Virus Res 2002 May 10; 85 (2): 123-31
3. Hood C, Cunningham AL, Slobedman B, et al. Varicella-Zoster Virus-Infected Human Sensory Neurons Are Resistant to Apoptosis, yet Human Foreskin Fibroblasts Are Susceptible: Evidence for a Cell-Type-Specific Apoptotic Response. J Virol. 2003 Dec; 77 (23): 12852-64
4. Bolchon S, Demeret C. The regulatory E2 proteins of human genital papillomaviruses are pro-apoptotic. Biochimie 2003 Aug; 85 (8): 813-9
5. Rajaei F, Karja NW, Agung B, et al. Analysis of DNA fragmentation of porcine embryos exposed to cryoprotectants. Reprod

Archive of SID

www.SID.ir

Domest Anim 2005 Oct; 40 (5): 429-32
6. Meier P, Finch A, Evan G. Apoptosis in development. Nature 2000 Oct 12; 407 (6805): 769-801
7. Cory S, Strasser A, Jacks T, et al. Enhanced cell survival and tumorigenesis. Cold Spring Harb Symp Quant Biol 1994; 59: 365-75
8. Dlamini Z, Mbita Z, Zungu M. Genealogy, expression, and molecular mechanisms in apoptosis. Pharmacol Ther 2004 Jan; 101 (1): 1-15
9. Rajaei F, Otoi T. Effect of cryoprotectants on DNA fragmentation in porcine blastocysts. J Reprod Infertil 2007; 5: 37-43
10. Nagata S. Apoptosis by death factor. Cell 1997 Feb 7; 88 (3): 355-65
11. Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. Pharmacol Ther 2001 Oct; 92 (1): 57-70
12. Steller H. Mechanisms and genes of cellular suicide. Science 1995 Mar 10; 276 (5203): 1445-9
13. Lebedeva IV, Su ZZ, Sarkar D, Fisher PB. Rrestoring apoptosis as a strategy for cancer gene therapy: Focus on P53 and mda-7. Semin Cancer Biol 2003 Apr; 13 (2): 169-78
14. Borhani N, Rajaei F, Salehi Z, Javadi A. Analysis of DNA fragmentation in mouse embryos exposed to an extremely low-frequency electromagnetic field. Electromagn Biol Med 2011 Dec; 30 (4): 246-52
15. Rajaei F, Rad JS, Niknafs B, et al. Effect of vitrification on apoptosis in mouse blastocysts. J Reprod Infertil 2004; 7: 14-22
16. Li X, Stark GR. NF-kappaB–dependent signaling pathways. Exp Hepatol 2002 Apr; 30 (4): 285-96
17. Raveendran AT, Skaria PC. Learning and cognitive deficits in hypoxic neonatal rats intensified by BAX mediated apoptosis: protective role of glucose, oxygen and epinephrine. Int J Neurosci 2013 Feb; 123 (2): 80-8
18. Cory S, Adams JM. The Bcl2 family: regulators of the cellular life-or-death switch. Nat Rev Cancer 2002 Sep; 2 (9): 647-56
19. Reed JC. Bcl-2 family protein. Oncogenes 1998; 17: 3225-36
20. Benedict CA, Norris PS, Prigozy TI, et al. Three adenoviurs E3 protein cooperate to wade apoptosis by tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand receptor-1 and 2. J Biol Chem 2001 Feb 2; 276 (5): 3270-8
21. Polster BM, Pevsner J, Hardwick JM. Viral Bcl-2 homologs and their role in virus replication and associated diseases. Biochim Biophys Acta 2004 Mar 1; 1644 (2-3): 211-27
22. Hay S, Kannourakis G. A time to kill: viral manipulation of cell death program. J Gen Virol 2002 Jul; 83 (Pt 7): 1547-64
23. Schwerk C, Schulze-Osthoff K. Non apoptotic functions of caspases in cellular proliferation and differentiation. Biochem Pharmacol 2003 Oct 15; 66 (8): 1453-8
24. Steller H. Artifical death switches: induction of apoptosis by chemically induced caspase multimerization. Proc Natl Acad Sci U S A 1998 May 12; 95 (10): 5421-2
25. Irusta PM, Chen YB, Hardwick JM. Viral modulators of cell death provide new links to old pathways. Curr Opin Cell Biol 2003 Dec; 15 (6): 700-5
26. Viard-Leveugle I, Gaide O, Jankovic D, et al .TNF-α and IFN-γ are potential inducers of Fas-mediated keratinocyte apoptosis through activation of inducible nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis. J Invest Dermatol 2013 Feb; 133 (2): 489-98

Archive of SID

www.SID.ir

27. O'Brien V. Viruses and apoptosis. J Gen Virol 1998 Aug; 79 (Pt 8): 1833-45
28. Höpker K, Hagmann H, Khurshid S, et al. Putting the brakes on p53-driven apoptosis. Cell Cycle 2012 Nov 15; 11 (22): 4122-8
29. Brosh R, Assia-Alroy Y, Molchadsky A, et al. P53 counteracts reprogramming by inhibiting mesenchymal - to - epithelial transition. Cell Death Differ 2013 Feb; 20 (2): 312-20
30. Hengarther MQ. The biochemistry of apoptosis. Nature 2000 Oct 12; 407 (6805): 770-6
31. Suliman A, Lam A, Datta R, Srivastava RK. Intracellular mechanisms of TRAIL: Apoptosis through mitochondrial-dependent and -independent pathways. Oncogene 2001 Apr; 20 (17): 2122-33
32. Benedict CA, Banks TA, Ware CF. Death and survival: Viral regulation of TNF signaling pathways. Curr Opin Immunol 2003 Feb; 15 (1): 59-65
33. Tungaturthi PK, Sawaya BE, Singh SP, et al. Role of HIV-1 Vpr in AIDS pathogenesis: Relevance and implications of inravirion, intracellular and free Vpr. Biomed Pharmacother 2003 Jan; 57 (1): 20-4
34. Kroemer G. Mitochondrial control of apoptosis: An introduction. Biochem Biophys Res Commun 2003 May 9; 304 (3): 433-5
35. Rogalska A, Marczak A, Gajek A, et al. Induction of apoptosis in human ovarian cancer cells by new anticancer compounds, epothilone A and B. Toxicol In Vitro 2013 Feb; 27 (1): 239-49
36. Faber AC, Ebi H, Costa C, Engelman JA. Apoptosis in targeted therapy responses: The role of BIM. Adv Pharmacol 2012; 65: 519-42
37. Boya P, Roumier T, Andreau K, et al. Mitochondrion-targeted apoptosis regulators of viral origin. Biochem Biophys Res Commun 2003 May 9; 304 (3): 575-81
38. Takikita S, Takano T, Narita T, et al. Neuronal apoptosis mediated by IL-1 beta expression in viral encephalaitis caused by a neuroadapted strain of mumps virus (Kilham Strain) in hamsters. Exp Neurol 2001 Nov; 172 (1): 47-59
39. Lin LL, Huang HC, Juan HF. Revealing the molecular mechanism of gastric cancer marker annexin A4 in cancer cell proliferation using exon arrays. PLoS One 2012; 7 (9): e44615
40. Mazumdar B, Meyer K, Ray R. N-terminal region of gelsolin induces apoptosis of activated hepatic stellate cells by a caspase-dependent mechanism. PLoS One 2012; 7 (8): e44461
41. Nicholson DW. From bench to clinic with apoptosis - based therapeutic agents. Nature 2000 Oct 12; 407 (6805): 810-6
42. Cartier A, Komai T, Masucci MG. The Us3 protein kinase of herpes simplex virus 1 blokes apoptosis and induces phosphorilation of the Bcl-2 family member Bad. Exp Cell Res 2003 Nov 15; 291 (1): 242-50
43. Castillo JP, Kowalik TF. Human cytomegalovirus immediate early protein and cell growth control. Gene 2002 May 15; 290 (1-2): 19-34

Archive of SID

www.SID.ir