

# الموت الخلوي المبرمج Apoptosis

تأليف أ.د. سعد بن حسين سعد القحطاني كلية العلوم – جامعة الملك سعود

21249

# رح سعد حسين القحطاني



# فهرست مكتبة الملك فهد الوطنية أثناء النشر

القحطاني ، سعد حسين

الموت الخلوي المبرمج/ سعد حسين القحطاني \_الرياض، ١٤٣٩هـ ۲٤٠ ص؛ ۲۷×۲۶سم

> ردمك:۸\_۹۷۸ ماه ۲۰۳\_۰۲\_۵۰۶ ١\_ الخلايا ٢\_ الموت\_ أ. العنوان

ديوى ۸۷, ۷۵ه ۱٤٣٩ / ۱۹۳۱

رقم الإداع: ١٥٥١/ ١٤٣٩ ردمك: ۸\_۹۷۸ م ۲۰۳\_۰۲\_۵۷۸

#### المقدمة

# بسم الله، والحمد لله والصلاة والسلام على رسول الله، وبعد:

انطلاقاً من الإيمان العميق بقدرة لغتنا العربية على استيعاب كل فرع من فروع المعرفة، ونظراً لعدم وجود كتب أو مؤلفات باللغة العربية تبحث ظاهرة الموت الخلوي المبرمج، جاءت فكرة تأليف هذا الكتاب لخدمة الطالب والباحث العربي ولإثراء المكتبة العربية وليكون رافداً من روافد المعرفة ومعيناً لكل طالب علم يعتز بلغته العربية، لغة القرآن الكريم. إن طالب العلم الشغوف بعلم الأحياء عامة وعلم الخلية خاصة يتطرق خلال دراسته لحياة الخلية وتنظيمها والأحداث التي تمر بحا منذ نشأتها حتى فنائها. وكما المختلفة التي تلعب دوراً مهماً في حياة الخلايا وبقائها على قيد الحياة أو موتها في كثير من الأحيان. ومن أهم الظواهر الحيوية التي تحدث للخلية عند تعرضها لمسببات الموت الخلوي ظاهرة الانتحار الخلوي أو التحطيم الذاتي الذي اتفق العلماء على تسميته الموت الخلوي المبرمج (Programmed cell death (Apoptosis).

اهتم العلماء والباحثون في السنوات الأخيرة بظاهرة الموت الخلوي المبرمج أسبابه وأهميته وآليات حدوثه، وتأثيره عند زيادة أو نقصان معدله الطبيعي. تم في هذا الكتاب طرح ظاهرة الموت الخلوي المبرمج بأسلوب سهل وميسر، مع الأخذ بعين الاعتبار أهمية

#### الموت الخلوي المبرمج

المصطلحات العلمية المستخدمة عالمياً والتي أُعيرت في هذا الكتاب اهتماماً خاصاً، حيث أدرجت حيثما وجدت ضرورية جنباً إلى جنب مع المصطلحات العربية. أثناء تأليف هذا الكتاب تمت الاستعانة ببعض المراجع الأجنبية والعديد من الأبحاث التي نشرها المؤلف حول ظاهرة الموت الخلوي المبرمج.

إن تقديم الأساس العلمي السليم، وانتهاج الأسلوب والوسيلة الجيدة والمناسبة هو ما نحدف للوصول إليه. ولذلك فقد تضمن هذا الكتاب العديد من المواضيع والعناوين المترابطة والمتسقة مع بعضها البعض في تسلسل يجعل القارئ ينتقل من موضوع إلى آخر بسلاسة. كما زود الكتاب بالعديد من الصور الملونة والرسومات والأشكال التوضيحية والجداول لتوضيح بعض الأفكار بطريقة فريدة. وأخيراً نسأل المولى سبحانه وتعالى أن ينفع بهذا الكتاب كل طالب علم.

## والله ولى التوفيق

المؤلف

# المحتويات

حة	الصف
	مقدمة الكتاب
	قائمة الاختصاراتم
	الفصل الأول: مقدمة عن الموت الخلوي المبرمج
	الفصل الثاني: أنواع الموت الخلوي
	الموت الخلوي المبرمج
	الموت الخلوي بالتنكرز (بالنخر الخلوي)
	الالتهام الذاتي
	أهمية الموت الخلوي المبرمج
	التمييز بين الموت الخلوي المبرمج والموت الخلوي بالتنكرز
	الفصل الثالث: تلف الدنا وموت الخلايا المبرمج
	المواد المؤكسدة
	مضادات الأكسدة
	مضادات الأكسدة الإنزيمية

حة	الصف
	مضادات الأكسدة غير الإنزيمية
	تنظيم ومراقبة دورة الخلية
	أنواع تلف الدنا ونُظم الإصلاح
	حساسات تلف الدنا
	الاستجابة لتلف الدنا
	اكتشاف الطفرات الوراثية
	اختبار إيمز
	الفصل الرابع: آليات إصلاح الدنا
	تجنب الأخطاء قبل وقوعها
	التصحيح المباشر للأضرار الطفورية
	نظام الإصلاح بالاستئصال
	نظام إصلاح التزاوجات الخاطئة
	نظام الإصلاح المعرض للخطأ٥٣٠.
	نظام إصلاح كسور شريطي الدنا
	تغيرات الكروماتين وإصلاح تلف الدنا٥٨
	الفصل الخامس: إشارات الموت الخلوي المبرمج
	محفزات الموت الخلوي المبرمج
	مثبطات الموت الخلوي المبرمج
	الجينات المنظمة للموت الخلوي المبرمج
	مسارات مستقبلات الموت
	إشارات الموت الخلوي بواسطة عامل تنكرز الورم السرطاني
	اشارات الموت الخلوي بواسطة دوتين Fas

المحتويات ط

ئة	الصفح
	دور مستقبلات FAS و TNF في سلسلة إشارات الموت الخلوي
	إشارات الموت الخلوي المبرمج بواسطة مستقبلات TRAIL
	دور الجين myc في السيطرة على موت الخلايا المبرمج
	دور بروتينات Bcl-2 في تنظيم الموت الخلوي المبرمج
	آلية عمل بروتينات  Bcl-2
	التنظيم بواسطة البروتينات المثبطة للموت الخلوي المبرمج
	۷٩ في تنظيم الموت الخلوي المبرمج $P^{53}$
	لفصل االسادس: الآليات الجزيئية لمسارات إشارات الموت الخلوي المبرمج٨٣
	الميتوكوندريا تنظم مسارات الموت الخلوي المبرمج
	الآليات المنظمة لإشارات الموت الخلوي المبرمج
	مسارات الموت الخلوي المبرمج
	مسارات الموت الخلوي المبرمج الداخلية
	مسارات الموت الخلوي المبرمج الخارجية
	إنزيمات الكاسبيس
	منصات تنشيط الموت الخلوي المبرمج
	تنشيط إنزيمات الكاسبيس
	تنشيط الكاسبيس المنفذة بواسطة الانشطار
	الموت الخلوي المبرمج وإشارات الالتهاب
	_

الفصل السابع: الالتهام الذاتي والموت الخلوي....

تحلل البروتينات .....

نظام الأبكوتين/ الجسم المحلل....

#### الصفحة

<b>\</b>	نظام التحلل الإنزيمي (اللايسوسومي)
1.1	آلية الالتهام الذاتي للجزيئات الكبيرة
1.1	آلية الالتهام الذاتي للجزيئات الصغيرة
1.1	آلية الالتهام الذاتي بواسطة الشبرونات
1.7	الوظائف الفسيولوجية للالتهام الذاتي
1.7	الالتهام الذاتي وعلم الأمراض
١.٥	الالتهام الذاتي كآلية مضادة للموت الخلوي
١٠٧	الالتهام الذاتي كآلية للموت الخلوي
١٠٨	الآلية الجزيئية للالتهام الذاتي
1.9	الالتهام الذاتي: الموت الخلوي والسرطان
111	الفصل الثامن: التخلص من الخلايا الميتة
117	التحرك نحو الخلايا الميتة
118	التعرف على الخلايا الميتة
١١٨	ابتلاع الخلايا الميتة
171	هضم وتحلل الخلايا الميتة
خلوي المبرمج١٢٧	الفصل التاسع: الشبكة الإندوبلازمية والموت ال
١٢٨	تحور سلسلة عديد الببتيد
179	آليات تحور أو انثناء البروتينات ومعالجتها
	آلية الشبرونات
	الآلية الإنزيمية
	آلية التفلج

المحتويات المحتويات

: : tı	
الصفحة	
لمويلوي	الاستجابة لإجهاد الشبكة الإندوبلازمية والموت الخ
170	الفصل العاشر: الكشف عن الموت الخلوي المبرمج
177	الكشف بواسطة الجحهر الضوئي
177	الكشف بواسطة الجحهر الإلكتروني
١٣٧	الكشف بواسطة اختبار تنل TUNEL
	الكشف بواسطة اختبار تجزئة الدنا
١٤١	الكشف بواسطة اختبار PARP
١ ٤ ٤	الكشف بواسطة اختبار الامينا
١٤٦	الكشف بواسطة اختبار MTT
١٤٨	الكشف بواسطة اختبار كومت
101	الكشف بواسطة اختبار Apopercentage
108	الكشف بواسطة اختبار Annexin V
107	الكشف بواسطة اختبار إنزيم كاسبيس-٣
لايا الكبد	الفصل الحادي عشر: الموت الخلوي المبرمج في خ
17	خلايا كوفر
17	الخلايا النجمية
171	الخلايا البطانية الجيبية
171	خلايا النقرة
171	خلايا الصفراء
177	إشارة الموت الخلوي المبرمج في الكبد
	آليات الموت الخلوي المبرمج في خلايا الكبد
178	الموت الخلوي المبرمج والتليف

# 

المراجع ......ا

#### الاختصارات: Abbreviations

**AGE**: Agarose gel electrophoresis.

AIF: Apoptosis inducing factor.

APAF: Apoptotic protease activation factor.

**APO-1**: Apoptosis antigen-1.

**APP**: Amyloid precursor protein.

Atg: AuTophaGy.

ATM: Ataxia telangiectasia mutated.

ATR: Ataxia-telangiectasia and Rad3 related.

Bad: Bcl-2-associated death.

Bak: Bcl-2 antagonist killer-1.

Bax: Bcl-2 associated X.

**Bcl-2**: B cell lymphoma-2.

Bcl-xL: B-cell lymphomaextra large.

**BHT**: Butylated hydroxytoluene.

Bid: Bcl-2 interacting-domain.

**Bim**: Bcl-2 interacting mediator of cell death.

C1q: Complement factor-1q.

**CAD**: Caspase-Activated DNase.

**CARD**: Caspases recruit domain.

Caspase: Cysteine Dependent Aspartate-Specific Proteases.

CD40: Cluster of Differentiation-40.

Cdks: Cyclin dependent kinases.

CHOP: CCAAT homologous protein.

CMA: Chaperone-mediated autophagy.

**c-myc**: Avian myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog.

Cox-2: Cyclooxygenase-2.

CPP32: Cysteine protease P32.

CRT: Calreticulin.

**DAB**: Diaminobenzidine.

DcR1: Decoy receptors-1.

**DD**: Death domains.

**DEDs**: Death effector domains.

**DEL-1**: Developmental endothelial locus-1.

**DISC**: Death-inducing signaling complex.

**DNA**: Deoxyribonucleic acid.

DR: Death receptor.

dRpase: Deoxyribophosphodiesterase.

**DSBs**: Double-strand DNA breaks.

dsDBs: Double-strand DNA breaks.

dsDNA: Double strand DNA.

dUTP: Deoxyuridine Triphosphate.

ECM: Extra cellular matrix.

**EMS**: Ethyl MethaneSulfonate.

**FACS**: Fluorescence-activated cell sorting.

FADD: Fas-associated death domain.

FC: Free cholesterol.

FITC: Fluorescein Isothiocyanate.

GGR: Global genomic repair.

الاختصارات

**GM**: Granulocytes-Macrophages.

**GP1**: Glycosylphosphatidylinositol.

**GSH**: Glutathione reductase.

HATs: Acetyl transferases.

Hb: Hemoglobin.

**HMTs**: Histone methyltransferases.

HRR: Homologous recombination repair.

IAP: Inhibitors of Apoptosis Proteins.

**ICE**: Intrlukin-1β converting enzyme.

**IL-1β**: Interleukin-1β.

**IRE-1**: Inositol-requiring enzyme-1.

JNK: Jun N-terminal kinase.

LGLs: Large granular lymphocytes.

LPC: Lysophosphatidylcholine.

MAPK: Mitogen-activated protein kinases.

MAPs: Microtubule-associated proteins.

Mcl-1: Myeloid cell leukemia-1.

MCP:1Monocyte chemoattractant protein-1.

**MEFs**: Mouse embryonic fibroblasts.

 $\label{eq:mfg-estimate} \textbf{MFG-E8}: \ \ \textbf{Milk-fat-globule-EGF-Factor-8}.$ 

MMP: Mitochondria membranes permeability.

MMS: Methyl MethaneSulfonate.

MPF: Mitosis -promoting factor.

MTT:3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide.

**NADPH**: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate.

NG: Nitroosogaunidine.

NGF: Nerve Growth Factor.

NHEJR: Non-homologous end joining repair.

**OD**: Optical density.

Omi/HtrA2: Omi/HtrA2Mitochondrial apoptotic serine protease.

PARP:Poly(ADP-ribose) polymerase

P<sup>53</sup>: Tumor suppressor protein.

PI: Propidium Iodide.

PI3K: Phosphatidylinositol-3-Kinase.

**PS**: Phosphatidylserine.

PT: Permeability Transition.

Rac: Ras-related C3.

RNA: Ribonucleic acid.

**ROS**: Reactive oxygen species.

**rRNA**: Ribosomal RNA.

**SAP**: Serum amyloid-P.

SCGE: Single cell gel electrophoresis assay.

SMAC: Second mitochondria-derived activator of caspase.

SMC1: Structural Maintenance of Chromosomes.

**SOD**: Superoxide dismutase.

SRA: Steroid receptor RNA activator.

ssDBs: Single-strand breaks.

ssDNA: Single strand DNA.

**SSP:** Single-strand DNA-binding protein.

tBid: Truncated Bid.

TC-NER: Transcription-coupled - nucleotide excision repair.

TdT: Terminal deoxynucleotidyI transferase.

**TGF-**β: Transforming growth factor beta.

TLR4: Toll-like receptor-4.

TNF: Tumor necrosis factor.

الاختصارات ف

TOR: Rapamycin.

**TOR**: Target of rapamycin.

**TRADD**: Tumor necrosis factor receptor type-1 associated death domain protein.

TRAIL: TNF-related apoptosis-inducing ligand.

TUNEL: Terminal deoxynucleotidyI transferase mediated dUTP nick end labeling.

**β2GPI** :β2 glycoprotein-I.

# لالفصل لالأول

# الموت الخلوي المبرمج Apoptosis

#### مقدمة: Introduction

يتكون جسم الكائن الحي إما من حلية واحدة كما في الكائنات وحيدة الخلية أو من عدة خلايا كما في الكائنات عديدة الخلايا، الأخيرة تتباين في تركيبها وتعقيدها من كائنات بسيطة التركيب إلى كائنات معقدة التركيب كما في الإنسان. كما هو معروف أن الخلايا تنشأ من خلايا سابقة لها عن طريق الانقسام الخلوي، حيث تنمو الخلايا وتتمايز حتى تصل للحجم الطبيعي وتبقى على قيد الحياة تؤدي وظائفها المناطة بها إلى أن ينتهي عمرها الافتراضي وتموت بمشيئة الله سبحانه وتعالى.

تتعرض الخلايا أثناء فترة حياتها لظروف وعوامل مختلفة تنشأ من داخل الخلية و/ أو خارجها قد تحول دون استمرار الخلايا وبقائها على قيد الحياة، مما يؤدي إلى موت تلك الخلايا. تسلك الخلية إحدى طرق الموت الخلوي المختلفة بناء على نوع وشدة العوامل المسببة لموت الخلية، كما سيتضح ذلك لاحقاً من خلال عرض أنواع الموت الخلوي. كما يعتبر موت الخلايا وتكاثرها أو انتشارها وجهان لعملة واحدة فكلاهما يؤدي دوراً مهماً في الحفاظ على التوازن الخلوي Cellular homeostasis. توجد سلسلة من التنظيمات الخلوية للسيطرة على حياة وموت الخلية على المستوى الجزيئي، وهذه التنظيمات معقدة بشكل كبير وتحتاج لمزيد من البحث والتحري، فالتنظيم الدقيق للاستجابات الخلوية المختلفة

للمؤثرات الخارجية والداخلية يحافظ على ضبط التوازن الخلوي بالشكل المطلوب، وفي حال اختلال هذا التوازن تتحول حالة الخلية إلى حالة غير طبيعية أو مرضية تتطور حتى تموت الخلية.

استخدم العلماء والباحثون الكلمة الإغريقية Apoptosis التي تعني عملية التساقط الطبيعي لأوراق الشجر، وهذا التساقط هو شكل مميز من أشكال الموت الخلوي الذي يطلق عليه الموت الخلوي المبرمج Programmed cell death. وهذا يؤكد أن موت الخلايا هو جزء تكاملي وضروري لدورة حياة الكائنات الحية. فهذا النمط من الموت الخلوي هو عملية نشطة ومحددة تلعب دوراً مهماً في نمو وتكوين الكائنات الحية متعددة الخلايا وفي التنظيم والحفاظ على الخلايا داخل الأنسجة المختلفة تحت الظروف الفسيولوجية المختلفة. ولا بد من التركيز على أن الموت الخلوي المبرمج هو عملية محددة المعالم تتضمن سلسلة من الخطوات المنظمة التي تؤدي في النهاية إلى التدمير الذاتي للخلية تحصائصه، فهو يصف العمليات الشكلية التي تؤدي إلى التحطيم الخلوي الذاتي المنظم، بعكس الأنواع الأحرى من الموت الخلوي التي تتم بطرق مختلفة والتي قد يكون لها أيضاً أهمية حيوية.

في عام ١٩٧٢م لاحظ الأسترالي كير Kerr وزملاؤه ظاهرة غريبة تتعلق بالموت الخلوي في أنسجة بعض الكائنات الحية وخاصة الثدييات. فقد لاحظ هؤلاء الباحثون أن هناك عملية حيوية مهمة يتم من خلالها التخلص من خلايا معينة واستبعادها نفائياً من النسيج، مثل الخلايا الهرمة أو المصابة أو المتساقطة خلال التكوين الطبيعي للحيوان أو تلك التي بحا طفرات جينية دون خلايا أخرى في نفس النسيج وذلك بطريقة منظمة ودقيقة جداً. ولقد أثارت هذه الظاهرة تساؤل العديد من العلماء المهتمين بمجال بيولوجيا الخلية من حيث ماهية الأسباب التي أدت إلى حدوث ذلك الموت المفاجئ للخلية، ثم بدأت ملاحظات العلماء حول هذه الظاهرة تتزايد بشكل

مطرد، حيث لاحظوا أن الموت الخلوي المبرمج قد يحدث بسبب العديد من العوامل المحتلفة التي قد تنشأ من داخل الخلية أو من خارجها، ومن أمثلة هذه العوامل افتقاد الخلية لأحد العناصر المهمة واللازمة لاستمرار حياتها أو نتيجة لتلف المادة الوراثية مثل تلف الدنا DNA أو المعاملة بعقاقير ذات سمية خلوية أو التعرض للأشعة الضارة أو فقد إشارات البقاء أو الإجهاد التأكسدي Oxidative stress.. الخ. تستجيب الخلية للمؤثرات والعوامل السابقة التي قد تؤدي إلى موتها بطريقة مبرجحة. ومما هو حدير بالذكر في هذا السياق أن تكاثر الخلايا وحدوث الموت الخلوي المبرمج هما عمليتان أساسيتان وضروريتان لصيانة الأنسجة وثباتها في جسم الإنسان والحيوان، وكلتا العمليتين تتضمنان سلسلة من الأحداث الجزيئية المعقدة التي تضمن بقاء معدل عمل غلى المبرمج. فقد ذكر الباحثون أن العمليات الحيوية التي تتم داخل الخلية تعمل على مدار الساعة من أجل استمرار النمو المنظم والموت المنظم على حد سواء، كما أن الموت الخلوي يلعب دوراً أساسياً في عمليات التمايز والنمو الخلوي، فهناك عدد كبير من الخلايا تموت أثناء التطور الجنيني مثل ما يحدث خلال عمليات تشكل الأنسجة من الخلايا وروعوان Organogenesis (القحطان).

إن حياة الخلايا وموتها يحدثان بشكل متوازٍ ومتوازن، ويتطلب كل منهما الآخر، فقد تموت الخلايا لأنها أصبحت هرمة أي دخلت في مرحلة الشيخوخة Aging أو معابة أو لأنها تحمل بعض الأضرار، الشيء المؤكد هو أن جميع الخلايا مبرجحة في الواقع على أن تموت وليس العكس، غير أن الخلايا التي بقيت على قيد الحياة محمية بواسطة إشارات البقاء البقاء Survival signals التي تمنع هذا النوع من الموت المبرمج، فبسبب إشارات البقاء تستمر الخلايا على قيد الحياة وتتكاثر وتتمايز وتتشكل لتقوم بجميع وظائفها الحيوية المختلفة. ولهذا فإن إشارات البقاء تلعب دوراً محورياً في مقاومة إشارات الموت الحياة، كما signals. حيث تنبعث إشارات البقاء من عدة مصادر متنوعة داخل وحارج الخلية، كما

يوجد هناك تناسق وانسجام تام ودقيق جداً بين تلك المصادر، أما عند غياب هذه الإشارات أو منع تأثيرها فإن إشارات الموت تنشط. يقع قدر أو مصير الخلية تحت تأثير وسيطرة العديد من العوامل المختلفة كنوع وشدة الضرر الذي تعرضت له الخلية والفترة الزمنية وغير ذلك من العوامل التي تحدد طريقة الموت الخلوي الذي ستنتهجه الخلية. وعلى هذا الأساس قسم الموت الخلوي إلى عدة أنواع، سيتم التطرق إليها بشكل مختصر ثم يناقش الموت الخلوي المبرمج بشكل أكثر تفصيلاً.

ينظر العلماء لموت الخلايا المبرمج على أنه مسار صيانة فسيولوجية خلوية، بمعنى أنه يخلص النسيج من الخلايا الميتة دون أن يترك آثاراً سلبية على بقية النسيج. إلا أن كثيراً من التفاصيل الجزيئية لآليات وأحداث الموت الخلوي المبرمج ما زال يكتنفها بعض الغموض، ولا يزال هناك حدل كبير حول هذه الظاهرة الحيوية المهمة. يبين هذا الكتاب أهم وأبرز أحداث الموت الخلوي بشكل عام والموت الخلوي المبرمج بشكل خاص من خلال عرض مفصل لأهم الآليات الجزيئية التي تم التعرف عليها حتى الآن بطريقة سهلة ومبسطة مع التدعيم بالصور والجداول التوضيحية المبسطة.

# لالفصل لالثاني

# أنواع الموت الخلوي Types of cell death

خلق الله سبحانه وتعالى الكون بما فيه من مكونات حية وغير حية بشكل دقيق ومتوازن، وقد ذُكر ذلك في كتابه الكريم أكثر من مرة قال تعالى ﴿إِنَّاكُلُّ شَيْءٍ خَلَقْتَهُ مِقَدَرٍ ﴾ [القمر: ٩٤]. إن حياة الكائن الحي وموته تخضعان لتنظيم وتوازن بالغ الدقة يحكمه نظام خلوي بديع، وهذا التوازن بين الحياة والموت يتطلب أنظمة خلوية دقيقة يتم الكشف عنها بالطرق المخبرية الحديثة. يكون معدل النمو والتكاثر الخلوي في أثناء مراحل النمو الأولى أعلى من معدل الموت الخلوي ما لم يكن هناك عوامل غير طبيعية قد تغير من هذا النسق هذا التوازن، وعندما يصل الكائن الحي لمرحلة معينة خلال فترة حياته يتغير هذا النسق فيصبح موت الخلايا وضمورها يشكل نسبة أعلى مقارنة بالسنوات السابقة. إن العوامل المسببة للموت الخلوي ونوعها والظروف الفسيولوجية الحيطة بالخلايا تفرض على الخلايا فقد تقرر المستجيب لها بالطريقة الملائمة وبالتالي تتخذ الخلايا طريقة الموت المناسبة، فقد تقرر الموت الخلوي المبرمج أو الموت الخلوي بالنخر (التنكرز) أو بالالتهام الذاتي.

#### أولاً: الموت الخلوي المبرمج Apoptosis

يعتبر موت الخلايا المبرمج أحد أنواع الموت الخلوي، بل وأكثرها أهمية لما له من دور فعال في الحفاظ على حالة التوازن الخلوي. تتضمن آليات هذا النوع من الموت

الخلوي انفصال الخلية المصابة من الخلايا الجاورة لها في النسيج دون أن تنتشر محتوياتها بشكل عشوائي إلى الخلايا الجاورة أو بقية أجزاء النسيج المحيط بها. وعلى المستوى الخلوي تتصف الخلية التي سلكت طريق الموت الخلوي المبرمج بانكماشها وتحلل جميع روابط الاتصال مع الخلايا الجاورة لها، ثم تحاط العضيات الخلوية بأغشية داخلية مع بعض السيتوبلازم الذي يبدو داكناً وأكثر تكثفاً. من مميزات الموت الخلوي المبرمج كذلك أن مكونات السيتوبلازم لا تتسرب من الخلية التي بدأت مراحل الموت إلى الخارج وبالتالي فليس هناك استجابات التهابية، أما داخل النواة فيلاحظ أن تكثف الكروماتين وتجمعه على هيئة كتل متباعدة. يتم التخلص من أجزاء الخلية وعضياتها المختلفة من خلال التهام أو بلع Engulf تلك القطع بواسطة الخلايا البلعمية -Phago كجزء من عملها في إزالة الكائنات أو الأجسام الغريبة.

## ثانياً: النخر الخلوي (التنكرز) Necrosis

يسمى هذا النوع من الموت الخلوي بالتنكرز أو النخر الخلوي Necrosis وتسلك الخلايا هذا النوع من الموت الخلوي عند الظروف أو المسببات المرضية الشديدة والصدمات القوية التي لا تستطيع الخلية تحملها ولو لفترة قصيرة مثل النقص الحاد في العناصر الغذائية الأساسية والإصابات الشديدة، وكذلك الضغوط والإجهاد القوي، وغير ذلك من المسببات الفيزيائية والكيميائية التي تعرضت لها الخلية بشكل كبير ومفاجئ. من مميزات هذا النوع من الموت الخلوي، أن الخلايا التي تعرضت لتلك العوامل تنتفخ وتنفجر مما يؤدي ذلك إلى تبعثر وانتشار محتوياتما للخلايا الجاورة السليمة والتي بدورها تتأثر وقد تموت بأعداد كبيرة وفي وقت قصير، مما ينتج عنه ترك فراغ داخل النسيج ويمكن مشاهدته بوضوح تحت الجهر ويوصف بالنخر الخلوي. يمتاز الموت الخلوي بالتنكرز بتوقف النشاط الأيضي وبتكثف الدنا بشكل غير منتظم. كما تبدأ المكونات الخلوية بالتفكك بسرعة وبطريقة عشوائية وغير منتظمة. أما المكونات

الحيوية الداخلية فتتسرب داخل النسيج الجاور مما يؤدي الى التهابات مختلفة وإثارة خلايا الجهاز المناعى مثل تنشيط الخلايا االمفاوية (القحطاني ٢٠١٢).

#### ثالثاً: الالتهام الذاتي Autophagy

كما ذكر سابقاً فإن أساليب الموت الخلوى تختلف باختلاف الظروف التي تتعرض لها الخلية والتي تحدد طريقة الموت الخلوي المناسبة. فبالإضافة للموت الخلوي المبرمج والموت الخلوي بالتنكرز يوجد نوع ثالث من طرق الموت الخلوي والذي له أهمية بالغة في النمو والتطور البيولوجي والفسيولوجي والمرضى ألا وهو الالتهام الذاتي. الالتهام الذاتي هو الأكثر وضوحاً كعملية حيوية تميز الجسم البلعمي الذاتي -Auto phagosome والتي تعد عملية هدم أيضي Catabolism، ويتم خلالها محاصرة أجزاء من مكونات الخلية والسيتوبلازم في حويصلات غشائية داخل الخلية، يلى ذلك اتحاد الحويصلات مع الأجسام الهاضمة (اللايسوسوم) Lysosomes لتتشكل الأجسام الملتهمة الذاتية Autophagolysosome داخل الجسم البلعمي الذاتي. مكونات الخلايا التي ابتلعت تتحلل ويستفاد من نواتجها في بناء جزيئات خلوية جديدة. كما أن الالتهام الذاتي يمكن أن يمنع الخلايا من المرور بمرحلة الموت الخلوي المبرمج. إن كثيراً من الأمور المتعلقة بهذا النوع من الموت الخلوي ليست واضحة بشكل كامل وما زال النقاش مستمراً حول الدور الحقيقي للأجسام الملتهمة الذاتية، لما لها من دور مزدوج تمارسه داخل الخلايا، فتارة تثبط الموت الخلوي المبرمج، وتارة تسبب الموت الخلوي. يرى الكثير من العلماء أن الالتهام الذاتي هو جزء لا يتجزأ من الموت الخلوي المبرمج، فعلى الرغم من بعض الاختلافات الشكلية الواضحة التي تساعد في التمييز بين موت الخلايا المبرمج والالتهام الذاتي، وأنهما طريقتان مختلفتان من طرق الموت الخلوي، إلا أن بينهما العديد من الجوانب المشتركة. إن أبرز ما يميز موت الخلايا بالالتهام الذاتي هو التحلل المتأخر للبروتينات التركيبية بعكس ما يحدث أثناء الموت الخلوي المبرمج. كما يتم أثناء الالتهام الذاتي تحلل العضيات وتحطمها في وقت مبكر (انظر الفصل السابع).

## أهمية الموت الخلوي المبرمج The importance of apoptosis

تكمن أهمية الموت الخلوى المبرمج أثناء عمليات تطور ونمو الكائن الحي، والتي يمكن ملاحظتها في العديد من الحالات المرضية التي تنشأ بسبب خلل في آلية أو معدل الموت الخلوي المبرمج. فعملية الموت الخلوي المبرمج مهمة للاتزان النسيجي وبقاء الكائن سليماً على قيد الحياة. فهي عملية مُنظَّمة ومُنظِمة في الوقت ذاته Regulated and Regulator، ويشمل ذلك عمليات التنظيم الفسيولوجي ونمو وحيوية الأنسجة والأعضاء، فخلال التكوين الجنيني يتم إنتاج فائض من الخلايا التي تخضع في النهاية للموت الخلوي المبرمج، وبذلك تساهم في تشكل العديد من الأنسجة والأعضاء. يمكن ملاحظة الموت الخلوى المبرمج من خلال العديد من الوظائف الحيوية الطبيعية خاصة أثناء فترة التشكل مثل تخلص الجنين من الوترات (الأغشية) Webs التي تتشكل بين الأصابع وإزالة الذيل في طور أبو ذنيبة وعملية التحول Metamorphosis في الحشرات وسقوط طبقة الرحم الداخلية خلال الدورة الشهرية عند المرأة وغير ذلك من الأمثلة. كما أن للموت الخلوي المبرمج أهمية حيوية في عمليات التكوين والتمايز والتكاثر والتنظيم البديي الداحلي ووظيفة الجهاز المناعي وإزالة الخلايا المصابة. ولذلك فإن الخلل في وظيفة أو تنظيم الموت الخلوي المبرمج يسبب حالات مرضية متنوعة، فعند انخفاض المعدل الطبيعي لعملية الموت الخلوي المبرمج كاختلالات في العوامل الجزيئية المحفزة لهذه العملية فإن ذلك يؤدي إلى نشوء بعض الأمراض الناتجة عن تراكم الخلايا المصابة مثل السرطان والالتهابات الفيروسية وأمراض المناعة الذاتية Autoimmune diseases، مثل التهاب المفاصل الرثياني Rheumatoid arthritis. أما عند زيادة معدل الموت الخلوي المبرمج فوق الحد الطبيعي فإن ذلك يؤدي إلى زيادة أمراض التحلل العصبي مثل مرض الزهايمر Alzheimer ومرض باركنسون Parkinson ومرض هنتنغتون Huntington وغيرها (انظر الفصل الثاني عشر).

يسبق حدوث الموت الخلوي المبرمج تقييم أولي لنسبة الضرر بواسطة حساسات التلف Damage sensors داخل الخلية والتي تتمثل في عدد من الجينات أشهرها جين وصحاب النبي يكون تأثيره معتمداً على موقع الضرر ونوعه واتساع دائرته. فإذا كان الضرر الخلية الخلوي كبيراً، فإن الخلية تموت بالتنكرز؛ أما إذا كان الضرر دون مستوى موت الخلية بالتنكرز واستطاعت بروتينات الخلية أن تحميها وتقاوم الأذى حتى يزول من خلال اليات الإصلاح المتعددة، فإن الخلية تعود لطبيعتها. في حين إذا كان مستوى الضرر متوسطاً ولم تستطع بروتينات الخلية حمايتها، فتنشط حينذاك آلية الموت الخلوي المبرمج. تُصنع معظم الخلايا مجموعات بروتينية كأسلحة للتدمير الذاتي، فإذا كانت الخلية مفيدة للجسم، فإنما تقيد تلك الأسلحة، أما إذا أصيبت الخلية بأذى وأصبحت تشكل خطراً على جسم الكائن الحي فإن تلك البروتينات المهيتة تتحرر وتبدأ عملها.

## التمييز بين الموت الخلوي المبرمج والموت الخلوي بالتنكرز

#### The differences between apoptosis and necrosis

يحدث الموت الخلوي بالتنكرز عندما تصاب الخلية بصورة بالغة كأن تتعرض مادقا الوراثية لتلف كبير أو عندما يتوقف تدفق الدم إليها، وبالتالي حرمانها من الأكسجين والغذاء، إلى غير ذلك من مسببات التلف الشديد. ويعتبر انتفاخ الخلية وعضياتها وتمزق أغشيتها سمة واضحة لموت الخلية بطريقة التنكرز، تتأثر العضيات الداخلية بدرجات متفاوتة ومنها الميتوكوندريا. أثناء مراحل الموت الخلوي بالتنكرز تنتفخ الخلية بكاملها وتتمزق. وتحدث هذه التأثيرات لأن التلف أو الإصابة اللذين تعرضت لهما الخلية منعاها من ضبط التوازن الخاص بسائلها وأيوناتها، أي الماء والجزيئات المشحونة لاسيما أيونات الصوديوم والكالسيوم التي تُضخ عادة خارج الخلية، لكنها في حالة الإصابة تتدفق

إلى داخل الخلية مما يؤدي إلى انفجار الخلية وتبعثر محتوياتها إلى الفراغات البين خلوية المجاورة، مما يعرض الخلايا المجاورة للأذى أو الموت. فتحرر الأجسام المحللة Lysosomes من الخلايا وتسرب محتوياتها قد يتسببان في قتل الخلايا الجحاورة وقد تكون النتائج ذات أضرار جسيمة. كما يمثل الالتهاب سمة مميزة أحرى، فالخلايا البلعمية الكبيرة Macrophagocytes الجوالة والخلايا الدموية البيضاء الأخرى للجهاز المناعي تتجمع حول الخلايا المتنكجرة وتلتهمها وتخلص النسيج منها، كما تساعد عملية الالتهام على الحد من إصابة أو عدوى الخلايا الأحرى، إلا أن فاعلية الخلايا الدموية البيضاء وإفرازاتها ربما تؤذي أيضاً النسيج السليم الجاور، وفي بعض الأحيان يكون مدى انتشار الأذي واسعاً. أما الخلية التي تعانى الموت الخلوى المبرمج، يلاحظ أنها تمر بعدة خطوات، وكان أول من قام بتوضيح تلك الخطوات الباحث ولي Wyllie عام ١٩٨٠م من خلال مشاهدته لخلايا الغدة الدرقية التي عوملت بمرمونات الجلوكوكورتيكويد Glucocorticoids، فلم يرَ أي انتفاخات على الخلية أو عضياتها. فالخلية التي تموت بطريقة الموت الخلوي المبرمج تنكمش نتيجة لخروج الماء منها وتنسحب بعيداً عن الخلايا المحاورة لها وسرعان ما تبدأ وكأنها تغلى، لتتشكل نتيجة لذلك فقاعات أو حويصلات Blebs على السطح (الشكل رقم ١، والشكل رقم ٢)، وبناء على مشاهدة مظاهر الموت الخلوي المبرمج قسمت مراحل انتحار الخلية التي تعاني الموت الخلوي المبرمج إلى ثلاث مراحل هي:

#### Release stage مرحلة التحرر من النسيج

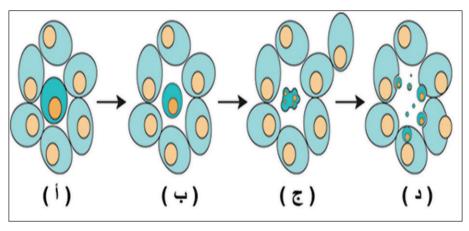
تنفصل الخلية حلال هذه المرحلة عن الغشاء القاعدي وتستدير وتبتعد عن خلايا النسيج المجاورة.

#### Y - مرحلة التحوصل و ظهور الفقاعات Blebbing stage

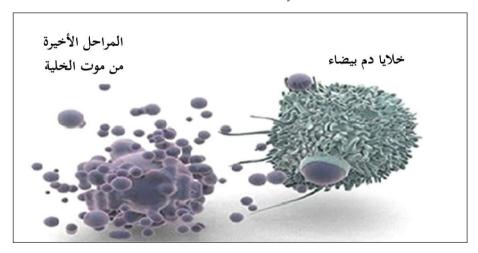
تنكمش خلال هذه المرحلة حيوط الأكتين والميوسين Actin-Myosin وتقترن بمحاورها مع الهيكل السيتوبلازمي وغشاء الخلية لتتكون الحويصلات والفقاعات.

#### ۳ – مرحلة التكثف Condensation stage

تتكثف الخلايا خلال هذه المرحلة وتتجزأ إلى تراكيب محاطة بأغشية محكمة



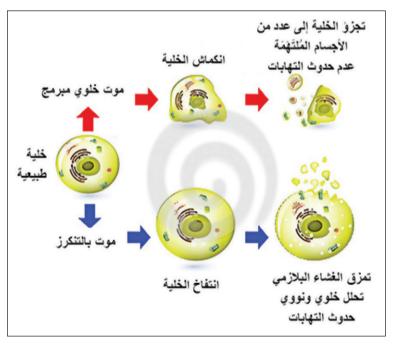
الشكل رقم (١). أحداث الموت الخلوي المبرمج. (أ): خلية تقع في وسط النسيج تموت بطريقة الموت الخلوي المبرمج. (ب): تنكمش الخلية. (ج): تظهر الفقاعات على سطح الخلية وتتجزأ النواة. (د): تتكون الأجسام الملتهمة وتلتهمها خلايا الجهاز المناعى المجاورة.



الشكل رقم (٢). الموت الخلوي المبرمج لخلية دم بيضاء (Brona, 2010).

تخضع النواة التي تبدلت قليلاً أثناء عملية الموت الخلوي بالتنكرز، لتغيرات شديدة ثابتة أثناء عملية الموت الخلوي المبرمج أبرزها تكثف كروماتين النواة مشكلاً كتلة واحدة أو أكثر بالقرب من غلاف النواة، وكذلك انكماش الخلية والسيتوبلازم تحت تأثير

قوة قابضة Contractile force ناشئة من ألياف الهيكل الخلوي، كما يتبع ذلك تحطيم البروتينات التركيبية للنواة كانشقاق الصفيحة النووية اللامينا Lamina وخيوط الأكتين، كما أن هناك تغيرات شكلية أخرى تتمثل في فقدان الزُغَيبات الدقيقة Microvilli والارتباط بين الخلايا، بالإضافة لبعض التغيرات الكيموحيوية مثل نقل الدهن الفوسفاتي الفوسفوتيديل سيرين Phosphotidylserine إلى الطبقة الخارجية لغشاء الخلية وزيادة أيونات الكالسيوم ++2 داخل الخلية وتجزؤ الدنا، ثم يتم التهام أجسام الموت الخلوي المبرمج بواسطة الخلايا الملتهمة الكبيرة Macrophages وبذلك تتم إزالتها من النسيج دون أن تستثير أي استجابة التهابية، ويمكن المقارنة بين خصائص الموت الخلوي المبرمج والموت الخلوي بالتنكرز من خلال (الشكل رقم ٣) والجدول رقم (١).



الشكل رقم (٣). يوضح التغيرات الشكلية المصاحبة للموت الخلوي المبرمج والتنكرز.

الجدول رقم (١): الخصائص الشكلية والكيموحيوية والفسيولوجية المميزة للموت الخلوي المبرمج والتنكرز.

بي ير و روپ .روپ روپر روپر الموت الخلوي بالتنكرز	ل رقم ( ١ ): الحصائص الشكلية والكيموحيوية والفسيولو. الموت الخلوي المبرمج			
الخصائص الشكلية				
<ul> <li>عدم ظهور حويصلات أو فقاقيع.</li> <li>انتفاخ السيتوبلازم والميتوكوندريا.</li> </ul>	ظهور حويصلات أو فقاقيع على سطح الخلية مع احتفاظه بوظيفته.	_		
- تحلل كلي للخلية.	ا تجمع الكروماتين حول الغلاف النووي.	-		
- انتفاخ العضيات وتحللها.	انكماش السيتوبلازم وتغلظ النواة.	-		
	تجزؤ الخلايا إلى أحسام صغيرة.	-		
	تكون الأجسام الملتهمة.	-		
	انتفاخ الميتوكوندريا.	-		
<i>عي</i> وية	الخصائص الكيمو-			
- عملية تفتقد للتنظيم والاتزان الداخلي للأيونات.	عملية منظمة تتضمن خطوات تنشيط وتفاعلات إنزيمية.	-		
- لا يحتاج إلى طاقة.	يحتاج إلى طاقة (عملية نشطة).	-		
- تجزؤ عشوائي للدنا قبل تحلل الخلية.	تحزؤ منظم للدنا (سلم الدنا) بعد تحلل الخلية.	-		
	تحرر إنزيم سيتوكروم-سي من الميتوكوندريا إلى السيتوبلازم.	-		
	تنشط سلسلة إنزيمات الكاسبيس.	_		
<u>جي</u> ة	الأهمية الفسيولو-			
– يۇثر على كتل خلوية.	يؤثر على خلايا فردية.	-		
- يستحث بواسطة اضطرابات غير فسيولوجية مثل التعرض للسموم والفيروسات المحللة ونقص الأكسجين.	يستحث بواسطة محفزات فسيولوجية مثل فقدان عوامل النمو وتغير في البيئة الهرمونية.	-		
- الالتهام بواسطة الخلايا الملتهمة.	الالتهام بواسطة الخلايا المجاورة أو الملتهمة.	-		
- تحدث استجابة مناعية.	لا تحدث استجابة مناعية.	-		

#### لالفصل لالثالث

## تلف الدنا والموت الخلوي المبرمج DNA damage and apoptosis

يتعرض الحمض النووي منزوع الأكسجين (الدنا) (Livi) وغيرها من العوامل التي قد تسبب تلف أحياناً لبعض النواتج الثانوية لعمليات الأيض، وغيرها من العوامل التي قد تسبب تلف الدنا بدرجات متفاوتة، ومن أمثلة تلك النواتج الثانوية التي قد يتعرض لها الدنا ما يسمى المشوارد الحرة Free radicals مثل أنواع الأكسجين الحرة (Ros) بالشوارد الحرة Free radicals مثل أنواع الأكسجين الحرة (Ros) التنفس الهوائي. تتعرض الخلايا خلال دورة حياتها لأنواع عنتلفة من مسببات الإجهاد الخلوي، كنقص الغذاء وحالات العدوى والتعرض للعوامل الكيميائية والفيزيائية المختلفة، والتي بدورها تؤدي لتلف مؤقت أو دائم في المادة الوراثية أو المكونات الخلوية الأخرى، وقد ينعكس ذلك التلف على مستوى البروتين أو الحمض النووي الرايبوزي (الرنا) (RNA) (Ribonucleic acid (RNA) مما سيؤثر بشكل مباشر أو غير مباشر على عملية الترجمة Translation وما بعدها من عمليات حيوية مهمة كالتأثير مباشر على عملية البروتينات العابر الذي يمكن معالجته من قبل أنظمة خلوية متخصصة كمسار التحلل البروتيني العابر الذي يمكن معالجته من قبل أنظمة خلوية التخلص من البروتينات التالفة، فإن التلف الدائم ينعكس في المقام الأول على مستوى الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدنا، على الرغم من أن تلف الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في المشار التحل الدنا قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في الدناء قد ينتج أيضاً بسبب تلف البروتينات المشاركة في المشار الدونيات المشارك المشاركة في المشاركة في المشاركة المشاركة في المشاركة في المشاركة في المشاركة المشاركة

آليات إصلاح الدنا DNA repair mechanisms. فعوامل إتلاف الدنا كالعوامل المؤكسدة Structural chromosomal aberrations تؤدي إلى عيوب كروموسومية تركيبية Oxidants مثل إعادة الدمج بين الكروموسومات، الطفرات الجينية، التضخم الجيني، مما قد يؤدي إلى تحولات خطيرة إذا لم تتم عملية إصلاح الدنا بشكل تام.

#### المواد المؤكسدة: Oxidants

يعتبر الأكسجين عنصراً أساسياً ومهماً في إنتاج الطاقة عن طريق أكسدة الغذاء، ومع ذلك فإن اختزال هذا العنصر لا يتم بشكل كامل حتى تحت الظروف الطبيعية، فغالباً ما تنشأ مجموعات وسطية من المواد الكيميائية النشطة الطبيعية أثناء عمليات التحول الغذائي يطلق عليها الجذور الحرة التي تعمل على مهاجمة وتدمير مكونات الخلايا لتحدث بها أضراراً بالغة في مادتها الوراثية ووظائفها الخلوية المختلفة، ومع زيادة تراكم الجذور الحرة، تظهر أمراض عديدة مثل الأمراض الانحلالية وأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان والشيخوخة وغيرها.

يُعرّف الجذر الحر بأنه جزيء أو ذرة تحتوي على إلكترون غير مزدوج في مداره الخارجي، وقد تكون تلك الشوارد عضوية أو غير عضوية، ويطلق بعض العلماء مصطلح العامل المؤكسد Oxidative factor على الجذر الحر. تبقى الإلكترونات في الأحوال العادية في الجزيئات مزدوجة، وحين يفقد الجزيء أحد الإلكترونات فإنه يصبح غير مستقر وضار للجزيئات الأخرى الجاورة، فبقاء الإلكترون وحيداً في مداره الخارجي يجعله في حالة بحث دائم ونشط عن الإلكترون المفقود ليكون معه زوجاً من الإلكترونات المستقرة، وهذا ما يجعل الإلكترون الوحيد ينتزع إلكتروناً من الجزيئات المجاورة مما يسبب إتلاف جزيئات الخلية الطبيعية. وبالرغم من قصر فترة حياة الجذر الحر التي لا تتجاوز أجزاء من الثانية، إلا أن جذراً حراً واحداً قد ينشر حالة من عدم الاستقرار وفقدان الإتزان داخل الخلية، وبالتالي ظهور اضطرابات خلوية قد تؤدي لنشوء أمراض مختلفة.

يعتبر نشاط وانتقال الإلكترونات من الأمور الأساسية في صنع الطاقة وفي التفاعلات الحيوية الأخرى في الجسم، ولكن إذا تمت هذه السلسلة من التفاعلات بطريقة عشوائية وخارجة عن السيطرة فإنها تتسبب في تمزق الأغشية البلازمية للخلايا وتغيير وظائفها، وقد تؤدي إلى طفرات جينية وربما إلى موت الخلايا. كما تسبب الجذور الحرة إتلاف الأغشية الحيوية الأخرى كأغشية الميتوكوندريا وتؤثر على الدهون الفوسفاتية Phospholipids وبالتالي تصلب الأغشية الخلوية ونقص نشاط الارتباط الإنزيمي بما كنقص نشاط مضخة الصوديوم Sodium pumps. بالإضافة إلى ما سبق تؤثر الحذور الحرة كذلك على نشاط المستقبلات الغشائية وعلى نفاذية الأغشية، وقد تؤدي إلى السرطان من خلال تدميرها للدنا أو إلى أمراض أحرى كأمراض القلب والتهاب المفاصل. ويعزي كثير من العلماء أمراض الشيخوخة وأمراض ضمور الخلايا إلى نشاط الجذور الحرة.

يستطيع جسم الإنسان السيطرة على سلسلة التفاعلات الحيوكيميائية في الوقت المناسب، عن طريق نظام يدعى بنظام المواد المضادة للأكسدة داخل الخلايا والتي تعمل كآليات حماية ضد التأثيرات الضارة للجذور الحرة. حيث يتم إنتاج العديد من المواد المؤكسدة القوية خلال عمليات الأيض في كل من الخلايا الدموية الحمراء ومعظم خلايا الجسم الأخرى. وهذه المواد المؤكسدة تتضمن جذر فوق الأكسحين  $(O_2^-)$  Hydrogen peroxide  $(H_2O_2)$  وفوق أكسيد الهيدروحين  $(O_2^-)$  بنذة مختصرة عن كل منها.

# Superoxide $(O_2^-)$ : فوق الأكسجين – ۱

يتم تكوين فوق الأكسجين في خلايا الدم الحمراء عن طريق الأكسدة الذاتية للهيموجلوبين (Hemoglobin وتحويله إلى ميثيموجلوبين (Hb). وفي الأنسجة الأخرى يتم تكوين هذا الجذر الحر عن طريق عمل إنزيمات الأكسدة والاختزال مثل Xanthine oxidase و Cytochrome-P450 reductase

#### Hydrogen peroxide $(H_2O_2)$ : فوق أكسيد الهيدروجين $\mathsf{Y}$

يتعرض هذا المركب لعدد من المؤثرات. فإنزيم الكتاليز Catalase يتعرض هذا المركب لعدد من المؤثرات. فإنزيم الكتاليز  $O_2$  وأكسحين  $O_2$  كما أن من أنواع الخلايا يحول فوق أكسيد الهيدروجين إلى ماء  $O_2$  Myeloperoxidase يحول فوق الخلايا الدموية البيضاء المتعادلة لديها إنزيم فريد يسمى Myeloperoxidase يحول فوق أكسيد الهيدروجين والهاليدات Halides إلى أحماض.

#### ٣ - جذور الهيدروكسيل وأيونات الهيدروكسيل

يمكن أن تتكون جذور الهيدروكسيل (OH) وأيونات الهيدروكسيل OH من فوق أكسيد الهيدروجين ضمن تفاعل غير إنزيمي يتم تحفيزه بأيونات الحديدوز (Fe<sup>+2</sup>). إن جذر الهيدروكسيل هو جزيء نشط جداً ويمكن أن يتفاعل مع البروتينات والأحماض النووية والليبيدات وغيرها من الجزيئات ليغير من تركيبها ويسبب تلفاً للأنسجة.

عندما تنتج الخلايا الطاقة التي تحتاجها لعملياتها الحيوية المختلفة، فإن كل جزيء أكسجين يتقبل أربعة إلكترونات لينتج الماء؛ فإذا تمت إضافة هذه الإلكترونات واحداً تلو الآخر، وهذا ما يحدث عادة، فإن الأكسجين سوف يتحول إلى جذر حر يدعى فوق الأكسيد الذي يساهم في تشكيل مركب آخر يسمى فوق أكسيد الهيدروجين المعروف بالماء الثقيل أو المؤكسج. ولا يتوقف الأمر عند هذا الحد، بل يقوم هذا المركب بتكوين جزيئات أخرى ذات شحنة كهربائية ضعيفة هي الجذور الهيدروكسيلية، ومثل هذه العملية قد تحدث في جسم الإنسان خلال عمليات أخرى مثل تلوث الهواء والتدخين والتعرض للإشعاعات، بالرغم من أن معظم تفاعلات الجذور الحرة هي تفاعلات احتراقية. ولقد لوحظ أن الجذور الحرة لأنواع الأكسجين النشط ROS تدخل في العديد من التفاعلات ومن أهمها تفاعلها مع الدنا وتكسيره وخاصة عند الجهد التأكسدي مكافرار طفورية. وهذه التفاعلات يعزى إليها أكبر فروتها. كما يتعرض الدنا أيضاً إلى أضرار طفورية. وهذه التفاعلات يعزى إليها أكبر الأثر في إحداث مظاهر الضرر والتسمم للجزيئات الحيوية في الخلية حتى يصل الأمر

إلى حدوث الموت الخلوي بالتنكرز. تزيد الجذور الحرة لأنواع الأكسجين النشط من نفاذية غشاء الميتوكوندريا، مما ينتج عنه تحرير العوامل المحفزة للموت الخلوي المبرمج Apoptosis inducing factor (AIF) Apoptosis inducing factor وبالتالي حدوث هذا النوع من الموت الخلوي. كما يعتقد أن أنواع الأكسجين النشط تلعب دوراً مهماً في حدوث أنواع عديدة من الضرر الخلوي الناتج عن تناول أو تعاطي مواد كيميائية سامة، بعضها يمكن أن يتسبب في موت الخلايا. إن قدرة الجذور الحرة على إحداث التسرطن تتم عن طريق اتحاد OH مع الدنا، كما أوضحت العديد من الدراسات علاقة الجذور الحرة لأنواع الأورام هين النشط بطفرات الجين المثبط للأورام وحديد العديد من الدراسات علاقة المحديد العديد من الدراسات علاقة المحديد الغديد المثبي المثبط للأورام وحديد الغديد المثبي المثبي المثبية المحديد الغديد المثبية ال

إن إزالة الجذور الحرة بواسطة مضادات الأكسدة عملية مهمة جداً لصحة وحياة الكائن الحي، ومع ذلك فالجذور الحرة ليست مجرد مواد ضارة فحسب، بل قد تكون في بعض الأحيان بمثابة السلاح الذي يستخدمه الجسم للدفاع عن نفسه، فبعض خلايا الدم البيضاء مثل الخلايا الملتهمة الكبيرة والخلايا المتعادلة الصبغة عندما تلتهم البكتيريا فإنها تظهر زيادة سريعة في استهلاك الأكسجين وهذا ما يعرف به Respiratory وينتج عنه كميات كبيرة من الجذور الحرة مثل  $H_2O_2$ ، OCI OH وبعض هذه المخذور هي عوامل فعالة لقتل البكتيريا. كما تعمل جذور الأكسجين كإشارات خلوية الخلور هي وخارجية لتحفيز العديد من الوظائف الخلوية مثل تنظيم التعبير الجيني وتحفيز النمو والتكاثر، ولقد عرف أن الخلايا التي تنتج مستويات منخفضة من حذور أنواع الأكسجين النشط الحرة تعمر لفترة أطول.

تنشأ الجذور الحرة في جسم الإنسان من مصادر داخلية Endogenous و/ أو خارجية Exogenous وتزيد في حالات المرض والإرهاق النفسي والجسدي وبتقدم العمر. يعتبر النشاط الأيضي داخل الخلايا مصدراً داخلياً للجذور الحرة، كما أن العديد من المركبات في الجسم مثل الأدرينالين والدوبامين وبعض مكونات الميتوكوندريا يمكن أن تتفاعل مع الأكسجين لإنتاج جذور فوق الأكسجين التي يتم إنتاجها كذلك داخل

الجسم من خلايا الدم البيضاء كآلية دفاعية ضد البكتيريا، أما المصادر الخارجية للحذور الحرة في جسم الكائن الحي فتتضمن: الأشعة فوق البنفسجية, كل أنواع التدخين، مبيدات الحشائش والحشرات Herbicides and pesticides ، المواد البتروكيميائية، المذيبات كالبنزين، بعض العقاقير Drugs، الأشعة الكونية، أشعة إكس X-rays ، الميكرويف المنزين، بعض العقوى الكهرومغناطيسية المنبعثة من خطوط الضغط العالي، المولدات الكهربائية، الهواتف الجوالة، شاشات التلفزيون والحاسب الآلي، بعض المركبات الموجودة ضمن الأطعمة والغازات المنبعثة من العوادم. ولذا فإنه لا يمكن إيقاف تكون الجذور الحرة، لأنها جزء من عملياتنا الأيضية وحياتنا اليومية في هذا العالم الصناعي. يعمل المجلد على حماية الجسم والحد من تأثير الجذور الحرة خارجية المصدر. أما الجذور الحرة داخلية المصدر، فإن للحسم آلية للسيطرة على سلسلة التفاعلات المنتجة لها، والتي تتمثل في مضادات الأكسدة، التي تدور داخل الجسم وتقف حائلاً بين الجزيئات السليمة والجذور الحرة وتقدم لها إلكتروناتها للقضاء عليها وإبطال مفعولها قبل أن تؤثر الجزيئات المجوية، المحسم أو تقوم بتدمير الأكسجين المختزل لمنع تكون حذور OH التي تحاجم الجوية.

يشار إلى المركبات الكيميائية والتفاعلات القادرة على إنتاج أنواع الأكسحين شديدة السمية بالمؤكسدات الأولية Pro-oxidants، ويطلق على المركبات والتفاعلات التي تحلل أو تدمر هذه الأنواع أو تقتنصها أو تكبت تكوينها أو تضاد تأثيراتها بالمواد المضادة للأكسدة Antioxidants مثل فيتامين - ج وفيتامين - ه وفي الخلايا الطبيعية. هناك اتزان فاعل بين المؤكسدات الأولية ومضادات الأكسدة، إلا أن هذا الاتزان يمكن أن يتغير باتجاه المؤكسدات الأولية عندما يزيد إنتاج أنواع الأكسجين النشطة بدرجة كبيرة بعد التعرض لمواد كيميائية أو تناول عقاقير معينة أو عندما يتم إضعاف أو إنقاص مستويات المواد المضادة للأكسدة، كما في الحالات التي تثبط فيها الإنزيمات المشاركة في تدمير أنواع الأكسجين النشطة عند ظروف معينة كالإجهاد التأكسدي مما يسبب

خفض مستويات المواد المضادة للأكسدة مما يؤدي إلى دمار شديد في الخلايا إذا كان هذا الإجهاد مكثفاً أو طالت فترته الزمنية.

#### مضادات الأكسدة: Antioxidants

مضادات الأكسدة بجموعة من العناصر والمركبات التي لها القدرة على منع أو إبطاء عملية الأكسدة بحدف حماية المركبات الأخرى من الأكسجين. توجد مضادات الأكسدة في جسم الكائن الحي على صورة إنزيمات أو مرافقات إنزيمية Co-enzymes أمركبات تحتوي على عنصر الكبريت المختزل مثل الجلوتاثيون Glutathione. كما توجد مضادات الأكسدة بصورة طبيعية في الخضروات والفواكه والحبوب ومعظم الأعشاب الطبية. لقد زاد الاهتمام بمضادات الأكسدة في السنوات الأخيرة بسبب قدرتها على تحصين الجسم ضد غزو الجراثيم والقضاء عليها؛ كما تحمي الجسم من أمراض العصر الشائعة، حيث تعمل على ترميم أنسجة وخلايا جسم الكائن الحي، وتحمي الدنا من الضرر وتثبط عمل الجذور الحرة. ومع أن آلية عمل مضادات الأكسدة غير واضحة بدقة، إلا أن البحوث العلمية والدراسات الإحصائية أكدت فاعليتها في الوقاية من الأمراض ومقاومتها.

تصنف مضادات الأكسدة في مجموعتين، هما:

# أ) مضادات الأكسدة الإنزيمية: Enzymatic antioxidants

وتلعب دوراً مهماً وأساسياً في حماية الخلية من الإجهاد التأكسدي، وتنقسم هذه المجموعة إلى ثلاث فئات هي:

## ۱− إنزيم فوق أكسيد الديسميوتاز: (Superoxide dismutase (SOD)

يعتبر هذا الإنزيم أحد أهم الإنزيمات الفاعلة كمضاد للأكسدة، فهو يقوم بإزالة حذور فوق الأكسحين وذلك بتسريع معدل إزالتها بحوالي أربع مرات بمساعدة بعض المعادن مثل السيلينيوم Selenium والنحاس والزنك كما يوضحه التفاعل التالي:

$$O_2^- + O_2^- + 2H^2$$
 Superoxide  $H_2O_2 + O_2$ 

ولأن فوق الأكسجين يعتبر عاملاً مؤكسداً ومختزلاً في آن واحد، فإن إنزيم فوق أكسيد الديسميوتاز SOD يقي الكائنات الحية الهوائية من التأثيرات الضارة لهذا الجذر (غير موجود في اللاهوائية إجبارياً) ويوجد في كل الأنسجة الهوائية في الميتوكوندريا والعصارة الخلوية (السيتوسول) Cytosol.

#### Y-إنزيم الكتاليز: Catalase

يوجد في الأجسام البيروكسية Peroxisomes وهي نوع من الأجسام الصغيرة في خلايا أنسجة الكائنات معقدة التركيب كالدم ونخاع العظام والأغشية المخاطية والكلى والكبد، وهذه الأجسام غنية بإنزيم آخر هو الاكسيداز على تكوين فوق أكسيد الهيدروجين يقوم الكتاليز بتكسيره وتحويله إلى ماء وأكسجين حسب التفاعل التالي:

$$2 H_2O_2$$
 Catalase  $\rightarrow 2 H_2O + O_2$ 

جزيئات الماء والأكسجين الناتجة ثابتة ومستقرة ولا ضرر منها. تحمي إنزيمات الموجودة أيضاً في الأجسام البيروكسية الجسم ضد الأكاسيد الضارة، لأن تراكم الأكاسيد يؤدي إلى تكون جذور حرة تؤثر على الأغشية الخلوية وتسبب السرطان وأمراض الشرايين. يوجد البيروكسيديز في الحليب وخلايا الدم البيضاء والصفائح الدموية. إن التفاعل الحفز بواسطة البيروكسيديز Peroxidase معقد ويتم على عدة خطوات يمكن إيجازها في التفاعل التالى:

$$H_2O_2 + AH_2 \xrightarrow{\text{Peroxidase}} 2 H_2O + A$$

لإنزيم الكتاليز نشاط مشابه لنشاط البيروكسيديز فهو يمكن أن يستخدم جزيئات فوق أكسيد هيدروجين أخرى فوق أكسيد هيدروجين أخرى كمؤكسد أو مستقبل للإلكترون.

## ٣− إنزيم الجلوتاثيون بيروكسيديز: Glutathione peroxidase

يوجد هذا الإنزيم في خلايا الدم الحمراء والأنسجة الأخرى. ويقوم بتحفيز تكسير فوق أكسيد الهيدروجين والد Hydroperoxides بواسطة الجلوتاثيون المختزل GSH ليعطي الجلوتاثيون المؤكسد (GS) والماء، كما هو موضح في المعادلة التالية:

2 GSH Glutathione 
$$H_2O + 2 GS$$

كما يعمل الجلوتاثيون بيروكسيديز على حماية دهون الأغشية الحيوية والهيموجلوبين ضد الأكسدة بواسطة البيروكسيد Peroxides.

### ب) مضادات الأكسدة غير الإنزيمية: Non-enzymatic antioxidants

هناك عدة أنواع من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية ومنها:

#### ۱ – فيتامين . ج: Vitamin-C

يطلق على هذا الإنزيم كذلك حمض الأسكوربك Ascorbic acid، وهو من مضادات الأكسدة التي تذوب في الماء ويدخل للخلايا ويعمل على اختزال الجذور الحرة من معظم مصادرها، كما يعمل على تعزيز النظام الدفاعي للحسم، ويساهم أيضاً ضمن آليات الجسم المختلفة لإزالة سمية بعض المواد الكيميائية، كما يلعب دوراً مهماً في عمليات الأكسدة والاختزال داخل الجسم، ولهذا يعتبر مضاداً للموت الخلوي المبرمج ويؤثر أيضاً على بعض المواد المضادة للتكاثر. وبصفة عامة، يلعب فيتامين - ج دوراً مهماً في الحفاظ على الصحة العامة ومقاومة الأمراض وتقوية الأغشية الخلوية وإبطال فعل السموم والجذور الحرة. ولأن حسم الإنسان لا يستطيع إنتاج هذا الفيتامين، يجب تناول الأطعمة التي تحتوى عليه كالحمضيات.

#### ۲ – فيتامين . هـ: Vitamin-E

يعتبر فيتامين – هـ من أكثر مضادات الأكسدة ذوبانية في الدهون والتي تلعب دوراً حيوياً في حماية الأغشية الخلوية من التلف التأكسدي وبالتالي منع الكوليسترول من الالتصاق بجدران الشرايين، حيث إن هذا الفيتامين يقتنص الجذور البيروكسية في الأغشية الخلوية، ولذلك يطلق عليه تعبير «كاسح الجذور» Radicals scavenger. كما يخفف من تأثير بعض الجذور الحرة الأخرى وبالتالي يعمل على الوقاية من بعض الأمراض. تعمل مركبات فيتامين – هـ على منع أكسدة بعض العناصر الغذائية ومنع سلسلة التفاعلات التي تؤدي إلى أكسدة الدهون والزيوت وذلك بمعادلة مركبات أنواع الأكسجين النشط. اكتسب فيتامين – هـ أهمية بالغة بعد أن عُرِف دوره كمضاد للأكسدة وإطالة العمر الافتراضي لخلايا الجسم ومعالجة عدد من الأمراض كتقليل نسبة حدوث الإصابة بالجلطات القلبية وتصلب الشرايين، كما أن لهذا الفيتامين دوراً في وقاية الجين وقاية الحين وقاية الحين وقاية الحين وقاية الخين وقاية الخين ومن المصادر الغنية بمذا الفيتامين زيت النخيل والذرة والفول السوداني.

# ۳ - الجلوتاثيون: Glutathione

الجلوتاثيون ببتيدة قصيرة مكونة من ثلاثة أحماض أمينية هي: الجلوتاميك Glycine وللعب والسيستين Cystine والجلايسين Glycine. يوجد الجلوتاثيون في الأنسجة الحيوانية ويلعب دوراً مهماً كمضاد للأكسدة حيث يحمي الخلية من التلف التأكسدي ويثبط تكون الجذور الحرة داخل الخلية، كما يحفز اختزال البيروكسيديز. يعاد تكوين الجلوتاثيون المؤكسد Glutathione reductase بتحفيز من إنزيم GSH من الجلوتاثيون المؤكسد 2GS بتحفيز من إنزيم Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate الذي يعتمد على تواجد مركب Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate التالي:

$$2 \text{ GS} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{Foliathione}} 2 \text{ GSH} + \text{NADP}$$

هناك العديد من المواد السامة الغريبة المحبة للإلكترونات Toxic electrophilic أقل xenobiotics التي ترتبط مع GSH الذي يوجد بكميات عالية في الكبد وبكميات أقل في الأنسجة الأخرى. إذا لم يتم ارتباط المواد الغريبة بالجلوتاثيون فإنما سترتبط مع الدنا أو الرنا أو بروتينات الخلية، مما ينتج عنه دمار خلوي كبير. ولهذا، فإن للجلوتاثيون المختزل دوراً مهماً كآلية دفاعية ضد المركبات السامة مثل العقاقير والمواد المسرطنة.

هناك العديد من مضادات الأكسدة غير الإنزيمية الأخرى مثل الفلافونويدات Flavonoids والكاروتينويدات كسدة فعالة خصوصاً في عمليات الأكسدة الخاصة ببعض المعادن. توجد الفلافونويدات والكاروتينويدات في العديد من الأطعمة كالفواكه والخضروات. وقد تم التعرف على أكثر من ٤٠٠٠ نوع من الفلافونويدات الطبيعية التي من أهمها الكاتشينات Catechines التي لها دور في القضاء على بعض الجراثيم المعوية وإبطال مفعول سمومها القوية المسماه بالفيروتوكسين Verotoxin وتتواجد الكاتشنات بوفرة في الشاي الأخضر. وهناك أيضاً عنصر السيلينيوم الذي يوجد بتراكيز مرتفعة في الكبد والكليتين والطحال والقلب ويعمل كمضاد أكسدة بالاشتراك مع فيتامين هي بعض التفاعلات الحيوية لحماية خلايا الدم الحمراء من الأكسدة.

يعتبر أخصائيو التغذية أن تعزيز النظام الغذائي الطبيعي الشامل بمعظم أنواع مضادات الأكسدة يؤدي إلى إطالة فترة حياة الكائن وتحسين صحته وتخفيف علامات الشيخوخة. وتعمل مضادات الأكسدة بصفة عامة كمجموعة واحدة متكاملة ضد أنواع مختلفة من الجذور الحرة في أجزاء مختلفة من الخلايا وفي مواضع مختلفة من الجسم وبطرق مختلفة أيضاً، أي أن تأثيرات مضادات الأكسدة مجتمعة تكون أفضل من تأثير كل مضاد أكسدة بمفرده، كما تستعيد بعض مضادات الأكسدة فاعليتها بواسطة مضادات الأكسدة الأحسدة الأحرى، وهذه إحدى المميزات المهمة لتأثيرها بشكل مجتمع.

إن مضادات الأكسدة التي تتكون طبيعياً داخل الخلايا غير كافية مما يؤدي

إلى تصنيع مجموعة من المركبات التي تعمل كمضادات للتأكسد أطلق عليها مسمى مضادات الأكسدة المصنعة والتي يضاف بعضها إلى الأطعمة لمنع أكسدة مكوناتها من الدهون والسكريات والبروتينات. ومن هذه المركبات مادة بيوتيلاتيد هيدروكسي تولوين (Butylated hydroxytoluene(BHT)

ينشأ تلف المادة الوراثية أو بعض محتويات الخلية من مصادر داخلية Endogenous أو خارجية Exogenous، فبالنسبة لمصادر التلف الداخلية قد تنتج بسبب عيوب في العمليات الحيوية داخل الخلية مثل عيوب نواتج الأيض الخلوي وعمليات النسخ وعمليات الانقسام الخلوي، في حين أن مصادر التلف الخارجية تنتج من التعرض للأشعة فوف البنفسجية الفا مثل أشعة المؤينة Ionizing radiation مثل أشعة إكس X-rays والأشعة المؤينة وبيتا وجاما. حيث تتفاعل الأشعة المؤينة مع الماء أو النسيج الحي وتسبب نشوء الشوارد الحرة النشطة جداً والتي بدورها تتفاعل مع الدنا وغيره من المركبات الكيميائية وبالتالي تظهر الطفرات والأمراض السرطانية. كما أن التعرض للمواد السامة في البيئة المحيطة مثل التعرض للمركبات المؤلكلة Alkylating agents التي لا تندمج مع الدنا، لكنها تعمل على تغيير خصائص النيوكليوتيدات مما يؤدي إلى ارتباطات خاطئة لا تتوافق مع قواعد شراجاف Chargaff's rules التي تبين تفاعل القواعد النيتروجينية في الدنا. تقوم هذه العوامل المؤلكلة بإضافة مجموعة الألكيل ((C.H.,) إلى مواقع عديدة في القواعد النيتروجينية الأربع وخاصة الجوانين (Guanine (G)، الذي يتحول إلى جوانين مؤلكل يرتبط مع الثايمين (Thymine (T). من أمثلة المواد السامة كذلك الهيدروكربونات ومشابهات القواعد Base analogs والمواد المطفرة Mutagens بشكل عام كحمض النيتروز Nitrous acid وغاز الخردل Mustard gas .... الخ. كما أن معظم الأدوية المضادة للسرطان سامة للخلايا وتتفاعل بشكل مباشر أو غير مباشر مع الدنا وقد تثبط عمليات الفسفرة Phosphorylation.

تطورت العديد من الاستراتيجيات الخلوية في الكائنات متعددة الخلايا للتعامل مع تلف الدنا وتشمل هذه الاستراتيجيات ما يلي:

١- آليات إصلاح الدنا.

٢- إزالة الخلايا المحتوية على الدنا التالف من النسيج عند فشل آليات الإصلاح
 من خلال موت الخلايا المبرمج أو أشكال أخرى من الموت الخلوي.

إن أفضل طريقة لضمان بقاء الكائنات وحيدة الخلية على قيد الحياة هو إصلاح أي تلف في الدنا قابل للإصلاح، بينما في الكائنات عديدة الخلايا يوجد هناك استراتيجيات بديلة لتدمير الخلايا التالفة التي لا يمكن إصلاحها. فعلى سبيل المثال، قد يؤدي التلف الشديد للدنا إلى طفرات جينية متعددة لا يمكن للحلية أن تبقى على قيد الحياة في ظل وجود تلك الطفرات، وعند ذلك تنشط آليات الموت الخلوي المبرمج. لقد أثبتت الدراسات الحديثة أن هناك مرونة كبيرة في عمليات إصلاح الدنا وإيقاف نمو الخلية وموت الخلايا المبرمج، فعند تعرض الكائنات الحية عديدة الخلايا لعوامل الإجهاد التأكسدي والسمية الوراثية والخلوية، تنشأ عدة استجابات خلوية مختلفة يعتمد نوعها على نوع الخلايا وموقعها والبيئة المحيطة ومدى شدة تأثير التلف الذي أصاب الخلية.

# تنظيم ومراقبة دورة الخلية Cell cycle checkpoints

يعد تنظيم وفحص أو مراقبة دورة الخلية عند نقاط معينة من دورة الخلية DNA واحدة من أهم الاستجابات الأولية لتلف المادة الوراثية (الدنا) Cell cycle ومن أمثلة تلك الاستجابات تنشيط آليات إصلاح الدنا DNA repair ، ومن أمثلة تلك الاستجابات تنشيط آليات إصلاح الدنا التحكم في mechanisms. تركز عملية مراقبة وفحص دورة الخلية على توجيه مسارات التحكم في الأوامر المنظمة لترتيب وتوقيت كل مرحلة من مراحل دورة الخلية والتأكد من سلامة الخلية وسير العمليات الحيوية في كل مرحلة من مراحل دورة الخلية بشكل طبيعي، وخصوصاً العمليات الحرجة أو الطارئة التي يجب التعامل معها، كعملية تضاعف الدنا DNA replication ، وعزل الكروموسومات بشكل دقيق قبل الانتقال إلى المرحلة

التالية. وتتيح نقاط الفحص للخلية أن تتقدم في دورتما وتنقل المعلومات الوراثية من الخلايا السابقة إلى الخلايا الجديدة بشكل طبيعي.

عندما تُحَفَّز الخلية من قبل عوامل النمو تنتقل من مرحلة السكون (G0) من الدورة الخلوية وتدخل في مرحلة النمو الأولى (Groowth gap1 (G1)، وتستمر في التقدم لتصل مرحلة تضاعف الدنا (S) DNA synthesis (S) والتي تتبعها مرحلة النمو الثانية (Groowth) و ووضح (الشكل رقم ٤) تأثير (G2) وأخيراً مرحلة انقسام الخلية (Mitotic (M)، ويوضح (الشكل رقم ٤) تأثير تلف الدنا خلال دورة الخلية بصورة أساسية عند ثلاث نقاط فحص ومراقبة هي:

## \G1/S cell cycle checkpoint :G1/S الفحص الأولى \G1/S

تقع بين مرحلتي النمو الأولى وتضاعف الدنا ويحدث عند هذه النقطة مراقبة انتقال الخلية من مرحلة النمو الأولى (G1) إلى مرحلة بناء أو تضاعف الدنا (S) عند توفر شروط معينة كأن تكون الظروف البيئية المحيطة مناسبة، والدنا خالياً من التلف، بالإضافة إلى وصول الخلية للحجم المناسب للانتقال للمرحلة التالية. وتتطلب العديد من العمليات التي تتم عند هذه النقطة وجود بروتينات السيكلين المعتمدة على الكاينيز (Cyclin dependent kinases (Cdks) التي تفسفر البروتينات التي تتحكم في تقدم دورة الخلية نحو الخطوة التالية، وتحفز عوامل النمو وانقسام الخلية.

#### Y-نقطة الفحص الثانية G2/M checkpoint :G2/M

تقع بين مرحلتي النمو الثانية والانقسام وتمنع الخلية من الدخول لمرحلة الانقسام في حالة وجود تلف في المكون الوراثي (الجينوم) Genome للخلية، وبالتالي فهي تضمن إتمام تضاعف الدنا وخلوه من التلف.

### Mitosis checkpoint : M الثالثة الفحص الثالثة

تقع عند مرحلة انقسام الخلية ويتم في هذه النقطة التأكد من ارتباط ألياف المغزل Spindle fibres بالسنترومير Centromere ، وبعد ذلك يسمح للخلية أن تتقدم لمرحلة الانقسام. إن فشل ألياف المغزل في الارتباط بالسنترومير يؤدي ذلك إلى شذوذ في عدد الكرموسومات Numerical chromosomal aberrations.

يجب أن تحتوي الخلايا المنقسمة على عامل تنشيط الانقسام Mitosis promoting الذي يتم تنشيطه في نهاية مرحلة G2، وله دور محوري في فسفرة البروتينات التالية:

أ) بروتين الهستون الأول Histone protein H1 الذي يساهم في تحلزن الكروماتين .Chromatin

ب) الصفيحة النووية Nuclear lamins لغرض تحلل الغلاف النووي والسماح للكروموسومات بالتحرك نحو أقطاب الخلية.

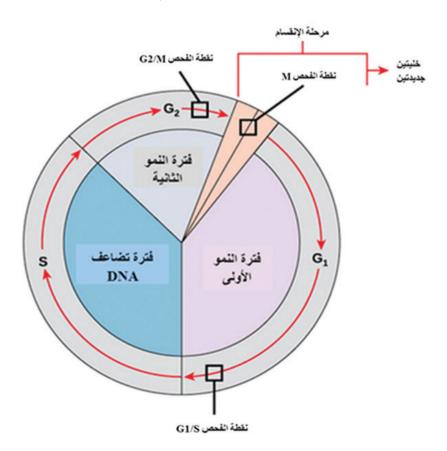
ج) البروتينات المرتبطة بالأنيبيات الدقيقة Microtubule-associated proteins ج) البروتينات المغزل. (MAPs)

تتحكم هذه البروتينات في دخول الخلية مرحلة الانقسام. من الجدير بالذكر أن التصاق أو اتصال الخلايا المنقسمة بخلايا أخرى في مراحل مختلفة من دورة الخلية يسبب تكثفاً لنوى الخلايا الأخرى وتحللها.

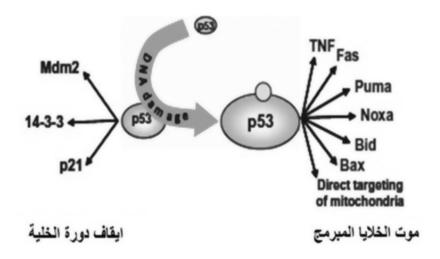
احتمال وجود أخطاء أثناء مرحلة تضاعف الدنا أمر محتمل فعملية تضاعف الدنا عملية غير كاملة Imperfect ، وقد يقوم إنزيم بلمرة الدنا عملية غير كاملة Imperfect ، وقد يقوم إنزيم بلمرة الدنا عملاح تلك الأخطاء قواعد نيتروجينية خاطئة لا تتوافق مع قواعد شراجاف. إذا لم يتم إصلاح تلك الأخطاء فإنحا ستؤدي إلى طفرات، وعندما تستشعر الخلية بأن هناك تلفاً في الدنا تتوقف دورة الخلية خلال المراحل المتخصصة عن طريق تنشيط نقاط الفحص المناسبة لتلف الدنا. فعلى سبيل المثال عند حدوث بعض العيوب في عملية تضاعف الدنا تتوقف شوكة التضاعف، كما أن وجود مواد كيميائية كالأدوية التي تتداخل وتؤثر على تضاعف الدنا تثني ط نقاط فحص محددة تؤدي إلى توقف دورة الخلية عند النقطة MG2/M الانتقالية حتى يكتمل تضاعف الدنا. تحث نقاط الفحص كذلك نسخ الجينات التي تساهم في إصلاح الدنا ومراقبة خطوات هذه العملية.

تنشط عمليات المراقبة عند نقاط الفحص تنشط معها بروتينات النسخ وبروتينات ما بعد النسخ وهذه البروتينات تنظم دورة الخلية وتقدمها بشكل طبيعي. إن فسفرة

وتنشيط البروتين الكابت للأورام P<sup>53</sup> يُنْشِط نسخ البروتينات المحفزة لنقاط فحص الخلية وإصلاح الدنا معاً. السؤال المهم هنا: ما الذي سيحدث عندما يوجد تلف في الدنا؟ للجواب على هذا السؤال يجب أن نتذكر أن نشاط نقاط فحص تلف الدنا تجبر الخلية على التوقف في الخلايا التالفة، وتسمح لآليات الإصلاح بإصلاح التلف. وبمجرد إصلاح التلف تُستأنف دورة نمو الخلية ووظائفها، وفي حال كان الضرر شديداً أو لا يمكن إصلاحه فستنشط الطريقة المناسبة للموت الخلوي. هذا المصير يحدد منذ البداية من قبل الجين P<sup>53</sup> وجينات أخرى مشاركة (الشكل رقم ٥).



الشكل رقم (٤). يوضح نقاط فحص تلف الدنا أثناء دورة الخلية.



الشكل رقم (٥). الجينات المشاركة في فحص تلف الدنا أثناء دورة الخلية.

# أنواع تلف الدنا ونُظم الإصلاح Types of DNA damage and repair systems

تنشأ معظم أسباب تلف الدنا من داخل الخلية مقارنة بحجم التلف الناتج من المصادر الخارجية، فقد وجد في بعض الحالات أن التعرض العرضي للعوامل الخارجية ذات السمية الجينية تكون سبباً لمرض السرطان بنسبة تتراوح ما بين ٧٥-٨٠٪. الجدير بالاهتمام، أن مصادر التلف الداخلي والخارجي على حد سواء تحفز أنواعاً متشابحة من تغيرات الدنا، مثل الانحرافات التركيبية المحتلفة وعيوب عملية العبور Crossing over من تغيرات الدنا، مثل الانحرافات التركيبية المحتلفة وعيوب عملية العبور DNA recombination. أثناء الانقسام الاختزالي وما ينتج عنها من إعادة تركيب الدنا القواعد النيتروجينية، بقاء تغيرات الدنا دون إصلاح يؤدي إلى تغيرات وتحولات في القواعد النيتروجينية، وحدوث طفرات وراثية محتلفة وتشوهات كروموسومية، لذلك كان لا بد من وجود آليات إصلاح يتم من خلالها تقويم الخلل ومعالجته.

على الرغم من أن إنزيم بلمرة الدنا DNA polymerase يقوم بوظيفته بشكل دقيق

أثناء تضاعف الدنا، إلا أن تلك الدقة ليست كافية لتلافي كل الأخطاء التي تحدث أثناء تضاعف الدنا. معظم الأخطاء يتم تصحيحها بنسبة حوالي ٩٩٪ بينما يبقى حوالي ١٪ منها بدون إصلاح. هذه الأخطاء المتبقية، التي لم يتم إصلاحها عبر آليات الإصلاح المختلفة أو التي نتجت بسبب عيوب في آليات الإصلاح ذاتما تؤثر على الخلية بشكل أو بآخر، فعلى سبيل المثال قد تؤثر على:

أ) تضاعف الدنا DNA replication وعمليات الترجمة

- ب) مسارات الموت الخلوي Cell death pathways.
  - ج) شيخوخة الخلايا Aging.
  - د) زيادة حدوث الطفرات الوراثية Mutations.

تساهم عمليات إصلاح الدنا في إعادة المحتوى الأصلي له باستخدام مسارات تصحيحية متخصصة وبمشاركة إنزيم البلمرة polymerase DNA. تحدث عملية إصلاح الدنا خلال مرحلة النمو الأولى G1 من دورة الخلية، وغالباً ما تكون مسؤولية آليات الإصلاح مركزة على استئصال التلف وترميم الدنا الذي نشأ تلقائياً نتيجة التعرض لعوامل مختلفة مثل الأدوية المضادة للسرطان والمطفرات البيئية، التي تولد الجذور الحرة وغيرها. تمتلك الخلية آليات مختلفة للاستشعار والتحسس لتلف الدنا ومن ثم تفعيل طرق الاستجابات المناسبة.

#### حساسات تلف الدنا: DNA damage sensors

يتم كشف تلف الدنا وتحديد موقعه من قبل حساسات Sensors خلوية مختلفة وتعتبر الحساسات البروتينية أول وأهم هذه الحساسات التي تكتشف تلف الدنا والعيوب التي تطرأ على عملية النسخ Transcription. يتم بعد الكشف عن تلف الدنا من قبل الحساسات الخاصة إرسال إشارات خلوية إلى النواقل البروتينية، التي تتشكل في المقام الأول بواسطة تغيرات بروتينية تتم من خلال تنشيط عمليات الفسفرة، وفي نماية المطاف تنتقل الإشارة الخلوية إلى العديد من المستحيبات البروتينية التي تقوم

بتنفيذ مختلف الوظائف الخلوية، بما في ذلك إصلاح الدنا ونقاط فحص ومراقبة دورة الخلية وشيخوخة الخلايا والموت الخلوي المبرمج.

تعتبر عملية الاستشعار بوجود التلف أول خطوة أساسية في إصلاح تلف الدنا، فبعد تحديد نوع التلف تَنشَط المعقدات البروتينية Protein complexes المناسبة للتعامل مع نوع التلف، فعلى سبيل المثال معقد MRN يتكون من ثلاثة بروتينات هي بروتين Mre11 وبروتين Rad50 وبروتين Nbs1، هذه البروتينات تلعب دوراً مبكراً في اكتشاف ومعالجة كسور شريط الدنا المزدوج (Doublestrand DNA breaks (DSBs) ، وتُنشط مختلف المسارات المستجيبة لتلف الدنا كالاستجابة لتوقف شوكة التضاعف Replication fork، وبالتالي توقف إنزيم بلمرة الدنا. ومع أن إنزيم بلمرة الدنا قد توقف إلا أن إنزيم الهيليكيز Helicase المتخصص في فك حلزنة الدنا ما زال يواصل عمله ويفك حلزنة الدنا أمام شوكة التضاعف، مما يُؤلد سلسلة مفردة من الدنا والتي سوف تلامس البروتين A وترتبط به. يرتبط المعقد البروتيني MRN بالسلاسل الفردية للدنا (Singlestrand DNA binding protein (SSP) ويتوسع بشكل عشوائي ليشكل بؤرة نووية بروتينية تنمو لتصل إلى حوالي واحد جيجا دالتون وتحتوي على المئات من إنزيمات إصلاح سلسلة الدنا المفردة وبروتينات نقاط الفحص وكروماتين معدل ودنا تالف. يلتف حول هذه البؤرة البروتينية كروماتين متغاير (متباين) -Heteroch romatin من الدنا التالف، ويمكن مشاهدة هذه البؤر بعد الصبغ بالصبغات المعتمدة على الأجسام المضادة، حيث تظهر تلك البؤر بعد دقائق من تلف الدنا وتبقى مرئية لفترة تصل إلى ٢٤ ساعة بعد التلف ثم يتم إصلاحها بعد فترة من الزمن تختلف باختلاف حجم الضرر. تعتبر هذه البؤر سمة مميزة للاستجابة لتلف الدنا ووظيفتها الرئيسية تجميع البروتينات المستجيبة لتلف الدنا في المواقع المتضررة.

يعتبر بروتين (Ataxia telangiectasia mutated (ATM) أحد بروتينات الكاينيز Kinase، الذي يتواجد بصورة ثنائيات (دايمرات) Dimers غير نشطة يتم تنشيطه بواسطة معقدات بروتينية خاصة. يَنشط بروتين ATM نتيجة لتعرض المادة الوراثية للمواد السامة، التي تسبب كسوراً في سلاسل الدنا المزدوجة، وهذا

البروتين يحفز فسفرة العديد من البروتينات بشكل مباشر أو غير مباشر مثل البروتين يحفز فسفرة العديد من البروتينات بشكل ومثبطات الأورام السرطانية Tumor suppressors والبروتينات المحافظة على تركيب الكروموسومات (SMC1) (Structural maintenance of chromosomes (SMC1) والتي تساهم وهي أحد الأهداف المهمة التي تتم فسفرتما تحت تأثير بروتين ATM، والتي تساهم بشكل فعّال في تحفيز إصلاح أضرار الدنا مثل الكسور الناتجة بفعل العوامل المختلفة، وبالتالي تزيد فرصة بقاء الخلايا على قيد الحياة. تطال عمليات الفسفرة تحت تأثير بروتين ATM العديد من البروتينات التي تلعب دوراً مهماً في التحسس لمراحل تلف الدنا. تحفز تلك الحساسات البروتينية عدة آليات خلوية مثل إيقاف الدورة الخلوية والبدء بعمليات إصلاح الدنا الممكنة، فإذا لم يتم الإصلاح فسوف تنشط آليات الموت الخلوي المبرمج. كما ينُشِط بروتين ATM مسارات خلوية أخرى تساهم في الحفاظ على بيئة خلوية متوازنة ومستقرة.

يُشكل بروتين ATM أحد المحولات الأساسية للاستجابة لتلف الدنا، حيث إنه في غضون دقائق من تكون كسور الدنا يتم تجنيد (تطويع) Recruitment البروتين وتفعيله، ويظل بروتين ATM المفسفر مستقراً ونشطاً لعدة ساعات، مما يؤكد دوره المهم في نمو وسلامة الخلية الطبيعية. ينصب نشاط هذا الجين بشكل أساسي على عمل شوكة التضاعف خلال مرحلة بناء الدنا DNA synthesis، وعليه يتضح الدور الذي يؤديه هذا البروتين في الحفاظ على سلامة الجينوم.

#### الاستجابة لتلف الدنا DNA damage response

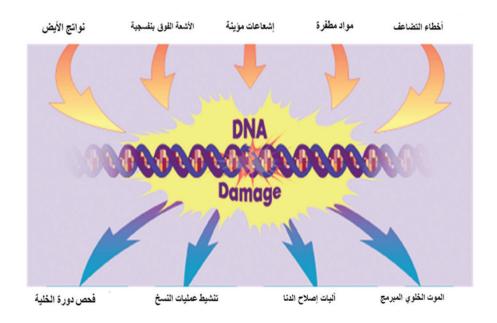
تستجيب الخلايا لتلف المادة الوراثية بعدة طرق أو مسار إشارات خلوية متباينة، وقد تتقاطع أو تشترك Cross talk الإشارات الخلوية مع بعضها عند نقاط معينة. يُحفَز كل مسار أو أكثر بناء على عوامل مختلفة كنوع وشدة وزمن العامل المسبب لتلف المادة الوراثية (الشكل رقم ٦). قد يتبادر إلى الذهن سؤال مهم جداً، وهو: كيف تكتشف

الخلية تلف الدنا، وكيف يتم تقييم الضرر؟ وللإجابة عن هذا السؤال لنا أن نتصور أحد مسارات الاستجابة الخلوية كما في (الشكل رقم ٧)، هذا المسار هو أحد سلاسل المسارات الخلوية الناتجة بفعل عامل أو أكثر من العوامل المسببة لتلف الدنا، والذي يبين مراحل الاستجابة الخلوية التي قسمت إلى ثلاث خطوات هي:

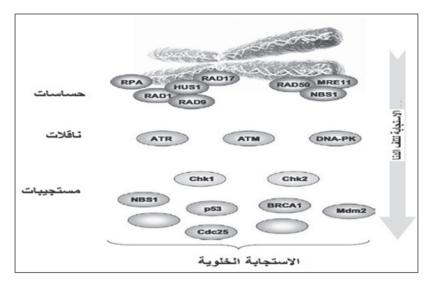
۱- الإحساس بوجود العامل المسبب لتلف الدنا، حيث يتم استشعار الضرر بواسطة عدد من البروتينات الخلوية، التي تعمل كحساسات للمادة المسببة لتلف الدنا.

٢- نقل الإشارات الخلوية عبر البروتينات الحساسة والبروتينات المستجيبة بواسطة نوع آخر من البروتينات تسمى الناقلات.

٣- الاستجابة لتلك المؤثرات بمساعدة بروتينات خاصة أيضاً تسمى المستجيبات،
 والتي بدورها تنشط آليات إصلاح الدنا إذا كان الضرر قابلاً للإصلاح.



الشكل رقم (٦). يوضح مسببات تلف الدنا وطرق الاستجابة الخلوية له.



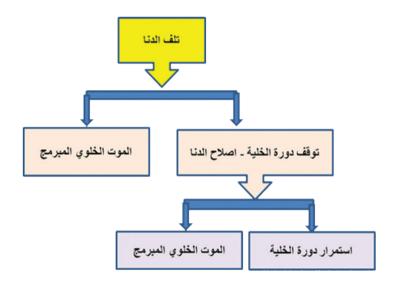
الشكل رقم (٧). يوضح مسارات الاستجابة الخلوية لتلف الدنا (John and Douglas (2001).

ينظم بروتين ATM بمساندة بروتين (ATK بمساندة بروتين المرحة الخلايا وموتما المبرمج، غو الخلية وتوقفها وما يتعلق بدورة الخلية كنظم إصلاح الدنا وشيخوخة الخلايا وموتما المبرمج، وذلك عن طريق تفعيل مجموعة من المستجيبات البروتينية، حيث إنه بعد الاستحابة لتلف الدنا تنشط عمليات الفسفرة كما ذكر سابقاً وعمليات التحلل البروتيني لاسيما عمليات التحلل بواسطة بروتين الأبكوتين (Ubiquitination)، وتثبيط نشاط بعض الجينات من خلال ميثلتها والموتين Methylation وتطويع المزيد من البروتينات مثل بروتين P<sup>53</sup>، بروتين Mdm2، بروتين NBS1، بروتين 1880 وغيرها. يعتمد تحديد نوع البروتينات التي ستساهم في تنظم عملية إصلاح الدنا وإشارات التلف على طبيعة التلف وحجمه وفي أي مرحلة من مراحل دورة حياة الخلية قد حدث هذا التلف.

يحتاج عمل البروتينات المشاركة في العميات السابقة إلى تنظيم وتناسق دقيق جداً، وهذا التنسيق يتم كذلك بواسطة العديد من البروتينات المنظمة مثل 53BP1 و53BP1 لضمان تجنيد وتزامن البروتينات المستحيبة لتلف الدنا.

تُنشط الخلية إيقاف نقاط الفحص لتسهيل إصلاح التلف، وللإصلاح الناجح

تتوقف دورة حياة الخلية وإذاكان الدنا شديد التلف أو لا يمكن إصلاحه تنشط أحداث الموت الخلوي المبرمج ومراحل الشيخوخة (الشكل رقم ٨).



الشكل رقم (٨). يوضح الاستجابة الخلوية لتلف الدنا.

# اكتشاف الطفرات الوراثية: Detection of genetic mutations

اعتمد الباحثون على أنواع معينة من الكائنات الحية كالبكتيريا وحيوانات التحارب المحتلفة لتحديد أو اكتشاف الطفرات الوراثية، التي نتجت بفعل عوامل متلفة للدنا، وتمتاز تلك الكائنات بسهولة التعامل معها وتربيتها في المعمل وغير ذلك من الصفات. ومن أمثلة تلك الكائنات: الفئران وذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) والبكتيريا وغيرها.

هناك العديد من الطرق المستخدمة لاكتشاف الطفرات في البكتيريا والفطريات، ومنها:

- ۱ اكتشاف الطفرات التغذوية Nutritional mutation.
- ۲- استخدام بیئات استزراع کاملة Complete culture media وبیئات استزراع
   منتقصة Minimal culture media.
  - أما في النبات فهناك العديد من الطرق المستخدمة لاكتشاف الطفرات، ومنها:

- ١- تحليل المكون الكيموحيوي للنبات.
- ٢- استزراع الخلايا النباتية في بيئات محددة.
- -٣ تقنيات الجينوم والوراثة العكسية Genomic and reverse genetics.

تستخدم الوراثة العكسية Reverse genetics كطريقة فعّالة لاكتشاف وظيفة الجين من خلال تحليل التأثيرات المظهرية Phenotypic effects لذلك الجين، حيث يبدأ هذا التحليل بنسخ الجين البري Wild type أو الحصول على mRNA أو البروتين الطبيعي. ثم إحداث تطفر موجهة في الموقع الجيني ومن ثم تحليل الأشكال المظهرية. أي أنه تم تحديد تأثير الطفرات على الوظيفة الطبيعية للجين (تحديد وظيفة الجين). وفيما يختص باكتشاف الطفرات في الحيوانات فتشبه اكتشاف الطفرات في النباتات، بالإضافة إلى اختبارات عديدة أخرى على الدروسوفيلا. أما في الإنسان فهناك العديد من الطرق المستخدمة لاكتشاف الطفرات ومنها:

- Analysis of genetic records النسب -۱
- ۱۳ vitro cell culture techniques حارج الجسم ۲ تقنیات استزراع الخلایا خارج
  - ٣- تقنيات الجينوم والوراثة العكسية.

#### Ames test اختبار إيمز

يعتبر هذا الاختبار من أكثر الاختبارات المستخدمة لتحديد قدرة المركبات الكيميائية على إحداث الطفرات. لقد تم تطوير هذا الاختبار بواسطة Bruce Ames الكيميائية على إحداث الطفرات. لقد تم تطوير هذا الاختبار بواسطة من بكتيريا وهو اختبار بسيط وسريع ورخيص الثمن تستخدم فيه عدة سلالات من بكتيريا السالمونيلا Salmonella typhimurium ، التي تحتوي على أليلات الطافرة للجين المسؤول عن تصنيع الحمض الأميني الهستدين His، وهذه الأليلات الطافرة ترتد بواسطة أحداث طفورية إضافية. فعلى سبيل المثال: هناك أليل طافر يسمى -1000 يمكن أن يرتد بفعل طفرة مرتدة (طفرة إحلال) يتم من خلالها إعادة الأليل لوضعه الطبيعي برتد بفعل طفرة مرتدة (طفرة إحلال) يتم من خلالها إعادة الأليل لوضعه الطبيعي إصلاح الدنا (Mortelmans and Zeiger 2000).

يبين (الشكل رقم ٩) خطوات اختبار إيمز، وفيه تمزج بكتيريا السالمونيلا مع خلاصة كبد الفأر 89 بما فيها من محتوى إنزيمي ينشط المادة المطفرة والمادة التي من المحتمل أن تكون مطفرة في الأنبوب (أ) والتي لم توضع في الأنبوب الضابط (ب). يمكن حساب تكرار التطفر من المعادلة التالية:

تكرار التطفر = عدد المستعمرات النامية ÷ العدد الكلي للبكتيريا المستزرعة. ومع أنه يمكن دراسة قدرة المركبات على إحداث الطفرات أو السرطان باستخدام العديد من الكائنات الحية إلا أنه يظل احتبار إيمز هو الأكثر شيوعاً.

فلاصة كبد الفأر المالمونيلا المالمونيلا المالمونيلا المالمونيلا المالمونيلا المالمونيلا المالمونيلا المستعبرات المستدين على المزيج الذي ينقصه الحمض الأميني الهستدين Histidine المستدين المدة ليلة كاملة المساح للبكتيريا بالنمو الحضن لمدة ليلة كاملة المساح للبكتيريا بالنمو العينة الضابطة تبين مستوى المستعبرات المنخفض للطفرات التلقائية المساح المستغيرات المنخدمة سببت طفرات وراثية المستغيرات المنخدمة سببت طفرات وراثية

الشكل رقم (٩). يوضح خطوات اختبار إيمز(Mortelmans and Zeiger 2000).

# آليات إصلاح الدنا DNA repair mechanisms

تمت الإشارة سابقاً إلى أن المادة الوراثية تتعرض خلال حياة الخلية لأنواع عديدة من المخاطر التي تؤثر بدرجات متفاوتة على دقة تضاعف الدنا ووظيفته التي تسيطر على مختلف العمليات الحيوية. وتعد الطفرات الوراثية أحد أبرز نواتج تلف الدنا. لا يتسع المجال هنا للخوض في أنواع الطفرات الوراثية والآليات التي تؤدي إلى حدوثها، إلا أنه من الضروري التنويه إلى أن معظم الطفرات الوراثية تكون ضارة بالكائن الحي، فإذا لم يكن هناك أنظمة حيوية متخصصة لإصلاح تلك الأضرار وإلا فإنما ستتراكم، مما قد يسبب موت الكائن الحي.

مكّن الله سبحانه وتعالى الخلايا الحية من تطوير سلسلة من نُظم الإصلاح المختلفة ومنها النظم الإنزيمية وغير الإنزيمية القادرة على إصلاح العديد من الطفرات بوسائل متعددة. إن تعدد آليات إصلاح الدنا مؤشر قوي على أهمية بقاء الطفرات في الخلايا الجسدية أو الجنسية عند مستوى معتدل، فكما هو معروف أن هناك العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان تُعزى إلى عيوب في آلية أو أكثر من آليات إصلاح الدنا، وهذا كُلّه يعتبر دليلاً على أهمية آليات إصلاح الدنا لحياة الكائنات الحبة.

تم تقسيم مسارات آليات إصلاح الدنا بشكل عام إلى عدة مسارات كما يلي: مسارات إصلاح الدنا: DNA repair pathways

# أولاً: تجنب الأخطاء قبل وقوعها Avoidance of errors before happen

تتميز بعض النظم الإنزيمية بالقدرة على معادلة سمية بعض المركبات المسببة لتلف الدنا كالمواد المؤكسدة قبل تفاعلها مع الدنا. تنشأ المواد المؤكسدة خلال التلف المؤكسد للدنا، فالإنزيم Superoxide dismutase يحفز تحويل الشوارد المؤكسدة إلى فوق أكسيد الهيدروجين ليعمل بعد ذلك إنزيم الكتاليز على تحويل هذا المركب السام إلى ماء وأكسجين، وبذلك يتم منع التأثيرات الضارة التي يحدثها هذا المركب في الخلايا.

## ثانياً: التصحيح المباشر للأضرار الطفورية

#### **Direct correction of mutational lesions**

من أكثر الطرق بساطة وفاعلية لإصلاح تلف الدنا حال حدوثه هو إرجاعه أو تحويله مباشرة إلى حالته الطبيعية، وبالرغم من أن الإرجاع المباشر للخطأ إلى حالته الطبيعية ليس دائماً ممكن الحدوث، إلا أن ذلك ممكناً في حالات قليلة منها:

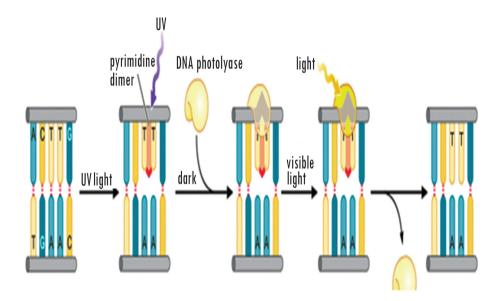
١ – الإصلاح بواسطة النشاط النيوكليزي الخارجي5 → Exonuclease activity 3 لإنزيمات بلمرة الدنا DNA polys .

تعد عملية تضاعف الدنا عملية سريعة جداً، ولذلك فإنه من المتوقع حدوث أخطاء أثناء إضافة النيوكليوتيدات الجديدة في الشريط النامي الجديد الأخطاء strand بواسطة النشاط النيوكليزي الخارجي لإنزيمات بلمرة الدنا. مثل هذه الأخطاء نادرة جداً، ففي الكائنات الحية بدائية النواة يعتبر إنزيم البلمرة المالمية الكائنات الحية بدائية النواة يعتبر إنزيم البلمرة واحد في كل هو الإنزيم الأساسي لتضاعف الدنا، وهذا الإنزيم يحدث به خطأ واحد في كل ١٠٠ مليون نيوكليوتيدة مضافة إلى الشريط الجديد. كما يؤدي النشاط النيوكليزي الخارجي دوراً جوهرياً في عمل إنزيمات بلمرة الدنا واستقرارها، فهو بمثابة خط التصحيح الأول لأخطاء إنزيم بلمرة الدنا، كما يساعد على فصل تتابعات الدنا غير السليمة، وهذا ما يعرف بالوظيفة المحررة للإنزيم المورة للإنزيم المورة الماليمة،

۲-الإصلاح بالتنشيط الضوئي:Photoreactivation repair

وجدت هذه الآلية لإصلاح معظم الأخطاء التي تحدث بفعل المواد الكيميائية

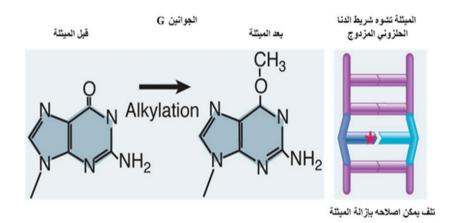
التي تؤثر على القواعد النيتروجينية، حيث يتضمن هذا المسار مشاركة إنزيم يسمى الفوتوليز Photolyase، والذي يُحفز تكسر الروابط الكيميائية المتكونة بين ثنائيات الثايمين (Photolyase) بفعل الأشعة فوق البنفسجية كما في (الشكل رقم الثايمين (الشكل رقم الثايمين Thymidine dimers (TT). ليقوم هذا الإنزيم بعمله لا بد من توفر الضوء، ومن هنا جاءت تسميته بنظام الإصلاح الضوئي Light repair system توجد إنزيمات الإصلاح بالتنشيط الضوئي في كل الكائنات الحية، إلا أن هذه الإنزيمات مهمة جداً للنباتات التي تتعرض كثيراً لأشعة الشمس، فعند استخدام الأشعة فوق البنفسجية كمطفر تجريبي، لا بد من إجراء المعاملة في الظلام حتى تزيد فرصة الحصول على طفرات، ففي حالة وجود الضوء ينشط إنزيم الفوتوليز، الذي سيقوم بدوره بعملية التصحيح، كما ويمكن إزالة ثنائيات الثايمين (TT)، في الظلام من خلال نظام الإصلاح في الظلام العرف على مكان التلف وإصلاحه.



الشكل رقم (١٠). يوضح عملية اصلاح تلف الدنا بالتنشيط الضوئي (١٠). يوضح عملية اصلاح تلف الدنا بالتنشيط

Repair of (إصلاح بالإنزيمات الناقلة لجحاميع الألكلة (إصلاح تلف الألكلة) alkylating damage

تسمى إنزيمات الإصلاح الناقلة لمجاميع الألكلة به Alkyltransferases وهي إنزيمات تتضمن التصحيح المباشر لتلف الدنا الكروموسومي، حيث تزيل هذه الإنزيمات محموعات الميثيل ( $-CH_2$   $-CH_3$ ) أو الإيثيل ( $-CH_3$   $-CH_3$ ) التي تحت إضافتها إلى الجوانين G و/أو الأدينين A بواسطة EMS أو MMS أو المركبات المماثلة. تحت دراسة الإنزيم الناقل للميثيل A بواسطة في بكتيريا القولون، ووجد أن هذا الإنزيم يعمل على نقل مجموعة الميثيل من قاعدة الجوانين المحورة +0 إلى الحمض الأميني السستين الموجود في الإنزيم نفسه مما يؤدي إلى كبح نشاط الإنزيم، وهذا المسار يمكن أن يتشبع إذا كان مستوى الألكلة مرتفعاً (الشكل رقم 11).



الشكل رقم (١١). يوضح الإصلاح بالإنزيمات الناقلة لمجاميع الألكلة.

## ثالثاً: نظام الإصلاح بالاستئصال (الإزالة): Excision repair system

يُستخدم في هذا النوع من الإصلاح القاعدة المتممة Complementary base يُستخدم في هذا النوع من الإصلاح قاعدة أو أكثر من قواعد الدنا التالفة عن طريق استئصالها ثم استبدالها بقاعدة

أو أكثر من قواعد الدنا الجديدة والمكملة لقواعد دنا القالب Template. يعتمد هذا النوع من الإصلاح على تكامل أو تماثل دنا القالب مع دنا الشريط الجديد النامي المراد الصلاحه، ولهذا يسمى بنظام الإصلاح المعتمد على التماثل repair systems. يوجد نوعان من الإصلاح بالاستئصال هما:

## Base-excision repair (BER) الإصلاح بالاستئصال القاعدي - ١

يأتي من حيث الأهمية بعد إصلاح الدنا بالوظيفة المحررة لإنزيمات بلمرة الدنا ملا DNA Polys و DNA Polys حيث يتم استئصال القاعدة أو القواعد التالفة في الدنا ثم استبدالها بقاعدة أو قواعد سليمة؛ أي إصلاح التلف الكبير في الدنا. يستخدم هذا النوع لإصلاح القواعد المميثلة أو الفاقدة لمجموعة الأمين أو المؤكسدة أو المفقودة تلقائياً أو حتى ثنائيات البيريميدينات، يتم إنجاز هذا النظام بواسطة إنزيمات الجلايكوسيليز DNA محتى ثنائيات البيريميدينات، عمل على تكسير الروابط التي توجد بين القواعد النيتروجينية والسكر الخماسي مما ينتج عن ذلك مواقع عديمة البيورين أو البيريميدين AP sites في شريط الدنا.

# خطوات الإصلاح بالإستئصال القاعدي:

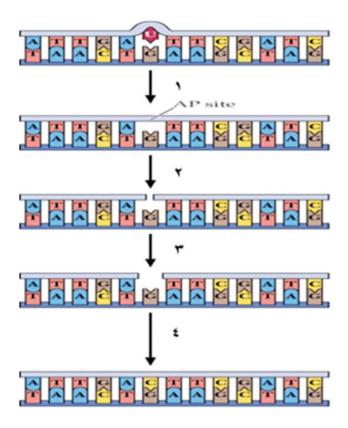
يتم الإصلاح بالاستئصال القاعدي كما في (الشكل رقم ١٢) على النحو التالي:

١- يميز إنزيم AP endonuclease موقع تلف الدنا ثم يُقطع شريط الدنا قبل وبعد موقع التلف مباشرة.

٢- استئصال مجموعة من النيوكليوتيدات الجحاورة للموقع بواسطة

Deoxyribophosphodiesterase (dRpase)

- ملء الثغرة Gap الناتجة بقواعد سليمة بواسطة إنزيم بلمرة الدنا.
- لاصق DNA المضافة مع بقية أجزاء الدنا بواسطة إنزيم الدنا اللاصق DNA.
   القطع المضافة مع بقية أجزاء الدنا بواسطة إنزيم الدنا اللاصق DNA.



الشكل رقم (١٢). يوضح خطوات الإصلاح بالاستئصال القاعدي.

يوجد العديد من أنواع إنزيمات الجلايكوسيليز Glycosylases التي ترتبط بالدنا ومنها:

#### Uracil-DNA glycosylase (

تتحول قاعدة السيتوسين C إلى قاعدة اليوراسيل D نتيجة لإزالة مجموعة الأمين D من قاعدة السيتوسين. فإذا ترك هذا التغيير دون إصلاح فسيؤدي إلى استبدال السيتوسين D بالثايمين D بالثايمين D بالثايمين D بالناعين D الذي يستأصل قاعدة اليوراسيل D الخاطئة من الدنا.

#### ب) Hypox. –DNA glycosylase

يميز هذا الإنزيم مركب الهايبوزانثين Hypoxanthine المشتق من قواعد البيورين النيتروجينية، التي تدخل في تركيب الدنا الذي يتكون الهايبوزانثين نتيجة فقدان مجموعة الأمين من قاعدة الأدنين. يتعرف إنزيم Hypox. –DNA glycosylase على الهايبوزانثين يستأصلها ويتخلص منها.

### DNA-glycosylase (ד

يميز هذا الإنزيم ويستأصل القواعد المؤلكلة والقواعد المؤكسدة التالفة وثنائيات الثايمين.

# Nucleotide excision repair (NER):ح الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي

بالرغم من أن معظم تلف الدنا من النوع الذي يتضمن تلف قاعدة نيتروجينية واحدة، ويمكن التعامل معه من خلال مسار الإصلاح بالاستئصال القاعدي، إلا أن هذا المسار لا يستطيع تمييز وتصحيح التلف الكبير الذي يطال نيوكليوتيدة أو أكثر مما يسبب تشوهات في حلزون الدنا، مما قد يعيق عملية تضاعف الدنا وقد يؤدي لموت الخلية. وللتغلب على هذه الأضرار، تستعمل الخلايا مسار الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي القادر على تجاوز عقبة تضاعف الدنا أو عملية النسخ وإصلاح التلف، يندرج تحت مسار الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي مساران رئيسيان هما:

أ) الإصلاح الجينومي العام (Global genomic repair (GGR).

ب) الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي المقترن بالنسخ - Transcription coupled . nucleotide excision repair (TC-NER)

يتضمن مساري الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي أربع خطوات هي:

١ - تمييز قاعدة أو قواعد الدنا التالفة.

٢- تجمع معقد متعدد البروتينات عند الموقع المتضرر.

٣- قطع أو استئصال قطعة من الشريط التالف (حوالي ٣٠ نيوكليوتيدة).

٤ - استعمال الشريط السليم كقالب لتصحيح الضرر أو التلف ثم ملء موقع التلف.

تنتج تزاوجات القواعد النيتروجينية الخاطئة بفعل انزلاق الشريط الجديد (النامي) أثناء تضاعف الدنا، على سبيل المثال: يلاحظ في الآلية الجزيئية لنظام الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي في بكتيريا القولون كنموذج للكائنات بدائية (أولية) النواة Prokaryotic، أن هناك ثلاثة بروتينات مختلفة هي: بروتين Mut S وبروتين Mut S، وهذه البروتينات تكتشف وتوجه الاستئصال وبروتين للقاعدة النيتروجينية الخاطئة من الشريط النامي. وقد أثبتت التجارب أن غياب أي من هذه البروتينات يؤدي إلى زيادة في معدل التطفر، مما يثبت دورها الفعّال في عملية إصلاح تلف الدنا. يمكن تلخيص الدور الذي تقوم به تلك البروتينات على النحو التالي:

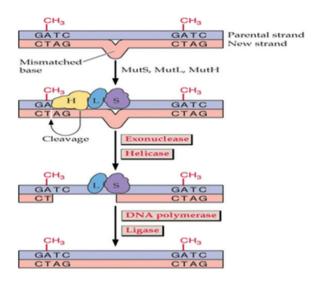
۱- يحدد البروتين Mut S التزاوجات الخاطئة.

٢ - بمحرد تحديد التزاوجات الخاطئة يرتبط بروتين Mut S مع بروتين Mut L ويكونان معقداً بروتينياً.

۳- يرتبط المعقد البروتيني مع البروتين Mut H بآلية التوائية، وهذا الأخير هو أحد إنزيمات تحلل الدنا داخلية المنشأ Endonuclease، والذي يرتبط بالدنا ويقطع شريط الدنا النامي المتضرر.

٤-بعد قطع الشريط النامي، يفصل البروتين Mut U شريط الدنا في المنطقة المتضررة، يلي ذلك هضم (قطع) جزء من الشريط النامي حول موقع التزاوجات الخاطئة بواسطة إنزيم تحلل الدنا خارجي المنشأ Exonuclease، مما يؤدي إلى تكون ثغرة في شريط الدنا.

٥-يتم ملء الثغرة بواسطة DNA poly حسب التتابعات المتممة لها ثم لصق القطع المتبقية بواسطة الدنا اللاصق DNA ligase (الشكل رقم ١٣).



الشكل رقم (١٣). يوضح خطوات الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي.

بهذا يتم إصلاح التزاوجات الخاطئة من خلال استئصال الجزء المتضرر في الشريط النامي، وإعادة تصنيع التتابع الصحيح باستخدام شريط الدنا غير المتضرر الذي يعمل كقالب.

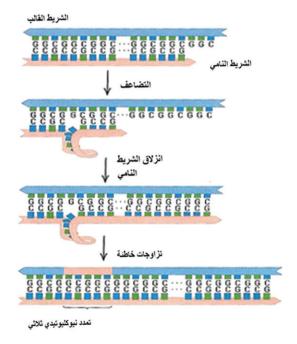
تمتلك الكائنات حقيقية النواة Eukaryotic بروتينات مماثلة للبروتين Mut S مع بروتينات عديدة أُخرى، ولكن إلى الآن لم يتم التعرف على بروتين ماثل للبروتين Mut H ولذلك فإن الآلية التي يتم بواسطتها التمييز بين شريط الدنا النامى وشريط الدنا القالب في هذه الكائنات غير مفهومة بشكل جيد.

تقدم آلية الانزلاق Slippage (الشكل رقم ١٤) تفسيراً جيداً لما يحدث من تكرارات أو تتابعات في شريط الدنا. تحدث هذه الظاهرة عندما ينزلق أو ينفصل شريط الدنا النامي عن شريط الدنا القالب لمسافة معينة ثم يعاود شريط الدنا النامي الارتباط بشريط الدنا القالب مرة أخرى عند نقطة ما بعد موقع الانفصال الأصلي مباشرة. أثناء عملية الانفصال كانت عملية التضاعف مستمرة مما ينتج عنه تكرار التتابعات

في شريط الدنا داخل الجزء الواقع ما بين مكان الانفصال ومكان إعادة الاتصال مرة أخرى. يؤدي إصلاح التزاوجات الخاطئة في الشريط القصير إلى تكون تكرار أو تمدد نيوكليوتيدي ثلاثي Expanded trinucleotides repeats.

تكمن الاختلافات بين المسارين في الخطوة الأولى، في موضع توقف شوكتا التضاعف مما يؤدي إلى تنشيط مسار الإصلاح الجينومي العام، كما أن توقف عملية النسخ يُنشط مسار الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي المقترن بالنسخ.

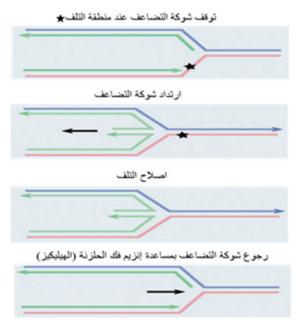
يعمل مسار الإصلاح الجينومي العام على إصلاح الأضرار الموجودة عند أي موقع في الجينوم، وهذا المسار ينشط عند توقف شوكتا التضاعف، فإذا لم تصحح الأضرار فسوف تتراكم وتؤدي إلى طفرات جينية أو موت خلوي. يعمل أما مسار الإصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي المقترن بالنسخ على إصلاح المناطق التي تكون في حالة نسخ. وينشط هذا المسار عند توقف عملية النسخ عند موقع الضرر



الشكل رقم (١٤). يوضح آلية الانزلاق والتمدد النيوكليوتيدي الثلاثي.

فإذا لم يصحح الضرر فسيؤدي إلى موت خلوي مبرمج للخلايا المصابة. كما يقوم هذا النظام وبشكل عام، بإصلاح العديد من أنواع تلف الدنا مثل ثنائيات الثايمين والقواعد التالفة أو المفقودة وأنواع معينة من الارتباطات العبورية Cross-links وهو يوجد في جميع أنواع الكائنات الحية. يستنتج مما سبق، أن هذا النظام يصحح الأخطاء أو التزاوجات الخاطئة خلال عملية تضاعف الدنا في حال فشل النشاط النيوكليزي الخارجي لإنزيم بلمرة الدنا في إصلاحها. كما أن الإصلاح هنا مقتصر على الشريط النامي فقط، والذي يمكن تمييزه كما ذكر سابقاً من خلال فقدان قاعدة الجوانين A المميثلة.

تتوقف شوكة التضاعف Replication fork عندما تصل أو تلامس موقع الخطأ في شريطي الدنا الجديدين Two daughter strands. بعد أن تتوقف شوكة التضاعف تتراجع للخلف للسماح بعملية الإصلاح، وبعد أن يتم الإصلاح تعاود شوكة التضاعف تقدمها بمساعدة إنزيم فك حلزنة الدنا الهيليكيز Helicase (الشكل رقم ١٥).



الشكل رقم (١٥). يوضح تراجع شوكة التضاعف عند وجود تلف الدنا.

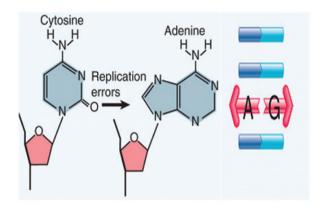
هناك العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان تُعزى إلى عيوب متوارثة في الجينات المرتبطة بهذا النوع من نظم الإصلاح مثل مرض جفاف الجلد المصطبغ Xeroderma ومتلازمة كوكاين Cockayne وغيرهما، والخاصية المشتركة بين هذين المرضين هي زيادة الحساسية لضوء الشمس بسبب عدم القدرة على إصلاح الاضرار المستحثة بالأشعة فوق البنفسجية.

# رابعاً: نظام إصلاح التزاوجات الخاطئة: Mismatch repair system

تحدث العديد من التزاوجات الخاطئة أثناء عملية تضاعف الدنا، ويقدر معدل تلك الأخطأ بحوالي 1 - °. ومع أن عملية الإصلاح بواسطة النشاط المحرر الخارجي لإنزيم بلمرة الدنا تقلل هذه النسبة إلى أقل من 1 - ∨ ، إلا أن تلك الأخطاء يجب أن تصحح قبل إتمام عملية النسخ، حتى لا يترتب على وجودها استمرار تراكم تلف الدنا مما سيؤدي حتماً إلى الموت الخلوي.

هناك نظام رئيسي آخر يعمل على تصحيح أخطاء التضاعف، ويسمى بنظام إصلاح التزاوجات الخاطئة، الذي يعمل على تقليل معدل الخطأ إلى أقل من ٢٠٠٠. يستطيع هذا النظام كشف وإصلاح القواعد والتزاوجات الخاطئة وكذلك إصلاح التغيرات التي تسبب زيادة أو نقصاً في النيوكليوتيدات أثناء عملية التضاعف، التي تنشأ من أخطاء عملية التضاعف. يمكن تصحيح أخطاء عملية التضاعف باستبدال القواعد الخاطئة بقواعد سليمة (الشكل رقم يمكن تصحيح أخطاء عملية التضاعف باستبدال القواعد الخاطئة بقواعد سليمة (الشكل رقم المناهد لوحظ أن وجود أي خلل في نظام إصلاح التزاوجات الخاطئة يزيد تكرار معدل الطفرات إلى حوالي ١٠٠ مرة مما قد يسبب بعض الأمراض السرطانية.

يوجد نظام إصلاح التزاوجات الخاطئة في كل أنواع الكائنات الحية بما في ذلك الإنسان، وهذا النظام يقوم بعدة وظائف من أهمها: تحديد وتمييز أزواج القواعد الخاطئة، ثم استئصال تلك القواعد الخاطئة، وإتمام عملية الإصلاح حيث تقوم مجموعة من الإنزيمات المتخصصة بمسح شامل لشريط الدنا المزدوج وتحديد التزاوجات الخاطئة ومن أشهرها CT - AC - AG .



الشكل رقم (١٦). يوضح إصلاح التزاوجات الخاطئة.

## خامساً: نظام الإصلاح المعرض للخطأ Error-prone repair

على الرغم من كفاءة العديد من أنظمة إصلاح الدنا، التي تزيل أضرار الدنا بطريقة خالية من الأخطاء، إلا أن بعض الأضرار يمكن أن تفلت من آليات الإصلاح. قد تحدث بعض الأخطاء أثناء تضاعف الدنا، ونتيجة لذلك يصبح إنزيم بلمرة الدنا غير قادر على إتمام عملية التضاعف في وجود تلك الأخطاء، إلا أن الباحثين اكتشفوا أن لدى الخلايا إنزيمات بلمرة متخصصة تستطيع أن تساعد إنزيمات تضاعف الدنا خلال عملية تصنيع الدنا على الرغم من وجود التلف، وذلك ما يسمى بتصنيع الدنا المتجاهل للضرر Trans lesion DNA synthesis. بعنى أن عملية تضاعف الدنا تتم بالرغم من أن شريط الدنا القالب يحتوي على بعض الأخطاء. تعتبر خلايا بكتيريا القولون من الخلايا التي خضعت للعديد من الدراسات المكثفة، فأثناء تصنيع الدنا في وجود الضرر في بكتيريا القولون لوحظ ما يلي:

ا - يصنع إنزيم البلمرة DNA poly III الشريط النامي إلى أن يصل إلى مكان الضرر ثم يتوقف عن العمل.

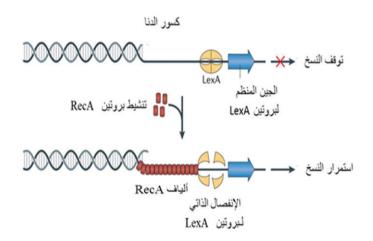
٢-يكمل إنزيم البلمرة V DNA poly V ما بدأه DNA poly III لإكمال تصنيع الشريط النامي خلال المنطقة المتضررة حتى يتخطاها بمسافة قصيرة ثم يتوقف.

٣-يعاود إنزيم DNA poly III عمله بعدما قام DNA poly V بتجاوز منطقة الضرر، وبهذا تكتمل عملية تضاعف أو تصنيع الشريط النامي.

ينتج عن تصنيع الدنا مع وجود الضرر تراكم الضرر إلى الحد الذي تتوقف عنده شوكة التضاعف، ونتيجة لذلك تَنشَط آلية جديدة تسمى نظام SOS وهو أحد أنظمة الاستجابة الخلوية لتلف الدنا، ويشير هذا النظام إلى مجموعة من الجينات المنظمة التي تَنشط استجابة لإشارات محددة كتلف الدنا وتوقف شوكة التضاعف. يوجه عمل نظام SOS بروتين RecA، الذي ينشط في وجود كسور شريط الدنا. عند الظروف الطبيعية تبقى جينات SOS مثبطة بواسطة بروتين كابت يسمى LexA، الذي يعمل على إيقاف دورة الخلية وإصلاح الدنا. يرتبط April الذي يعمل على ايقاف دورة الخلية وإصلاح الدنا. يرتبط SOS عوالي ٢٠ زوجاً قاعدياً داخل صندوق SOS في منطقة المشغل يرتبط Operator region لجينات SOS عملية النسخ حتى تتم عملية الإصلاح بأحد أنظمة الإصلاح الممكنة. أما عند وجود كسور الدنا وتفعيل آلية تصنيع الدنا في وجود الضرر، فيشكل بروتين RecA أليافاً حول منطقة كسور شريط الدنا المفرد SDNA ويصبح نشطاً ويتداخل مع البروتين الكابت LexA ليسهل انفصاله من المشغل فتستمر عملية النسخ رغم وجود الضرر. يتم تنشيط حينات SOS بعد تلف الدنا بسبب تراكم الأضرار عند شوكة التضاعف مما ينتج عنه توقف إنزيم البلمرة.

هذا النظام واسع الانتشار في البكتيريا وهو يعزز بقاء الكائنات على قيد الحياة من خلال إصلاح تلف الدنا، ويتكون في بكتيريا القولون من حوالي ٤٠ جيناً تقع كلها تحت سيطرة الجين الكابت LexA (الشكل رقم ١٧). ترتبط الألياف البروتينية لد RecA النشط بمناطق التلف أو كسور الدنا، التي لم يتم إصلاحها. يعمل تداخل

الألياف البروتينية لـ RecA النشطة مع البروتين الكابت LexA على تحفيز الانفصال الذاتي للبروتين الكابت مما يجعله ينفصل من الدنا، ولذلك يخف كبت SOS وتستمر عملية النسخ.



الشكل رقم (١٧). يوضح آلية عمل نظام SOS في بكتيريا القولون.

من الجوانب السلبية لهذا النوع من الإصلاح أنه يزيد معدل الطفرات مقابل تجاوز الضرر، ففي بكتيريا القولون، تحدث عملية تصنيع الدنا عبر الضرر تحت ظروف بيئية قاسية مثل الجرعات العالية من المطفرات كالأشعة البنفسجية. تسمى الاستجابة لهذه الظروف به SOS response. تحفز تلك الظروف أو العوامل البيئية نشاط عدد من الجينات مما يؤدي إلى نواتج تسمح بإصلاح أضرار الدنا واستعادة تضاعفه، ومنع الانقسام الخلوي. بالرغم من أن هذه العملية تؤدي إلى معدلات تطفر عالية، إلا أنها تسمح للخلايا بالبقاء تحت الظروف البيئية القاسية أو ما يسمى بمبدأ التطفر مقابل الموت، هذا المبدأ يزود الكائنات الحية بتباين وراثي إضافي يسمح للخلايا معينة بمقاومة الظروف البيئية القاسية.

## سادساً: نظام إصلاح كسور شريطي الدنا

#### Repair of DNA double - strand breaks

تحدث العديد من أنواع تلف الدنا داخل الخلايا الحية، ولكن كسور شريطي الدنا Doublestrand DNA breaks (dsDBs) تعتبر الأكثر خطورة على الخلايا، ومن ضمن مسببات هذا النوع من التلف:

١- الأشعة المؤينة كأشعة إكس وأشعة جاما.

٢- المطفرات الكيميائية وبعض العقاقير المستخدمة في العلاج الكيميائي للسرطان.

٣- الشوارد الحرة Free radicals التي يتم إنتاجها كنواتج ثانوية Byproducts للأيض الخلوي.

يقدر الباحثون أن كسور شريطي الدنا تحدث، وبطريقة طبيعية أيضاً، في الخلايا البشرية بمعدل يتراوح ما بين ١٠٠٠٠ كسر لكل خلية في اليوم الواحد. من النتائج المحتملة إذا لم يتم إصلاح هذه الكسور ظهور إعادة ترتيب الكرموسومات مثل الانقلابات Inversions والانتقالات Translocations والانتقاصات Deletions الطرفية والمضاعفة Duplications، ومثل هذه التغيرات الوارثية قد تؤدي إلى تأثيرات مظهرية ضارة جداً بالكائنات الحية.

تتضمن آليات الإصلاح السابقة عدداً من نظم إصلاح تلف الدنا، التي تحدث في الشريط النامي أو القالب (المتمم) دون أخطاء، ومثل هذه النظم تمتاز بمرحلتين أساسيتين هما:

أ) استئصال القاعدة أو القواعد التالفة مع عدد من النيوكليوتيدات المحيطة من إحدى شريطي الدنا المزدوج.

ب) استعمال الشريط الآخر كقالب لتصنيع الدنا اللازم لإصلاح التلف.

ولكن ما الذي سيحدث إذا احتوى كلا الشريطين على تلف يمنع بطريقة ما استخدام إحداهما كقالب؟ للإجابة عن هذا السؤال علينا أن نتذكر أن هناك

عدد من آليات الإصلاح المتخصصة التي تقدم تفسيراً جيداً لهذا السؤال ومنها الآليتان التاليتان:

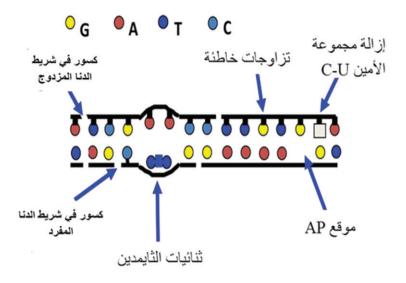
## ١ –الاصلاح بإعادة الاتحاد المتماثل: Homologous recombination repair (HRR)

تتم هذه الآلية عندما يستخدم شريط الدنا المتماثل، الذي يكون على شكل كروماتيدات شقيقة Sister chromatids غير متضررة، لإصلاح كسور شريطي الدنا في الكروماتيدة الشقيقة الأخرى المتضررة. تمتاز هذه الآلية بأنها ليست عرضة للأخطاء، لأن الكروماتيدتين الشقيقتين متماثلتين وراثياً، إلا أن الجانب السلبي لهذه الآلية هو أن الكروماتيدات الشقيقة تكون متوفرة خلال فترتين فقط هما: فترة بناء الدنا BNA synthesis وفترة النمو الثانية G2 من دورة الخلية في الكائنات حقيقية النوى أو بعد تضاعف الدنا الكروموسومي في البكتيريا، ويتم إنجاز هذه الآلية في الخلايا المنقسمة، التي تتوفر فيها الكروماتيدات الشقيقة غير المتضررة لتعمل كقوالب لعملية الإصلاح.

## ٧- الإصلاح بربط النهايتين المكسورتين غير المتماثلتين

#### Non-homologous end joining repair (NHEJR)

لا تتضمن هذه الآلية مساهمة كروماتيدة شقيقة غير متضررة لإصلاح كسور الدنا المزدوجة dsDBs، وهذه ميزة حيدة لهذه الآلية، ولذلك فقد تحدث هذه الآلية في أي فترة من دورة الخلية وخصوصاً في فترة النمو الأولى  $G_1$ . إلا أن من عيوب هذه الآلية أنحا قد تؤدي إلى انتقاصات في المنطقة المتضررة، التي يتم إصلاحها، بمعنى أن هذه الآلية عرضة للخطأ. يبين (الشكل رقم (١٨) ملخصاً لبعض أنواع تلف الدنا.



الشكل رقم (١٨). يوضح ملخص لبعض أنواع تلف الدنا.

# تغيرات الكروماتين وإصلاح تلف الدنا Chromatin remodeling and DNA damaging repair

تختلف كروموسومات الخلية حقيقية النواة من الناحيتين الكيميائية والتركيبية عن كروموسومات الخلية بدائية النواة. فبينما يكون دنا الكائنات حقيقية النواة مرتبطاً ببروتينات هستونية وغير هستونية، نجد أن دنا بدائية النواة مرتبط ببروتينات قاعدية صغيرة تشبه الهستونات وبنسب ضئيلة.

تعتمد كفاءة عملية إصلاح الدنا على الحالة الفيزيائية للجينوم. فكما هو معروف أن الدنا يكون مضغوطاً وبشكل كبير جداً ومكثف داخل الكروماتين. كما أن دنا الكائنات حقيقية النواة يلتف على عدة مستويات تركيبة متعددة مكوناً ما يسمى بالجسم النووي Nucleosome المكون من بروتينات هستونية. إن تعقيد تركيب وتغليف دنا حقيقيات النواة يجعل عمليتي نسخ الجينات وإصلاح الدنا أكثر تعقيداً.

## البروتينات الهستونية Histones

تثظِم البروتينات الهستونية بنية وتركيب الكروموسومات في حقيقيات النواة، وتوجد بكميات متساوية من ناحية الكتلة مع الدنا، وهي بروتينات قاعدية صغيرة الحجم موجبة الشحنة، لذا فهي ترتبط بالدنا سالب الشحنة، كما أنما غنية بالحمضين الأمينيين اللايسين والآرجنين (Lys،Arg). هناك خمسة أنواع من البروتينات الهستونية هي: H1 اللايسين والآرجنين بينما H2A و H2B و H2A غنية بالآرجنين بينما H2A و H2B غنية ناسبياً باللايسين أما H1 فغني جداً باللايسين.

يتكون كل جسم نووي من معقد هستوني ثماني التركيب ومكون من نسختين من كل من H2 ، H3 ، H2B ، H2A بالإضافة إلى H1، الذي يربط بين الأجسام النووية. كمية ونسبة هذه البروتينات ثابتة في خلايا الكائنات حقيقية النواة، مما يشير الى أنها تلعب دوراً أساسياً في تنظيم الدنا في كروموسومات الكائنات الحية حقيقية النواة. أما الهستون H1 فهو أكثر الأنواع تبايناً، وهناك عدد مختلف منه في كل خلية، كما أنه قد لا يوجد على الإطلاق في بعض الأنسجة ويستبدل بالهستون H5 كما هو الحال في الخلايا الدموية الحمراء للطيور.

تعد البروتينات الهستونية المسؤولة عن ضغط وتعليب الدنا DNA packing حتى يمكن أن تحتويه النواة، حيث يلتف حلزون الدنا المزدوج حول الجسم النووي (البروتينات الهستونية) حوالي ١,٧٥ دورة بما يعادل ١٤٦ قاعدة نيتروجينية مزدوجة وتفصل النيوكليوسومات عن بعضها بقطعة صغيرة من الدنا تعادل ٥٠٠٠ قاعدة تسمى الدنا الرابط Linker DNA، وهذا ما يعطي الكروماتين المظهر المحبب Beaded appearance.

التفاف الدنا حول الجسم النووي يجعل من الصعب إتمام عملية إصلاح الدنا، والسبب أن إنزيمات إصلاح الدنا لن تتمكن من الوصول لمناطق الدنا التالفة لأنحا منغمسة (مدفونة) داخل الكروماتين الملتف، وكذلك عملية النسخ لأن تتابعات الدنا التي ترتبط بما إنزيمات البلمرة RNA polymerases والعناصر المشاركة الأخرى المتواجدة

في منطقة بدء النسخ تكون مدفونة داخل الكروماتين الملتف بشدة، ولا يمكن الوصول اليها من قبل تلك العناصر. ولذلك يحدث عدة تغيرات للكروماتين تؤدي في مجملها إلى إزالة الالتفاف أو التغلظ في المناطق المراد إصلاحها أو استنساخها. فإذا ما تمت إزالة الالتفاف من خلال حدوث بعض العمليات الحيوية المهمة كعملية الميثلة Methylation أمكن وصول عوامل إصلاح الدنا، وإنزيم البلمرة وكذلك عناصر النسخ الأحرى لتكون معقد بدء النسخ في منطقة المحفز Promoter ومن ثم بدء تلك العمليات.

إن الطبيعة الحركية للكروماتين، للإنتقال ما بين الحالة المتغلظة أو الملتفة إلى الحالة غير المتغلظة أو المرتخية والعكس تسمى إعادة تشكل الكروماتين Chromatin وهذه العملية مهمة جداً في إتمام إصلاح الدنا وتنظيم التعبير الجيني.

يخضع الكروماتين لعمليات حيوية مهمة تؤدي في مجملها إلى إعادة تشكل الكروماتين، وهي تتعلق بالتحكم في عملية الإصلاح والتعبير الجينيي بما في ذلك التغيرات التي تطرأ على الهستونات، وتلعب دوراً حيوياً للكشف عن تلف الدنا وإصلاحه، ومن أمثلة العمليات الى تساهم في إعادة تشكل الكروماتين وإصلاح تلف الدنا ما يلى:

1-الفسفرة: إن فسفرة البروتين الهستوني H2A التي تحدث مباشرة بعد حدوث كسر في السلسلة المزدوجة للدنا DSB، تسمح بارتخاء الكروماتين مما يسهل وصول إنزيمات الإصلاح لمنطقة الكسر، ولذا أصبحت الفسفرة من الدلائل القياسية لحدوث التلف.

7-الميثلة: هناك تغيرات هستونية أخرى تستجيب وبقوة لإشارات تلف الدنا مثل ميثلة الهستونات. فميثلة الدنا تعني إضافة مجاميع الميثيل CH3 إلى جزيئات السيتوسين في الدنا بواسطة (Histone methyltransferases (HMTs). هذه الظاهرة موجودة في بعض حقيقيات النواة، وتؤدي إلى تثبيط عملية النسخ خصوصاً إذا حدثت بالقرب من تتابعات المحفز Promoter وعادة ما تضاف مجموعة CH3 للسيتوسين بعد تضاعف

الدنا لتزيد من ارتباط الكروماتين من الجسم النووي، وبالتالي غلق أماكن الضرر ومنع إنزيمات الإصلاح من الولوج لتتابعات الدنا التالفة. كما أن زيادة الميثلة تثبط عملية النسخ.

٣-الأستلة: من التغيرات الهستونية الأخرى، التي تستجيب لإشارات تلف الدنا عملية الأستلة، وتعني نقل أو إضافة مجموعة الأسيتيل (COCH<sub>3</sub>) بمساعدة الإنزيم الناقل لمحموعة الأستيل (Acetyl transferases (HATs) الى الهستون. تؤدي أستلة الهستونات، وخصوصاً أستلة الحمض الأميني اللايسين Lys في مركز الهستون إلى إزالة الشحنات الموجبة من هذا الحمض مما يؤدي إلى تقليل ارتباط الدنا بمركز الهستون، وبالتالي حدوث ارتخاء الدنا وتسهيل وصول بروتينات إصلاح كسور السلسلة الثنائية DSB إلى أماكن تلف الدنا.

# لالفصل لالخامس

## إشارات الموت الخلوي المبرمج Apoptotic signals

# محفزات الموت الخلوي المبرمج Inducers of apoptosis

يمكن أن ثُحَقّر إشارات الموت الخلوي المبرمج بواسطة العديد من العوامل البيئية، وعلى النقيض من ذلك هناك عوامل فعّالة مثبطة أو مضادة لموت الخلايا المبرمج. من عوامل تحفيز وتفعيل موت الخلايا المبرمج عامل النخر الورمي TNFa ، الذي يحفز موت الخلايا المصابة كنوع من الاستجابة الخلوية للعوامل السامة. كما يوجد عوامل أخرى تحفز الموت الخلوي المبرمج مثل العامل FasL وعامل تحويل النمو TGFb وعامل مثل  $P^{53}$  وجميعها قد تؤدي إلى موت الخلايا المبرمج بالإضافة إلى الجينات الكابتة للأورام مثل  $P^{53}$  وجميعها قد تؤدي إلى موت الخلايا المبرمج تحت ظروف خلوية قاسية، كما قد تؤدي عملاً مزدوجاً ومتزامناً في حالات أخرى كتحفيز نمو الخلايا وكبت الموت الخلوي المبرمج، إلا أن معظم عوامل النمو تعمل في الغالب ضد إشارات الموت الخلوي المبرمج في الخلايا المستهدفة.

تعمل مجموعة أخرى من المنظمات تدعى السيتوكينات Cytokines على تنظيم عملية البقاء على قيد الحياة من خلال مستقبلاتها التي تُنشط سلسلة من الإشارات الخلوية. لقد اتضح من خلال الدراسات الحديثة أن فقدان بعض أنواع الخلايا لعامل النمو يمكن أن يعوض من خلال زيادة التعبير الجيني للعامل المضاد للانتحار (Bcl-2) B-cell lymphoma-2 (Bcl-2) في

الخلايا المحرومة من عامل النمو. فالوظيفة الرئيسية لعوامل النمو هي تثبيط عملية موت الخلايا المبرمج، ويعتبر بروتين (CD40) Cluster of differentiation-40 (CD40) الموجود في الخلايا المبرمج، ويعتبر العوامل فعالية على تثبيط برجحة موت الخلايا، يسانده في ذلك بعض الجينات الأخرى كالجينات المضادة للانتحار من عائلة Bcl-2.

## مثبطات الموت الخلوي المبرمج: Inhibitors of apoptosis

تعتبر مثبطات الموت الخلوي المبرمج (IAPs) تنظم نشاط إنزيمات الكاسبيس. فالتحكم في التعبير بروتينات داخلية Endogenous تنظم نشاط إنزيمات الكاسبيس. فالتحكم في التعبير الجيني لإنزيمات الكاسبيس يؤثر على موت الخلايا ونمو الأورام السرطانية، حيث تعمل الجينات المنظمة لمثبطات الموت الخلوي المبرمج على تحديد مصير الخلايا، إما أن تبقى على قيد الحياة أو تموت استجابة للأحداث اليومية التي تواجهها الخلايا. تتميز مثبطات الموت الخلوي المبرمج بوجود مجالات أو حقول ترتبط من خلالها دنا الجينات المستهدفة، وهنا سوف نناقش قدرة مثبطات الموت الخلوي على تثبيط موت الخلية وبالتالي بقاؤها على قيد الحياة.

تؤثر مثبطات الموت الخلوي المبرمج على اختزال مسارات الإشارات الخلوية وعمليات التمايز الخلوي والمناعة وتكاثر الخلايا وبعض الوظائف الخلوية الأخرى. إن الدور الحيوي المذي تمارسه هذه المثبطات يعتبر دوراً محورياً في تنظيم الموت الخلوي المبرمج، كما أن إحداث الطفرات أو حذف الجينات المسؤولة عن تلك المثبطات قد كشف الدور المهم الذي تقوم به تلك الجينات في العديد من الأمراض والوظائف الخلوية. لقد ذُكر سابقاً أن عملية الموت الخلوي المبرمج عملية مهمة جداً في الحفاظ على حالة التوازن العددي للخلايا في حسم الكائن الحي. من المفهوم الآن أن اختلال عمل أو نشاط تلك المثبطات يؤدي إلى ظهور الأمراض المناعية ومرض السرطان، ولهذا فقد أصبح استهداف تلك المثبطات إحدى الطرق العلاجية لمرض السرطان التي أعطت العديد من النتائج الإيجابية

التي غيرت كثير من المفاهيم حول وظيفة تلك المثبطات ودورها في الحالة الطبيعية والمرضية .Pathological

# الجينات المنظمة للموت الخلوي المبرمج Regulatory genes of apoptosis

أثبتت الدراسات أن هناك عدداً كبيراً من الجينات التي تتحكم في أحداث الموت الخلوي، وتلعب دوراً مهماً في تنسيق تلك الأحداث بما يضمن موت الخلية أو الخلايا في مكانها دون انتشار محتواها للخلايا الجاورة. وقد صنفت الجينات المنظمة للموت الخلوي المبرمج حسب عملها إلى مجموعات مختلفة. فهناك جينات وبروتينات متنوعة تنشط عملية الانتحار الخلوي. هذه العملية تخضع لتنظيم دقيق من قبل مسارات الموت الخلوي المتخصصة حتى تصل إلى مرحلة معينة من مراحل الموت الخلوي المبرمج لا يمكن عندها التراجع وعند ذلك تنشط إنزيمات أخرى هي إنزيمات الكاسبيس Caspases التي تشارك في أحداث الموت الخلوي.

بدأ المختصون ومنذ زمن بعيد بدراسة علم الأمراض Pathology، وما زالوا حتى يومنا هذا يقومون بمحاولات عدة لفهم آلية الموت الخلوي وفك الشفرة Decipher لمعرفة كيف ومتى تنتحر الخلايا. وقد نجح العلماء فعلاً في كشف بعض المبادئ الأساسية حول هذا النوع من الموت الخلوي. فقد أكدت الدراسات المتعاقبة سواءً داخل جسم الكائن الحي In vivo أو خارجه In vitro أن هذا الشكل من الموت الخلوي يحدث نتيجة لعمليات انتحارية خلوية ذات أصل وراثي. حيث ثبت أن ثمّة جينات خاصة تُستَحث عند استعداد الخلية للموت، وقد سميت هذه الجينات بالجينات المميتة Lethal genes أو جينات موت الخلية وحد هناك أيضاً بروتينات أخرى مثل بروتينات عائلة الد الكاسبيس. وعلى النقيض من ذلك، يوجد هناك أيضاً بروتينات أنحرى مثل بروتينات عائلة الد الكاسبيس وعلى النقيض من ذلك، يوجد هناك أيضاً بروتينات أخرى مثل بروتينات عائلة الد الكاسبيس التي تعمل في مرحلة ما ضد

إنزيمات الكاسبيس، فعندما يكون هناك فرصة لإصلاح الضرر الخلوي وبقاء الخلية على قيد الحياة فإن بروتينات الـ Bcl-2 تعمل على كبح إشارات الموت الخلوي المبرمج، بينما إذا كان الضرر كبيراً وغير قابل للإصلاح فإن دور الـ Bcl-2 ينعكس ويسير في نفس اتجاه عمل الكاسبيس. يشارك في آلية الموت الخلوي المبرمج بروتينات عديدة تعمل على تخفيف أو منع تأثير إنزيمات الكاسبيس مثل بروتين Bax وغيره من البروتينات المتخصصة الأحرى التي تخضع للتنظيم الخلوي، وتساهم في سلسلة أحداث موت الخلايا المبرمج فتعمل مع تيار تنشيط الموت الخلوي أو تثبيطه تبعاً للظروف التي تمر بها الخلية.

أثبتت الدراسات أن الجينات المسرطنة مصمل عكس جينات الموت الخلوي، فالجينات المسرطنة مثل الجين Oncogene cellular homology يؤثر على آلية موت الخلايا المبرمج بطريقة قد تكون مهمة في تكوين الأورام السرطانية. لهذا الجين السرطاني دور حيوي في عملية التحكم بنمو الخلايا وتمايزها كما يلعب دوراً محورياً في أحداث الموت الخلوي المبرمج. إن توجه الخلية للدخول في أحداث الموت الخلوي وما يتبعه من استجابات للوت الخلوي المبرمج. إن توجه الخلية للدخول في أحداث الموت الخلوي وما يتبعه من استجابات خلوية تتضمن مشاركة الجين حسرت يعتمد على نوع الخلية والحالة الفسيولوجية لها. من الجينات التي تتحكم في حياة وموت الخلية أيضاً البروتين الكابت للورم (P<sup>53</sup>) Tumor suppressor protein (P<sup>53</sup>)

### مسارات مستقبلات الموت: The death receptors pathways

ترتبط مجموعة كبيرة من مستقبلات الموت بالغشاء الخلوي وتتميز حقولها الداخلية والخارجية بتركيب متشابه. يُعرف عدد من تلك المستقبلات بمستقبلات الموت الخلوي المحفِزة لمسارات الموت، فعندما ترتبط بروابط Ligands حاصة مع جزيئات أخرى ذات علاقة بتنشيط المسارات الخارجية للموت الخلوي، يتم تجنيد أو تطويع العديد من البروتينات المؤصِلة (المحولة) Adaptors التي تعمل بدورها على التمهيد لعمل مجموعة الكاسبيس البادئة Initiators caspases. لقد لوحظ أن الخلل الذي يحدث في مستقبلات

الموت الخلوي مرتبط بالعديد من الحالات المرضية، ولهذا فقد نالت هذه المستقبلات اهتمام الباحثين لاسيما وأنها ترتبط بشكل غير مباشر بعمليات حيوية أخرى مثل تكاثر الخلايا وتمايزها وإنتاج بروتينات الكيموكينز Chemokines وتنشيط الخلايا السرطانية.

إن مستقبلات الموت الخلوي عبارة عن مركبات سيتوكينز Tumor necrosis/nerve growth factors (TNF/) عبائلة (TNF/) النفشية الخلوية وهي تتبع لعائلة (TNF/) التي تستطيع تحفيز الموت الخلوي بعد ارتباطها بروابط أو أجسام مضادة محددة. تستطيع هذه المجموعة من البروتينات الانتقال عبر الأغشية الخلوية، كما أن لهذه البروتينات خصائص أخرى فهي غنية بتتابع أو تكرار الحمض الأميني السستين البروتينات خصائص أخرى فهي غنية بتتابع أو تكرار الحمض الأمينية في السيتوبلازم يطلق عليها حقول الموت (DD) Death domains والتي تلعب دوراً محورياً في تمكين مستقبلات الموت من بدء الإشارات المحفزة للموت الخلوي.

تنشط مستقبلات الموت من خلال تفاعلها مع روابط الموت Death ligands والتي تتمثل في مجموعة من السيتوكين المتممة والمتنقلة عبر الغشاء الخلوي Transmembrane. يوجد ستة أنواع من مستقبلات الموت تم التعرف عليها كما في (الجدول رقم ٢).

الجدول رقم (٢). يوضح بعض أنواع مستقبلات الموت الخلوي.

الاسم المرادف	اسم المستقبل	ت
APO-3 أو TRAMP أو WSL-L أو APO-3	DR-3	١
TRAIL-R1	DR-4	۲
APO-2 أو Killer أو TRAIL-R2	DR-5	٣
-	DR-6	٤
Fas أو APO-1	CD95	٥
P <sup>55</sup> أو TNF-R1	CD120a	٦

تُختزل إشارات الموت الخلوي بواسطة مستقبلات الموت من خلال تحويل تلك المستقبلات إلى جزيئات بروتينية مُحفزة تؤدي إلى تطويع البروتينات المؤصِلة لتسهل ارتباط المستقبل بعوامل الموت الخلوي المؤثرة Cell death effectors. وهي مجموعة الكاسبيس البادئة مثل كاسبيس ٨- و كاسبيس ١٠٠٠ كما أن لمؤصِلات البروتينية ترتبط بحقول الكاسبيس لتكون معقداً جديداً يطلق عليه معقد تحفيز إشارات الموت التي تنشأ عند تنشيط وomplex (DISC) والذي بدوره يُحفز سلسلة من إشارات الموت التي تنشأ عند تنشيط إنزيمات الكاسبيس.

# إشارات الموت الخلوي بواسطة عامل نخر (تنكرز) الورم السرطاني Apoptotic signalling by tumor necrosis factor (TNF)

يُعد عامل النخر الورمي-الفا (TNF $\alpha$ ) للإشارات الخلوية ومنها إشارات الالتهابات بروتينات السيتوكين، التي تؤدي دوراً مهماً في الإشارات الخلوية ومنها إشارات الالتهابات الخلوية، لذا فهو يساهم في تنظيم المناعة الخلوية ويحفز الموت الخلوي، وبالتالي يثبط نشوء السرطان. لقد ارتبط العديد من الأمراض التي تصيب الإنسان كمرض الزهايمر وأمراض السرطان ومرض الصدفية Psoriasis وغيرها بالعيوب التنظيمية TNF $\alpha$ ). إن معظم الخلايا التي أظهرت نشاطاً واضحاً للعامل  $\alpha$  TNF $\alpha$  لم تخضع لموت الخلايا المبرمج إلا إذا تم إيقاف تكوين الحمض النووي الرنا RNA، ثما يوحي بسيطرة إشارة الحفاظ على البقاء على إشارات الموت في الظروف الطبيعية.

# Fas إشارات الموت الخلوي بواسطة بروتين Apoptotic signaling by Fas

يشفر هذا الجين لبروتين اله Fas الذي يوجد على سطح الخلية في العديد من الأنسجة المختلفة وله حقول موت خاصة ويؤدي دوراً مهماً في تنظيم الموت الخلوي المبرمج، فعندما يرتبط هذا البروتين بالمستقبل الخاص به يتكون معقد بروتيني DISC، يشمل بروتين  $\Lambda$  وكاسبيس  $\Lambda$  وكاسبيس ويون ويون المؤلف ويون

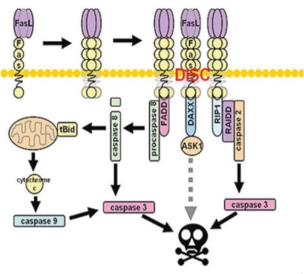
الخلوي. أثبتت الدراسات أن لبروتين Fas دوراً بارزاً في تكون الأمراض السرطانية وأمراض الجهاز المناعي، من خلال تأثيره على مستوى النسخ وتنظيم التعبير الجيني.

يوجد بروتين FADD في السائل الخلوي ويرتبط مع مستقبلات Fas ليؤثر على إنزيمات الكاسبيس الأولية بدء إنزيمات الكاسبيس الأولية بدء عمليات موت الخلايا المبرمج بشكل مستقل عن بعضها البعض حتى يتم تحول جزء منها من الشكل الأولي للشكل الفعّال مثل كاسبيس-٣. وبما أن للميتوكوندريا دوراً أساسياً في تحولات كاسبيس-٣ وفي أحداث الموت الخلوي المبرمج وتنشيط إنزيمات الكاسبيس الأخرى فقد عرض هذا الموضوع بشكل مستقل في الفصل السادس.

# دور مستقبلات Fas و TNF في سلسلة إشارات الموت الخلوي The role of TNF and Fas in apoptotic signalling

تنتمي مستقبلات Fas إلى عائلة مستقبلات عامل النخر الورمي TNF ومستقبلات عامل النمو العصبي (Nerve growth factor (NGF) ، التي تستخدم مسارات إشارات خلوية ذات صلة بتنظيم تكاثر الخلايا وتمايزها أو موتها. كما أثبتت الدراسات الحديثة أن لعامل النمو العصبي أهمية كبيرة في تنظيم عمل الخلايا العصبية وسلامتها. يدل مسمى عامل النمو العصبي على دوره في النمو والتكاثر والحفاظ على توازن الخلية وحياتها، وعند غياب هذا العامل تخضع الخلايا لأحداث الموت الخلوي المبرمج.

عندما يرتبط بروتين Fas بمستقبله (Fas المستهدفة. تحفز مسارات Fas موت إشارات بداية عملية موت الخلايا المبرمج في الخلايا المستهدفة. تحفز مسارات Fas موت الخلايا الليمفاوية الغير طبيعية والخلايا السرطانية. الجدير بالذكر أن شبكة من الإشارات الخلوية تنشأ بين العديد من الجزيئات المشاركة في الموت الخلوي تشمل Fas وإنزيمات الكاسبيس وسيتوكروم—سي Cytochrome-C المفرز من الميتوكوندريا بالإضافة للمعقد DISC وغيرها (الشكل رقم ١٩).



الشكل رقم (١٩). يوضح دور مستقبلات Fas في سلسلة إشارات الموت الخلوي.

### إشارات الموت الخلوي المبرمج بواسطة مستقبلات TRAIL

#### Apoptotic signalling by TRAIL receptors

تم التعرف على بروتينات جديدة تنتمي لعائلة عامل النخر الورمي TNF، ولهذه البروتينات علاقة وثيقة بموت الخلايا المبرمج. وعلى عكس بقية البروتينات التابعة لعائلة TNF-related apoptosis فإن عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج تقدرة على تحفيز موت الخلايا (TRAIL) متاز بصفة فريدة وهي القدرة على تحفيز موت الخلايا المبرمج للخلايا السرطانية وبشكل انتقائي. هذه القدرة زودت العلماء بالأسس المهمة لنشوء وتطور العوامل المنبهة لمستقبلات TRAIL والتي أظهرت نشاطاً مضاداً للسرطان. يوجد عدة أشكال مشابحة لعامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج للخاص به ومنها:

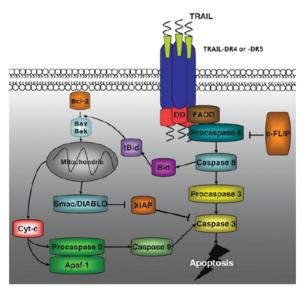
أ) عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج TRAIL-R1 الذي ينتشر في كل الأنسجة الطبيعية وكذلك في الخلايا السرطانية، إلا أن نسبته تزيد وبشكل خاص في الطحال وخلايا الدم البيضاء الطرفية وكريات الدم البيضاء النشطة.

ب) عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج TRAIL-R2 ويوجد في معظم أنسجة الجسم، مثل خلايا الدم البيضاء والطحال والكبد والخلايا التائية T-cells النشطة وخلايا الأمعاء الدقيقة وبعض خطوط الخلايا السرطانية.

ج) عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج TRAIL-R3 ويوجد في العديد من خلايا الإنسان الطبيعية وبعض الخلايا السرطانية. إن زيادة التعبير الجيني المفرطة Overexpression لهذا الجين لا تحفز الموت الخلوي المبرمج بل تؤدي إلى تخفيف دور TRAIL المحفز للموت الخلوي المبرمج.

د) عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج TRAIL-R4 ويوحد في خلايا الكبد والكلى والرئة وخلايا الدم البيضاء وخلايا الأمعاء الدقيقة والغليظة والمناسل والطحال وغيرها من الخلايا.

 $\Lambda$  وكاسبيس FabD و TRAIL-R2 و TRAIL-R1 و FabD تنشط DISCs وكاسبيس - ، و وكاسبيس - ، و وتطوعها للعمل مع معقد الإشارات المحفزة للموت الخلوي DISCs لبدء الموت المبرمج للخلايا (الشكل رقم ، ۲).



الشكل رقم (٢٠). يوضح إشارات الموت الخلوي المبرمج بواسطة مستقبلات TRAIL.

# myc gene control apoptosis دور الجين myc في السيطرة على موت الخلايا المبرمج myc

يعتبر جين (myc) أحد الجينات المنظمة للعديد من الوظائف الخلوية، كما يُشفر لبعض عوامل النسخ والفسفرة وإشارات الانقسام الخلوي والرنا الريبوسومي rRNA والبروتينات، وبالتالي فله دور في تنظيم دورة الخلية والموت الخلوي المبرمج، وغير ذلك من الوظائف الخلوية الأخرى. تطفر هذا الجين يحوله إلى جين سرطاني c-myc يؤثر على تعبير الجينات الأخرى ويُسترع تضاعف الدنا DNA over replication، فيحث الخلايا على التكاثر بشكل عشوائي، مما ينشيط ظهور خلايا سرطانية. بالمقابل يثبط جين myc جينات عائلة 2-Bcl-2 التي تعمل بشكل عام على مقاومة الموت الخلوي.

## دور بروتينات Bcl-2 في تنظيم الموت الخلوي المبرمج

#### Bcl-2 proteins regulate apoptosis

لنفاذية أغشية الميتوكوندريا (MMP) المبرمج، ففي مسارات الموت الخلوي المبرمج أساسي في سلسلة أحداث الموت الخلوي المبرمج، ففي مسارات الموت الخلوي المبرمج المرتبطة بالميتوكوندريا تساهم نفاذية الغشاء الخارجي للميتوكوندريا في إطلاق عوامل الموت الخلوي الأولية، مثل إنزيم سيتوكروم—سي وبروتين سماك Second mitochondria - derived المخلوي الأولية، مثل إنزيم سيتوكروم—سي وبروتين سماك activator of caspase (Smac) هذه العوامل مع بروتينات سيتوبلازمية أخرى مثل العامل المنشط للموت الخلوي هذه العوامل مع بروتينات سيتوبلازمية أخرى مثل العامل المنشط للموت الخلوي المبرمج Apoptotic protease activation factor (APAF) وبالتالي تنشيط مجموعة الكاسبيس البادئة، مثل كاسبيس—٩ المبرمج وعموعة الكاسبيس المنفذة، مثل كاسبيس—٣. ثما تجدر الإشارة إليه أنه حتى وإن شبطت الآلية المرتبطة بنفاذية غشاء الميتوكوندريا فإن إنزيمات الكاسبيس لوحدها ستؤدى إلى موت الخلية عند تنشيطها في الحالات التالية:

١-وجود الجذور الحرة لأنواع الأكسجين النشط.

٢ - فقدان الميتوكوندريا لوظيفتها.

٣-إطلاق الميتوكوندريا لعوامل أخرى محفزة للموت الخلوي المبرمج.

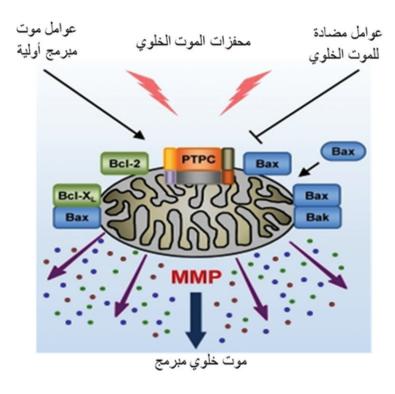
في كل الحالات السابقة ستؤدي نفاذية غشاء الميتوكوندريا إلى موت الخلايا المبرمج سواء كان موت الخلية معتمداً على إنزيمات الكاسبيس أم غير معتمداً عليها. يسبق حدوث النفاذية تنسيق بين بعض بروتينات عائلة 2-Bcl يليه تحفيز للموت الخلوي. تستهدف بروتينات 2-Bcl غشاء الميتوكوندريا الخارجي، حيث تدخل وتتجمع وتشكل طبقة تمتد إلى ثغور الغشاء وتغطيها مما يحفز إطلاق عوامل الموت الخلوي الأولية من الفراغ البين غشائي للميتوكوندريا. ولذلك تعمل بروتينات 2-Bcl كمنصة Platform لإطلاق عوامل موجهة ضد الميتوكندريا لاختراق غشائها الخارجي.

تضم بروتينات عائلة Bcl-2 مجموعتين من البروتينات:

الأولى: بروتينات موت أولية Pro-apoptotic proteins مثل Bcl-2 associated X مثل Pro-apoptotic proteins وBcl-2 interacting-domain (Bid) و (protein (Bax

الثانية: بروتينات مضادة للموت الخلوي Anti-apoptotic proteins مثل cell leukemia (Mcl-1)

تعمل بروتينات النوع الأول كحساسات لإشارات الموت الخلوي وكعوامل منفذة لآلية الموت، وتعمل بروتينات النوع الثاني على تثبيط بدء أحداث الموت الخلوي. إن تنظيم مستويات التعبير الجيني لمجموعة بروتينات الموت الخلوي المبرمج الأولية ليس واضحاً تماماً ولكن يبدو أن التعبير الجيني لهذه البروتينات ثابت نوعاً ما ويتم التحكم به ما بعد عملية النسخ بواسطة بروتينات أحرى من نفس عائلة والشكل رقم ٢١).



(الشكل رقم (٢١). يوضح دور بروتينات Bcl-2 في تنظيم الموت الخلوي المبرمج.

تشترك معظم بروتينات عائلة 2-Bcl في حقول معينة، علماً أن ليس كل البروتينات تحتوي على تلك الحقول مجتمعة. فقد أثبتت الدراسات التطفرية Mutagenesis أن لهذه الحقول أهمية بالغة في العمليات الجزيئية لمراحل الموت الخلوي المبرمج، وكذلك علاقة وتفاعل بروتينات 2-Bcl فيما بينها، ففي حين يعتبر بعضها ضرورياً لكبت الموت الخلوي المبرمج كبروتينات 2-Bcl المضادة للموت الخلوي، يقوم البعض الآخر بتعزيز الموت الخلوي كبروتينات 2-Bcl الأخرى المعروفة ببروتينات الموت الأولية. يتضح مما سبق، أن هذه البروتينات تتحسس إشارات الموت الخلوي ولها القدرة على تنشيط العديد من الحقول في البروتينات المنفذة مثل بروتين Bak وبروتين Bak. هذه الأحداث تشبه نوعاً ما، ما يحدث في مجموعة إنزيمات الكاسبيس من ناحية أن الكاسبيس المنفذة.

يوجد العديد من البروتينات التي تنتمي لعائلة Bcl-2 بنوعيها المضادة والمحفزة للموت الخلوي المبرمج. يشير (الجدول رقم ٣) إلى أمثلة لتلك البروتينات.

الجدول رقم (٣). أمثلة لأنواع بروتينات 2-Bcl المضادة والمحفزة للموت الخلوي المبرمج. (Zheng ,2009).

الاختصار	اسم البروتين	بروتينات Bcl-2		
Bcl-2	B-cll lymphoma-2.			
Bcl-xL	B-cell lymphomaextra large.	المضادة للموت الخلوي المبرمج		
Bcl-w	Bcl-2 related gene.	Anti-apoptotic proteins		
MCl-1	Myeloid	apapata patata		
	cell leukemia-1.			
Bax	Bcl-2 associated X protein.			
Bak	Bcl-2 antagonist killer-1.			
Bad	Bcl-2 antagonist of cell death.			
Bid	Bcl-2 interacting-domain death	المحفزة للموت الخلوي المبرمج		
	agonist.	Pro-apoptotic proteins		
Bik	Bcl-2 interacting killer.			
Bim	Bcl-2 interacting mediator of cell			
	death.			
Puma	P <sup>53</sup> -upregulated modulator of			
	apoptosis.			

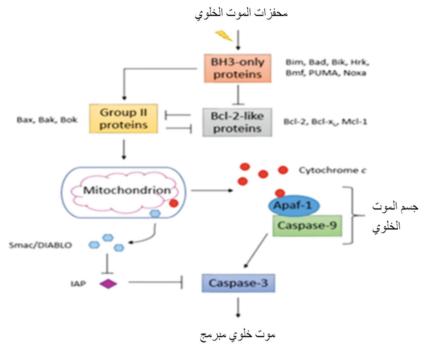
أجريت العديد من التجارب على معظم البروتينات السابقة من خلال تقنية التعطيل الوظيفي للجينات للجينات Genes Knockout technology في حيوانات التجارب بهدف معرفة الوظيفة، التي تقوم بها تلك البروتينات، والتي يعتقد أن لها أدواراً حيوية أخرى غير تلك الوظائف المتعلقة بالموت الخلوي. إن تنشيط تلك البروتينات يحدث كاستجابة للعديد من المحفزات المختلفة التي تتعرض لها الخلايا مثل الإجهاد الخلوي وتلف الدنا ونقص العناصر الأساسية لحياة الخلية .... الخ.

## آلية عمل بروتينات: 2-Bcl-2 Mechanism of action Bcl

يعتبر تفاعل بروتينات Bcl-2 وعلاقتها مع بعضها البعض خطوة أساسية لفهم آلية تنشيطها والدور الذي تقوم به. فقد أثبتت العديد من التجارب التي أجريت داخل وخارج جسم الكائن الحي وجود علاقات تفاعلية بين بعض بروتينات Bcl-2، على سبيل المثال؛ التفاعل بين بروتينات الموت الأولية والبروتينات المضادة للموت الخلوي المبرمج. يعتبر هذا النوع هو الأكثر شيوعاً ووضوحاً، مثل تفاعل Bax مع Bcl-2 أو Bid، هذا التفاعل يولد تأثيراً مضاداً لكل منهما على الآخر، بمعنى أن تأثير أحدهما يعاكس الآخر، مما يؤدي إلى التحكم في آلية الموت الخلوي. من الجدير بالاهتمام أنه ليس كل بروتينات الموت الأولية تتفاعل مع كل البروتينات المضادة للموت الخلوي المبرمج، وإنما بعض الأعضاء من كل مجموعة تتفاعل مع بعض أعضاء المجموعة الأحرى. مما يدل على أن هناك خصائص معينة لبعض بروتينات كل مجموعة، كأن تحتوي تلك البروتينات على أحماض أمينية محددة تميزها عن بروتينات المجموعة الأخرى بحيث تعتبر تلك الأحماض الأمينية بمثابة العامل الذي يحفز التفاعل بين بروتينات محددة، وهذا قد يعتبر المفتاح الذي يقود إلى تخصصية تلك التفاعلات بين أنواع معينة من بروتينات Bcl-2. بالإضافة إلى ذلك فمن المرجح وجود محفزات موت محددة في أنسجة محددة تحتوي على بروتينات Bcl-2 خاصة بموت خلايا تلك الأنسجة. كما قد تحدث تفاعلات بين نوعين من بروتينات الموت الأولية أو بين مكونات البروتين نفسه، حيث تتجمع أو تتبلمر الجزيئات الأحادية لتكوين بوليمرات متعددة ضمن عملية كيميائية تسمى التبلمر Polymerization، والتي لوحظت في كلا المجموعتين من بروتينات Bcl-2 المحفزة والكابتة للموت الخلوي المبرمج (الشكل رقم ٢٢).

كانت أولى الفرضيات التي تفسر دور بروتينات Bcl-2 في آلية الموت الخلوي المبرمج تدور حول فكرة توجه الخلية للموت الخلوي المبرمج، بالاعتماد على ترجيح كفة بروتينات الموت مقابل بروتينات الحياة (المضادة للموت). هذه الفرضية كانت الأكثر

قبولاً لأنها مدعمة بالأدلة التجريبية، وفي الأساس فإن العلاقة التفاعلية بين بروتينات الموت الخلوي هي التي توجه الخلية للموت الخلوي المبرمج.



الشكل رقم (٢٢). يوضح تحرر وتفاعل عوامل الموت الخلوي المبرمج.

# التنظيم بواسطة البروتينات المثبطة للموت الخلوي المبرمج Regulation by inhibitor of apoptosis proteins (IAPs)

يتطلب التنظيم بواسطة البروتينات المثبطة للموت الخلوي المبرمج IAPs أن تخضع مسارات الموت لسيطرة IAPs، التي تثبط عمليات الموت الخلوي الناشئة بفعل مسارات الموت الداخلية أو الخارجية، وتعمل على إيقاف عمل إنزيم كاسبيس-٣ تماماً، يلي ذلك انشطار هذا الإنزيم بفعل تأثير إشارات كاسبيس-٨ المرتبط مع معقد تحفيز إشارات الموت DISC. كما تثبط IAPs إنزيم سيتوكروم-سي المحفز لنشاط كاسبيس-٩ أشارات الموت في الميتوكوندريا. تثبط التراكيز العالية من IAPs إنزيمات

الكاسبيس بشكل عام. عندما تستقبل الخلية محفزات الموت الخلوي المبرمج فإن IAPs مثل ستؤثر على وظيفة الميتوكوندريا والتي بدورها تقاوم بإطلاق عوامل مضادة لله IAPs مثل بروتين الميتوكوندريا المحفز لموت الخلايا المبرمج من خلال تحييد واحد أو أكثر من عائلة بروتينات IAPs المثبطة للموت الخلوي.

يعتبر هذا النوع من التنظيم آلية آمنة لمنع انتقال سيتوكروم-سي أو تسربه خارج الميتوكوندريا، فعند وجود مستويات عالية من كاسبيس- ٩ يتم تنشيط كاسبيس- ٣ وكاسبيس- ٧، مما يزيد نفاذية غشاء الميتوكوندريا وبالتالي إفراز سيتوكروم-سي بكمية أكبر. كما ستصبح عوامل تحفيز الموت الخلوي مثل Smac و Omi قادرة على الارتباط به IAP ومعادلتها مما يتيح نشاطاً لا محدوداً لإنزيمات الكاسبيس. كما أن الجسم المحلل للبروتين (البروتيوسوم) Proteasome يتوسط عملية انحلال معقد IAP-Smac و/أو -IAP وبالتالي إبطال مفعول الـ IAP ، مما يقود حتماً إلى الموت الخلوي.

يؤدي تنشيط محفزات الموت الخلوي في بعض أنواع الخلايا إلى شطر كاسبيس-٨، وتنشيط بروتينات الموت الأولية التابعة لعائلة Bcl-2 مثل بروتين Bid الذي بدوره ينشطر ويحفز بروتين Bax أو بروتين Bak في الغشاء الخارجي للميتوكوندريا، وبالتالي تحفيز إطلاق إنزيم سيتوكروم-سي و Smac، ليتكون معقد حسم الموت الخلوي. يوجد هناك العديد من نقاط التقاطع المشتركة بين مسارات إشارات الموت الخلوي المبرمج والتي تشترك في مراحل معينة لضمان نشاط واستمرار مسار موت خلوي واحد على الأقل.

تستطيع مستقبلات الموت وما يرتبط بها من بروتينات أخرى مثل FasL-Fas و TRA-TRAIL تنشيط إنزيمات الكاسبيس بشكل مستقل عن الميتوكوندريا. وبما أن كلا من مسارات الموت الداخلية والخارجية تتأثر بكاسبيس ٣ وكاسبيس ٧، فإن وجود مستويات عالية من IAPs يمنع نشاط الكاسبيس، وبالتالي يتوقف مسار المستقبلات من خلال تثبيط كاسبيس ٣٠. لقد بينت العديد من الدراسات أن IAP تلعب دوراً في مرض السرطان وغيره من العيوب الوراثية كالطفرات الجينية والشذوذ الكروموسومي

كالنقص والانتقالات الكروموسومية التي ترتبط بمرض السرطان. مما سبق نجد أن هناك العديد من المؤثرات الخلوية التي تتحكم في ظاهرة الموت الخلوي المبرمج، وكل منها يؤثر ويتأثر ببروتينات الموت الخلوي الأولية والبروتينات المضادة للموت الخلوي، كما أن عملية التوازن بين موت الخلايا الذي تحفزه إنزيمات الكاسبيس وبين تثبيط عمليات المحالة يشكل قراراً أساسياً ومصيرياً للخلايا. كما أن IAPs لا تتحكم فقط في موت الخلية، بل تؤثر كذلك على اختزال الإشارات الخلوية وتحديد مساراتها وعمليات التمايز الخلوي، وتقدم مراحل دورة الخلية، وغير ذلك من العمليات الحيوية المهمة التي تشارك فيها بروتينات IAPs.

## دور الجين $P^{53}$ في تنظيم الموت الخلوي المبرمج

#### The role of $P^{53}$ gene in regulation of apoptosis

تم التعرف على البروتين الكابت للورم ( $P^{53}$ ) Tumor suppressor protein ( $P^{53}$ ) والذي يلعب أدواراً مهمة في العمليات الرئيسية لتنظيم دورة الخلية وغوها وتنظيم الموت المبرمج للخلية، كما صنف الجين  $P^{53}$  بأنه من الجينات الكابتة للأورام، والسبب في ذلك يرجع لأن بروتين  $P^{53}$  يمنع أو يقلل من التحول الخلوي بواسطة الفيروسات أو التحول الخلوي لجينات الأورام، علاوة على ذلك فإن طفرات جين  $P^{53}$  أو حذفه يسبب تشوهات جنينية وهي الأكثر شيوعاً في الأمراض السرطانية عند الإنسان، حيث إن نسبة كبيرة من الأورام البشرية تحتوي على جين  $P^{53}$  طافر. كما أن بعض أشكال الطفرات في جين  $P^{53}$  تحول الخلايا الطبيعية إلى خلايا ورمية خبيثة Malignant tumor.

يلعب الجين  $P^{53}$  دوراً مهماً في أحداث الموت الخلوي المبرمج، ولكن الآلية الدقيقة التي يتبعها للسيطرة على الخلية ما زالت غير مفهومة بشكل واضح. كما أن هناك عدد من الجينات القادرة على إحداث الموت الخلوي ولكن ليس من الواضح أيضاً ماذا يحدث لهذه الجينات عندما ينشط بروتين  $P^{53}$ . بينت نتائج دراسات عديدة أن النشاط

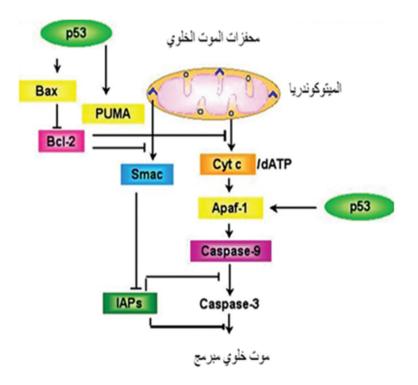
الانتحاري للجين  $P^{53}$  قد لا يحفز نسخ جينات جديدة، ولكنه يحفز تنشيط إنزيمات الكاسبيس دون أن تتضح العلاقة المباشرة بينهما. يوصف الجين  $P^{53}$  بأنه حارس الجينوم Guardian of the genome، فهو ينظم تكاثر وموت الخلايا، كما أنه يراقب العمليات التي تحدث أثناء انقسام الخلية ويحمي الدنا من التلف، فإذا حصل تلف أو خلل في الدنا أثناء الانقسام، فإن هذا الجين يوجه الكثير من الجينات المشاركة في الانقسام بإيقاف دورة الخلية عند النقطة  $G_1/S$  في مرحلة  $G_1/S$  أو عند  $G_2/M$  حتى يتم إصلاح التلف، وبعد عملية الإصلاح يسمح هذا الجين لدورة الخلية أن تستمر، ولكن في بعض الحالات قد يكون التلف كبيراً أو غير قابل للإصلاح، وعندها يقوم الجين  $G_1/S$  بتنشيط جينات أخرى لتدمير الخلية ويُدمر هو أيضاً ولذا يسمى بالجين الانتحاري.

يقوم بروتين P53 بتحفيز الموت الخلوي المبرمج عن طريق تعزيز نسخ جينات تتضمن مسار الموت الخلوي المبرمج. فلقد لوحظ أن إحداث طفرات بهذا الجين يحدث تنشيط للموت الخلوي المبرمج، وعندما يفقد هذا الجين وظيفته تفقد السيطرة على الانقسام الخلوي فتنقسم الخلايا عشوائياً، وبالتالي تتولد الأورام السرطانية، وقد وجد هذا الجين في حالات طافرة عديدة من حالات السرطان في الإنسان.

ينظم الجين P53 عمل بروتين البوما Bcl-2، التابعة لعائلة P53، التي تشترك بطريقة مباشرة أو غير مباشرة في سلسلة إشارات الموت الخلوي المبرمج، فبعد تنشيط البوما مباشرة أو غير مباشرة في سلسلة إشارات الموت الخلوي المبرمج، فبعد تنشيط البوما Puma يتفاعل مع بروتينات Bcl-2، ويتحرر بروتين Bak و/أو Bak التي بدورها تنشط إشارات الموت الخلوي المبرمج في الميتوكوندريا، حيث تنشط سلسلة إنزيمات الكاسبيس وتنشط عملية الموت الخلوي. أثبتت الدراسات الكيموحيوية أن البوما يتفاعل مع بروتينات Bcl-2-xl المضادة للموت الخلوي مثل Bcl-2-xl و Bcl-2 و Bcl-2 و ويشبط تفاعل تلك البروتينات مع بروتينات الموت الأولية مثل بروتين Bak وبروتين ويبدأ تحرر وينم وعند زوال ذلك التثبيط ينشط بروتين Bak وتضعف الميتوكوندريا ويبدأ تحرر

إنزيم سيتوكروم-سي و Smac والعوامل المحفزة للموت الخلوي المبرمج AIF مما يؤدي إلى تنشيط إنزيمات الكاسبيس وحدوث الموت الخلوي.

يقوم البوما بتحفيز الموت الخلوي المبرمج من خلال تنشيط بروتين وحمال الأخير ينشَط بفعل العديد من الإشارات كنقص الجلوكوز أو زيادة مستوى التعبير الجيني للبوما، هذه الزيادة في مستوى البوما تحفز الموت الخلوي المبرمج عبر بوابة الميتوكوندريا. بينت العديد من الدراسات كذلك أن دور بروتين البوما قد ينعدم تماماً أو ينخفض بشكل كبير في الخلايا السرطانية، لدرجة أنه يعتبر مؤشراً Marker لحدوث طفرات في حين وحين والشكل رقم ٢٣).



الشكل رقم (77). يوضح دور الجين  $P^{53}$  في تنظيم الموت الخلوي المبرمج.

# الآليات الجزيئية لمسارات إشارات الموت الخلوي المبرمج Molecular mechanisms of apoptosis signalling pathways

كرس العديد من الباحثين والمختصين في علم الخلية وعلم الأمراض الوقت والجهد منذ اكتشاف ظاهرة الموت الخلوي المبرمج لمعرفة كيف ومتى تنتحر الخلايا. وقد تمكنوا من التعرف على بعض المبادئ الأساسية حول هذه الظاهرة إلا أن هناك الكثير من الأسئلة ما زالت دون إجابة. بينت بعض الدراسات أن ثَمّة جينات خاصة تُستَحث عند استعداد الخلية للموت الخلوي المبرمج، وقد أُطلق على هذه الجينات اسم الجينات المميتة أو جينات موت متنوعة.

يُنظَم الموت الخلوي المبرمج بطريقة دقيقة جداً، وبتفاعل العديد من العوامل المتنوعة من خارج الخلايا أو داخلها أو كلاهما معا، ومنها: عوامل ربط وكبح المستقبلات السطحية للخلية، أو تلف الدنا، أو عيوب في آليات إصلاحه، أو المعاملة بعقاقير ذات سمية خلوية، أو التعرض للأشعة، أو فقد إشارات البقاء، أو تناقض إشارات تنظيم دورة الخلية وغيرها. وبالرغم من التنوع الكبير في إشارات الموت، إلا أن جميعها تؤدي في النهاية إلى تنشيط جهاز موت خلوي مشترك يتسم بالخصائص المميزة للموت الخلوي المبرمج.

# دور الميتوكوندريا في تنظيم مسارات الموت الخلوي المبرمج Regulation of apoptosis by mitochondria

بالإضافة إلى تضخيم وتسهيل إشارات ومسارات الموت الخلوي المبرمج الخارجية، تلعب الميتوكوندريا دوراً مركزياً في تقوية وتكامل وانتشار إشارات الموت الناشئة داخل الخلية كتلف الدنا والضغط التأكسدي والتجويع والإشارات المستحثة بالعقاقير المستخدمة في العلاج الكيميائي للسرطان وغيرها. تتضمن معظم مسببات الموت الخلوي تغيرات مفاجئة في نفاذية أغشية الميتوكوندريا وتعطيل قدرة النقل الغشائي الداخلي أو ما يسمى بتحويل النفاذية (PT) Permeability Transition بيحة للتغيرات التي تطرأ على شحنات الغشاء، وفتح قنوات الأيونات المعروفة ثغور تحويل النفاذية في الميتوكوندريا. فتح تلك القنوات يجعل الماء والمواد المذابة التي لهاكتلة جزيئية تقل عن ٥,١ كيلو دالتون (ك د)، تقريباً، تدخل إلى الفراغ الموجود بين الغشائين الداخلي والخارجي، مما يؤدي إلى تمزق وتلف الغشاء الخارجي وتحرر بروتينات الموت الخلوي من الميتوكوندريا إلى السيتوبلازم، وبالتالي تنشيط حسم الموت الخلوي المبرمج وسلسلة الكاسبيسس وعوامل أحرى محفزة للموت الخلوي مثل (AIF).

## الآليات المنظمة لإشارات الموت الخلوي المبرمج

تنشط آليات الموت الخلوي المبرمج عندما تحفز إشارات الموت، ليبدأ بعد ذلك ارتباط مستقبل الموت ببروتينات خاصة. ولذلك يفترض أن مسارات الموت الخلوي المبرمج تبقى في حالة غير نشطة داخل الخلايا الحية ولا تنشط إلا في وجود محفزات الموت الخلوي. من الجدير بالذكر أن مكونات شبكة إشارات الموت الخلوي المبرمج يتم تحديدها وراثياً، وهي جاهزة للتأثير في معظم أنواع الخلايا، وقد برجحت داخلياً للتحطيم الذاتي وبطريقة تلقائية إلا إذا تم كبح موتما بنشاط إشارات البقاء، التي تعزز تعبير ونشاط جزيئات منظمة مضادة للموت الخلوي المبرمج.

## مسارات الموت الخلوي المبرمج Apoptosis pathways

تمتلك بعض الخلايا القدرة على حث الموت الخلوي المبرمج بطريقة مباشرة وبالاعتماد على إنزيمات الكاسبيس بصورة رئيسية، وهو ما يسمى بمسارات الموت الخارجية، بينما في بعض الخلايا تكون الإشارة المنبعثة من المستقبل غير كافية لتنشيط

إنزيمات الكاسبيس وتنفيذ موت الخلية، ولذلك يتم تضخيم الإشارة المنبعثة من المستقبل عن طريق مسارات الموت الخلوي المعتمدة على الميتوكوندريا وهو ما يسمى بمسارات الموت الداخلية.

## أ) مسارات الموت الخلوي المبرمج الداخلية Apoptotic intrinsic pathways

يتم تنشيط إنزيم كاسبيس- ٩ من خلال أحداث موت أولية تنشأ من داخل الميتوكوندريا بعدما يتحرر إنزيم سيتوكروم-سي من الميتوكوندريا إلى السيتوبلازم. ينتج عن أحداث الموت الأولية ما يسمى بجسم الموت الخلوي المبرمج Apopotosome، وهو معقد بروتيني يعمل كإشارة موت تنبعث من داخل الخلية. يتألف هذا المعقد من الجزيئات التالية: مركب الطاقة أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP وكاسبيس- ٩ الأولي والعامل المنشط للموت الخلوي ApaF-1 وإنزيم سيتوكروم-سى.

يتم الارتباط بين سلاسل إشارات الكاسبيس والميتوكوندريا بوجود أحد أعضاء بروتينات عائلة 2-Bcl وهو بروتين Bid الذي يتم قطعه بواسطة كاسبيس- $\Lambda$ ، حيث يتقل بشكله المبتور (tBid) Truncated (tBid) إلى الميتوكوندريا ويعمل بانسجام مع Bak و Bak التابعان للعائلة نفسها لحث تحرير إنزيم سيتوكروم-سي وبعض العوامل الأخرى المرتبطة بموت الخلية من داخل الميتوكوندريا إلى السيتوبلازم ليتكون في هذه الحالة المعقد Apoptosome . يُحفز هذا المعقد مجموعة الكاسبيسس البادئة، والتي بدورها تنشط مجموعة الكاسبيس المنفذة . عن طريق التحلل البروتيني لكل من كاسبيس-  $\pi$  و  $\pi$  و  $\pi$  و  $\pi$  و الأولية والتي بدورها تقوم بتجزئة مجموعة من الركائز البروتينية الخاصة لتعمل على تسهيل وتضخيم إشارة الموت الخلوي ليحدث موت الخلية بمظاهره الشكلية والكيموحيوية التي تشاهد عادة عند حدوث الموت الخلوي المبرمج.

### ب ) مسارات الموت الخلوي المبرمج الخارجية Apoptotic extrinsic pathways

يتم تسهيل وتمرير إشارة الموت الخلوي المبرمج الخارجية بواسطة تنشيط ما يسمى بمستقبلات الموت، وهي مستقبلات تقع على سطح الغشاء الخلوي وتنقل إشارات الموت بعدما ترتبط بجزيئات خاصة Ligands، مثل TNFR-1 و CD95 و Fas. ثمرر إشارة الموت لتصل للمستقبل داخل السيتوبلازم، والذي يحتوي على تتابع يسمى بحقل الموت (DD)، كما أن هناك جزيئات أخرى تعمل كموصلات مثل حقول الموت المرتبطة به Fas أو حقول الموت المرتبطة بمستقبل عامل النخر الورمي، التي يتم بواسطتها تطويع حقول الموت وتكوين معقد إشارة تعزيز الموت DISC. يؤدي التمركز الموضعي لجزيئات كاسبيس  $\Lambda$  الأولية بالقرب من معقد ODISC إلى تحفيز كاسبيس  $\Lambda$  الأولية وتحوله للصورة النشطة التي تؤثر على ركائز معينة داخل الخلية مما يسبب الموت الخلوي.

## إنزيمات الكاسبيس Caspases enzymes

إن العوامل الفعّالة والمؤثرة على حدوث الموت الخلوي المبرمج تتمثل في مجموعة من إنزيمات الكاسبيس، التي تلعب دورًا مهماً كعامل يتوسط عمليات نشوء وتنفيذ آليات الموت الخلوي، فإنزيمات الكاسبيس المرتبطة بالموت الخلوي هي التي تحدد مصير الخلايا المصابة أو المتأثرة بمسببات فناء تلك الخلايا من خلال مجموعة من الإشارات الخلوية الداخلية والخارجية، ويتوسط أحداث كل منهما إنزيمات الكاسبيس. هذه الإنزيمات تعمل كعوامل محللة Proteolytic ، فهي بمثابة أداة الانتحار الخلوي التي ستقضي على الخلية ومن ثم يتم التخلص منها عن طريق الخلايا الأكولة Macrophges.

خضعت ظاهرة الموت الخلوي المبرمج لكثير من الأبحاث المكتفة خصوصًا فيما يتعلق بتنشيطها وتنظيمها ووظيفتها في محاولة لفهم آليات حدوثها، فلقد تم التعرف على الكثير من الجينات المرتبطة بنشوء الموت الخلوي المبرمج على المستوى الجزيئي. يؤثر نشاط إنزيمات الكاسبيس على العديد من العمليات الحيوية ليتخطى الموت الخلوي المبرمج إلى أشكال أخرى من الموت الخلوي والالتهابات النسيحية. يعتمد موت الخلايا المبرمج على بعض الإنزيمات الهاضمة للبروتينات Proteases والتي تسمى بالكاسبيس

Cysteine dependent aspartate-specific proteases (Caspases). هذه الإنزيمات مسؤولة عن التفكُك المبرمج للخلايا، حيث تؤدي إنزيمات الكاسبيس دوراً مركزياً مهماً في شبكة إشارة الموت الخلوي المبرمج. يعتمد نشاط هذه الإنزيمات المحفز على موقع الحمض الأميني السستين Cysteine داخل موقع التنشيط Active-site وهذه الإنزيمات تقطع وبتخصصية عالية موادها الخاضعة (ركائزها) Substrates بعد الحمض الأميني الأسبرتيت Aspartate

تم التعرف حتى الآن على ٩ أنواع مختلفة من الكاسبيسس في ذبابة الفاكهة (الدروسوفيلا) و ١٥ نوعاً مختلفاً في الثدييات و ١١ نوعاً في الإنسان، منها ٧ فقط مرتبطة بعملية الموت الخلوي المبرمج. لقد أكدت مجموعة من الدراسات على بعض الخلايا أهمية إنزيمات الكاسبيس كوسائط في الموت الخلوي المبرمج، وحالياً توضع إنزيمات الكاسبيس في مجموعتين هما: مجموعة الكاسبيس البادئة عموعة الكاسبيس ومجموعة الكاسبيس المنفذة الكاسبيس المنفذة الكاسبيس المنفذة (كاسبيس المنفذة (كاسبيس المنفذة (كاسبيس المنفذة (كاسبيس المنفذة على تشمل مجموعة الكاسبيس المنفذة الكاسبيس المنفذة الكاسبيس المنفذة الكاسبيس المنفذة (كاسبيس -7،-7،-9). أما بقية إنزيمات الكاسبيس (كاسبيس -3.5.0) فتعمل المحلد.

تشترك إنزيمات الكاسبيس في العديد من العمليات والإشارات الخلوية، ولكنها توجد في حالة خاملة Zymogens ما لم يتم تنشيطها. هناك طريقتان لتنشيط إنزيمات الكاسبيس هما:

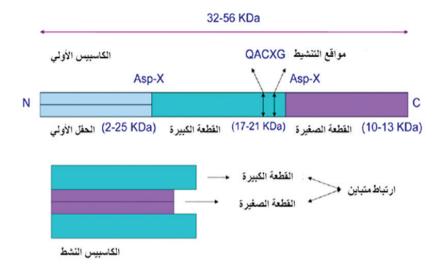
أولاً: التنشيط بواسطة عمليات تحلل محدودة Limited proteolysis تؤدي إلى تحويل الكاسبيس من صورتها غير النشطة Inactive إلى صورتها النشطة Active.

ثانيًا: التنشيط من خلال ارتباطها بجزيئات أخرى.

إن مجموعة الكاسبيس المنفذة مسؤولة عن مرحلة تنفيذ مراحل الموت الخلوي،

ولتوضيح كيفية تنشيط الكاسبيس لا بد من التطرق لشكل أو بناء إنزيمات الكاسبيس، فهي تمتلك نهاية محفزة تمنحها الشكل الملتوي، كما أن العديد من أعضاء هذه المجموعة تمتلك واحداً أو أكثر من الأطراف أو الحقول التي تسمى المحالات توظيف أو تطويع الكاسبيس (Caspase recruitment domain (CARD) بينما المجموعة المنفذة بطيئة في عملية تنشيطها، التي تتم عن طريق انقسام الكاسبيس البادئة، وهذه الأخيرة تحفز ارتباطها الذاتي بتكوين روابط تصالبية مع مجموعة الكاسبيس البادئة، مما يؤدي إلى تنشيطها. لفهم حقول الكاسبيس وتنظيمها وآليات تنشيطها بشكل أفضل لا بد من الإشارة إلى أن كل أنواع الكاسبيس لها نحايات محفزة ذات تنظيم مميز ومكون من جزأين Small subunits ترتبطان الكاسبيس لها غايات محفوة ذات تنظيم المين وحدة صغيرة المحلل على التحون من سلسلة قصيرة معاً من خلال منطقة يتم فصلها لاحقًا بواسطة إنزيم محلل Protease. يتميز إنزيم من عديد الببتيد في مجموعة الأمين N-terminal تكون من سلسلة قصيرة من عديد الببتيد في مجموعة الكاسبيس المنفذة بالإضافة إلى حقل أو حقلين تعمل Adaptor domains

لتنشيط مجموعة الكاسبيس المنفذة للموت الخلوي المبرمج نلاحظ أن الشكل الأولي للكاسبيس غير الفعّال يتحول إلى الشكل الفعّال بفعل العوامل المذكورة سابقاً. إن هذه المجموعة المنفذة من إنزيمات الكاسبيس تُكون نوعاً من الروابط المتعددة Multimers التي تسمح بتكوين المنطقة الفعّالة (الشكل رقم ٢٤)، بينما تتشكل روابط أحادية Monomers أثناء تنشيط مجموعة الكاسبيس البادئة، مثل كاسبيس - ٩ الذي يحتاج للارتباط بـ Apoptosome من خلال وصلات خاصة لتنشيطه.



الشكل رقم (٢٤). يوضح تنشيط إنزيمات الكاسبيس.

## منصات تنشيط الموت الخلوي المبرمج: Apoptotic activation platforms

تعد عملية تنشيط مجموعة إنزيمات الكاسبيس البادئة أول خطوة لتحفيز إنزيمات الكاسبيس الأخرى، ويبدأ تنشيط إنزيمات الكاسبيس البادئة من خلال تنشيط قواعد أو منصات محددة داخل الخلية. هذه الخطوة مهمة لإطلاق إشارات الموت الخلوي وتنشيط إشارة التحلل. تحفز جميع مسارات الموت الخلوي عن طريق تكوين معقد إشارة الموت  $\Lambda$  وكاسبيس  $\Lambda$  وكاسبيس  $\Lambda$  وكاسبيس  $\Lambda$  وين أن مسارات الموت الخلوي الداخلية تتميز بتكوين حسم الموت الخلوي الذي له القدرة على تنشيط كاسبيس  $\Lambda$  و

يتصل معقد إشارة الموت مع المحيط الخارجي للخلية عبر الغشاء الخلوي بواسطة روابط محددة مثل FasL و TRAIL، التي ترتبط بحقول مستقبلات الموت حارج الخلية، وبالتالي تنتقل إشارات الموت من حارج الخلية إلى داخلها مما ينتج عنه تجمع مستقبلات الموت، إلا أن تفاصيل هذه العملية ليست معروفة بشكل كامل حتى الآن. يشارك

Apaf-1 في تنشيط منصات مسارات الموت الداخلية، فهو يدخل في تركيب جسم الموت الخلوي المبرمج، الذي يعمل كمستقبل داخل السيتوبلازم، فبعد أن تنطلق إشارة الموت يقوم 1-Apaf بتحرير إنزيم سيتوكروم—سي من الميتوكوندريا، مما يُسهم في تشكل جسم الموت الخلوي المبرمج كما ذكر سابقاً. وكما في حالة معقد إشارة الموت يقوم حسم الموت الخلوي المبرمج بتكوين حقول معينة تستهدف الكاسبيس وتنشطها.

يتكون معقد إشارة الموت بواسطة مستقبل Fas وهذا الأخير مرتبط بكل من حقول بروتينات الموت والكاسبيس -  $\Lambda$ ، والتي تشكل في مجملها شبكة متداخلة من البروتينات المتشابحة، التي تعمل كآلة تبديل تمنع التجمع العشوائي لـ DISC مما يسمح بالتجمع على مستقبل الموت وتنشيط كاسبيس -  $\rho$ ، وهذا يتطلب وجود العامل Apaf-1 الذي يعمل في غياب محفزات الموت الخلوي بتكوين روابط أحادية مع جزيئات أخرى ذات صلة بالموت الخلوي. في وجود السيتوكروم - سي تتشكل إشارات محفزة لتكوين جسم الموت الخلوي، ولتلك الإشارات القدرة على تجنيد الكاسبيس. إن استبدال حقول تطويع الكاسبيس -  $\Lambda$  بما يدعم تحفيز وتنشيط أنواع أحرى من الكاسبيس . تندمج في بعض الحالات وصلات بروتينية مع معقد التنشيط بحدف توجيه الإشارات نحو مسارات مختلفة، فعلى سبيل المثال، عند ظروف معينة يمكن لكاسبيس -  $\Lambda$  تحفيز إشارات الموت الخلوي أو تحفيز إسارات عدد التنسيد المدرون المد

يتم تنشيط إنزيمات الكاسبيس بواسطة المنصة البروتينية، التي تقوم بشطر إنزيمات كاسبيس محددة، هذه الإنزيمات تتطلب مرحلة بينية يتم فيها تنشيط مباشر للكاسبيس، مما يُولد مساراً خلوياً يمر بمرحلتين يتم فيهما تضخيم إشارة الموت الخلوي المبرمج والسماح بتنظيمات خلوية أخرى. يبدو أن الكاسبيس المنبهة للالتهاب لا يتطلب مرحلة بينية، ومع ذلك فإن العلاقة الكيموحيوية بين كل من كاسبيس - ٥٠٤،١ ما زالت

تحتاج للمزيد من التوضيح. كما أن هناك القليل فقط من ركائز الكاسبيس المعروفة، وما زال العديد منها لم يكتشف بعد. لوحظ أن هناك تبايناً في نشاط واستجابة إنزيمات الكاسبيس بحسب مواقعها والمسافة التي تفصلها عن التتابعات المشفرة لها. فقد كان يعتقد أن أنواع الكاسبيس التي تقع يمين Upstream أو يسار Downstream الجينات المشفرة متشابحة في نشاطها، إلا أنه اتضح فيما بعد، أن نشاط الكاسبيس التي تقع على يمين الجينات المشفرة تستحث بمؤثرات مختلفة. لقد أصبحت الآليات الدقيقة لنشاط بعض إنزيمات الكاسبيس مفهومة بشكل كبير. ففي الإنسان تكون إنزيمات الكاسبيس الأولية متشابحة إلى حد ما، ولكن الآلية التي تحولها إلى الصورة النشطة تختلف ما بين أنواع الكاسبيس البادئة في الحالة الخاملة على الارتباط الكاسبيس البادئة في الحالة الخاملة على الارتباط الكيميائي يتم تسهيله بواسطة أنواع من إنزيمات الكاسبيس منصته الخاصة.

# تنشيط إنزيمات الكاسبيس Activation of caspases

بمجرد أن تتكون منصات إشارات الموت الخلوي المبرمج تصبح تلك المنصات قادرة على تنشيط أهدافها من إنزيمات الكاسبيس البادئة، أحد تلك الأهداف هو كاسبيس- و الذي يتم تنشيطه من خلال إشارات جسم الموت الخلوي المبرمج. إن التركيب الهندسي الفريد لجموعة الكاسبيس يسمح بتحولها من الحالة غير النشطة إلى الحالة النشطة من خلال انشطارها، ففي حالة مجموعة إنزيمات الكاسبيس المنفذة تنشطر المنطقة القصيرة الرابطة بين الوحدتين الكبيرة والصغيرة مما يسمح بتكون منطقة نشطة وفعّالة كمتطلب لنشاط إنزيمات الكاسبيس (الشكل رقم ٢٤)، ومع ذلك فقد أثبتت بعض الدراسات على إنزيم كاسبيس- و أن الانشطار ليس أمراً ملزما لنشاط محموعة الكاسبيس البادئة، على الرغم من أن هذه المجموعة من إنزيمات الكاسبيس

تمتلك عدداً من مناطق الانشطار. تُنشئ إنزيمات الكاسبيس البادئة عوضاً عن عملية الانشطار بوليمرات أحادية غير نشطة عند تراكيز خلوية معينة في عدم وجود إشارات الموت بعكس مجموعة الكاسبيس المنفذة.

تشير المعلومات السابقة أن إنزيمات الكاسبيس قد تنشط بواسطة عملية الانشطار أو بعمليات أخرى من خلال تكوين روابط دايمرية Dimerization وإعادة التشكل. على الرغم من تشابه إنزيمات الكاسبيس من حيث البنية التركيبية إلا أن مجموعة الكاسبيس البادئة تنفرد بميزتين أساسيتين:

الأولى: وجود حقول للربط والتوصيل مثل حقول تنشيط وتطويع إنزيمات الكاسبيس - CARD كما في إنزيم كاسبيس - 9.

الثانية: طول المنطقة الرابطة بين الوحدة الكبيرة والوحدة الصغيرة.

إن عمليات اتحاد الحقول المتكونة بين مجموعات الكاسبيس وتنشيط منصات تلك الإنزيمات يعطي الفرصة لإنزيمات الكاسبيس أن تشارك في العديد من مسارات الإشارات الخلوية سواء مسارات إشارات الموت الخلوي المبرمج أو غيرها. تشبه إنزيمات الكاسبيس في عملها آلة الموت، التي يمكن تفعيلها للقضاء على الخلية من خلال محفزات متنوعة، فهناك مسارات موت عديدة تشترك في حث استجابة إنزيمات الكاسبيس بغض النظر عن نوع المسار الفعلي لموت الخلايا المبرمج، فإنزيمات الكاسبيس تمثل أداة الخلية لتحليل المبروتين وحدوث ظاهرة للموت الخلوي المبرمج.

## تنشيط الكاسبيس المنفذة بواسطة الانشطار

#### Executioner caspase-activation by cleavage

أثبتت الدراسات التجريبية داخل جسم الكائن الحي In vivo أن عوامل النسخ الثابتة كالمنشطات Activators ، التي تقع على يمين التتابعات المشفرة للكاسبيس تمثل عوامل تنشيط لجينات الكاسبيس-١٠،٩،٨ كمرحلة أولية لبداية أحداث الموت الخلوي المبرمج، يلي عملية تنشيط الكاسبيس عملية التحلل البروتيني التي تسمى بعملية النضوج

Maturation. يتم أثناء هذه العملية أحداث مميزة ومتزامنة تختلف في ملامحها عن عملية التنشيط. تتضمن أحداث عملية النضج إزالة أو تشذيباً Trimming للحقول الأولية وعمليات شطر للروابط الكيميائية داخل الوحدات الإنزيمية. مما تجدر الإشارة إليه أن غياب عملية التنشيط يجعل عملية النضوج غير قادرة على توليد نشاط إنزيمي، فإنزيمات الكاسبيس لا تنشط من خلال إزالة الحقول الأولية فحسب، بل بمشاركة العديد من الإنزيمات المحللة الأخرى. لعملية النضوج أهمية بالغة على المستوى الخلوي، فعلى سبيل المثال: وجد أن دور إنزيم كاسبيس - ٨ في أحداث الموت الخلوي يتطلب شطر هذا الإنزيم وتحوله من شكل لآخر، ومع ذلك فإن تكون الروابط الثنائية يؤدي إلى إنتاج الصورة النشطة لكاسبيس - ٨، والذي بدوره يحفز تكاثر الخلايا التائية الحركية يؤدي وفي الوقت نفسه لا يحفز حدوث الموت الخلوي المبرمج. من الناحية الحركية يؤدي الانشطار الذاتي إلى ثبات حقول كاسبيس - ٨ لتكون نشطة وفعّالة داخل الخلية عند تحرر الإنزيمات المحللة للبروتين من ال DISC.

بينت التجارب التي أجريت على الحيوانات بتقنية حذف أو تعطيل وظيفة الجينات أو حتى تثبيطها أن تعطيل جين كاسبيس-٣ في مجموعة من الفئران أدى إلى موت معظم الأجنة قبل الولادة، وكان المتبقي منها على قيد الحياة يعاني من تشوهات خلقية مثل الضمور الشديد في المخ، ووجود كتل نسيجية كان من المفترض أن تخضع لموت الخلايا المبرمج خلال النمو الطبيعي. كما أن تعطيل أو حذف جين كاسبيس-٩ أدى إلى موت الفئران أيضاً وإصابتها بالشلل والتشوهات بسبب خلل في توازن ومعدل الموت المبرمج للخلايا أثناء نمو المخ. من جانب آخر يؤدي فقدان كاسبيس-١ في الفئران إلى عدم إنتاج الإنترلوكين (١٤-١٤)، إلا أن ذلك لا يسبب أي خلل في النمو الطبيعي، مما يشير إلى أن كاسبيس-١ يلعب دوراً ثانوياً في تقدم المسارات المهمة للإنتحار الخلوي. يشير إلى أن كاسبيس-١ يلعب دوراً ثانوياً في تقدم المسارات المهمة للإنتحار الخلوي المبرمج مثل تثبيط جين المهمة إلى الغنوان إلى انخفاض معدل موت الخلايا المبرمج في أنسجة مثل تثبيط جين المهمة في الفئران إلى انخفاض معدل موت الخلايا المبرمج في أنسجة

المخ. يعتمد الأثر الذي يظهر عند تعطيل الدور الوظيفي لأي من إنزيمات الكاسبيس أو غيرها من الجينات التي تشارك في عملية الموت الخلوي المبرمج على الدور أو الوظيفة المناطة بذلك الإنزيم. وبالمقابل فإن التعبير الجيني المفرط لأي من إنزيمات الكاسبيس أو غيرها من جينات الموت الخلوي سيؤدي إلى خلل في معدل الموت الخلوي المبرمج.

## الموت الخلوي المبرمج وإشارات الالتهاب

#### Apoptosis and inflammation signaling

تعتبر إنزيمات الكاسبيس أحد المحفزات الأولية لنشاط مركبات السيتوكينز، فقد أثبتت الدراسات أن وجود الالتهابات الأولية يحفز نشاط إنزيمات الكاسبيس التي بدروها تحفز استحابة السيتوكينز، ومن هنا نشأ التساؤل التالي: كيف يمكن للخلية أن تميز بين محفزات الموت الخلوي وبين محفزات نشاط السيتوكينز رغم التشابه الكبير بينهما؟ كشفت الأبحاث عن مجموعة من الإنزيمات المحللة للبروتين عند الإنسان والمسؤولة عن تنبيه الانترلوكين-١بيتا والذي أطلق علية الإنزيم المحول للانترلوكين-١بيتا والدي الموت الموت الموت الحوت الموت الخلوي المبرمج تتشابه مع الانزيم المحول للانترلوكين-١بيتا، الذي يسيطر على موت الخلوي المبرمج تتشابه مع الانزيم المحول للانترلوكين-١بيتا، الذي يسيطر على موت الخليدة. سميت هذه الانزيمات المحالة للبروتينات فيما بعد باسم إنزيمات الكاسبيس. بعض من هذه الانزيمات مسؤول عن المراحل الأولى للموت الخلوي المبرمج والبعض القدرة على التحكم في نشاط وعمل الإنزيمات المؤجهة لكل من الموت الخلوي المبرمج والانتهاب. كما أثبتت التحارب المعملية أهمية دور الكاسبيس في استحابة السيتوكين في والانتهاب.

تحلل إنزيمات الكاسبيس العديد من البروتينات الخلوية، وهذا التحلل يؤدي إلى تنشيط تلك البروتينات أو تثبيطها من خلال التأثير الدقيق والتخصصية العالية بين

الإنزيم وركيزته. تم تقسيم إنزيمات الكاسبيس عند الإنسان (الجدول رقم ٤) تبعاً لتشابه تتابعاتها كالتالى:

١-المجموعة المسببة للالتهاب.

٢-الجحموعة البادئة.

٣-المجموعة المؤثرة.

## الجدول رقم (٤). أنواع إنزيمات الكاسبيس.

أنواع الكاسبيس	آلية العمل	
Caspase-1 Caspase-4 Caspase-5	المجموعة المنبهة للالتهاب Inflammation	
Caspase-2 Caspase-8 Caspase-9 Caspase-10	المجموعة البادئة Cell death initiation	
Caspase-3 Caspase-6 Caspase-7	المجموعة المنفذة Cell death execution	

# لالفصل لالسابع

# الالتهام الذاتي والموت الخلوي Autophagy and Apoptosis

مفهوم أو مصطلح الالتهام الذاتي للخلايا الميتة ليس بالجديد على الباحثين في مفهوم أو مصطلح الالتهام الذاتي للخلايا الميتة ليس بالجديد على الباحثين في مجال الموت الخلوي، فقد عُرف هذا المصطلح واستخدم عند دراسة أنواع الموت المحلوت وتم خلال ذلك الكشف عن بعض الصفات الشكلية Morphological features للموت الخلوي المجرمج مقارنة بالأنواع الأخرى من الموت الخلوي (الجدول رقم ٥). تظهر عند موت الخلايا المبرمج بعض الخصائص الفريدة التي تم الحديث عنها سابقاً؛ وعلى العكس من ذلك نجد أن الخلايا التي تموت بطريقة الالتهام الذاتي تمتاز بمميزات مختلفة مثل احتضان الخلايا والتهامها (بلعها) Engulfment ليتكون ما يسمى بالأحسام الملتهمة الذاتية مبكراً مع الحفاظ على الهيكل السيتوبلازمي حتى آخر لحظة.

تعتبر عملية الالتهام الذاتي Autophagy بثابة حلقة الوصل بين الجسم المحلل (اللايسوسوم) Lysosome وعملية الموت الخلوي. تؤدي الأجسام المحللة بما تحتوية من تراكيز عالية من الإنزيمات المحللة Hydrolases دوراً مهماً في مراحل الموت الخلوي، إلا أن الكثير من الدراسات افترضت الدور السلبي أو غير الفعّال الذي تمارسه الأجسام المحللة خلال أحداث الموت الخلوي بسبب انطلاق أو تسرب Leakage بعض الإنزيمات المحللة الى السيتوبلازم نتيجة لتلف الأغشية المحيطة بحويصلات الأجسام المحللة المحيطة المحيطة

vesicles لأسباب مختلفة قد يكون من بينها تعرض الخلايا لظروف مرضية أو نحو ذلك، مما أدى إلى حدوث الموت الخلوي المبرمج. فعلى سبيل المثال: هناك بعض المواد الدهنية مثل السفنجوسين Sphingosine أو السيراميد Ceramide أو غيرها من محفزات الملوت الخلوي الأخرى كالجهد التأكسدي قد تؤدي إلى تسرب الإنزيمات الملحللة إلى السيتوبلازم.

أعيد النظر أكثر من مرة في السنوات الأخيرة حول دور الأجسام المحللة وعلاقتها بالموت الخلوي المبرمج، ولعل أهم الأسباب التي دعت إلى ذلك، الدور الوظيفي المتضمن عملية الالتهام الذاتي Autophagy أو ما يسمى الهضم الذاتي Self-digestion لمكونات الخلية الداخلية، هذه النظرة تتنافى مع النظرة القديمة حول الدور السلبي لهذه العضيات في أحداث الموت الخلوي، والتي تَعتبر أن الأجسام المحللة مجرد عضيات حاملة لإنزيمات مدمرة تنطلق من داخل تلك العضيات إلى السيتوبلازم، ثم اتضح فيما بعد الدور المباشر الذي تمارسه الأجسام المحللة خلال أحداث الموت الخلوي. يعتبر تحلل العضيات الخلوية الداخلية أمراً مهماً في الحفاظ على حالة التوازن، والتجدد المستمر للعضيات الخلوية لتعويض ما يتلف منها بسبب ما تتعرض له الخلايا أثناء حياتها من مؤثرات داخلية أو خارجية في البيئة التي تعيش فيها.

الجدول رقم (٥). مقارنة بين الصفات الشكلية للخلايا أثناء أحداث الموت الخلوي المبرمج والالتهام الذاتي.

الالتهام الذاتي	الموت الخلوي المبرمج
ظهور فجوات خلوية	انكماش خلوي
عدم حدوث تغيرات على النواة	تكثف النواة
عدم حدوث تغيرات على الميتوكوندريا	زيادة نفاذية غشاء الميتوكوندريا
بقاء الهيكل السيتوبلازمي سليم	تلاشي الهيكل السيتوبلازمي
تحلل العضيات الخلوية	بقاء العضيات الخلوية سليمة حتى آخر لحظة
عدم ظهور فقاعات على غشاء النواة	ظهور فقاعات على غشاء النواة
عدم تجزؤ الحمض النووي DNA	تجزؤ الحمض النووي DNA

#### تحلل البروتينات Proteolysis

هناك نظامان حلويان أساسيان يعملان على تحلل البروتينات والتخلص منها هما: أ) نظام الأبكوتين/ الجسم المحلل Ubiquitin/proteasome system

يعتبر هذا المسار الرئيسي للتحلل الانتقائي للبروتينات في حقيقيات النواة. يُستخدم في هذا المسار ما يعرف بالأبكوتين النواينات ، وهو بروتين مكون من ٧٦ حمضاً أمينياً يعمل على وسم (تعليم) البروتينات النووية والسيتوبلازمية وتحللها بشكل سريع. ويمكن إيجاز أحداث هذا النظام كما في (الشكل رقم ٢٥) كالتالي:

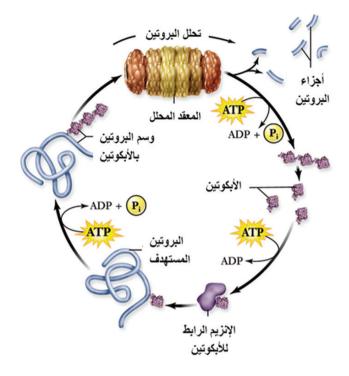
الأمين المروتين المراد تحلله عن طريق التصاق الأبكوتين بمجموعة الأمين  $\rm NH_2$  للحمض الأميني اللايسين  $\rm Ligase$  بمساعدة إنزيم لاصق

٢-تضاف أجزاء أخرى من الأبكوتين لمواقع أخرى من اللايسين.

٣-تمييز الأبكوتين والتعرف عليه بواسطة معقد إنزيمي بروتيني متعدد الوحدات يسمى بالجسم المحلل للبروتين Proteasome.

٤ - بعد انتهاء عملية التحلل تتحرر جزيئات الأبكوتين ليعاد استخدامها مرة أخرى لتحليل بروتين آخر، مع العلم أن العمليات السابقة تتطلب طاقة ATP.

إن التصاق الأبكوتين بالبروتينات يؤدي إلى تحللها السريع، ولذلك فإن استقرار البروتينات داخل الخلية يُحدَد بواسطة وسمها بالأبكوتين من عدمه.



الشكل رقم (٢٥). يوضح أحداث التحلل البروتيني بنظام الأبكوتين/ الجسم المحلل.

## ب) نظام التحلل الإنزيمي (اللايسوسومي) Lysosomal proteolysis system

اللايسوسومات حويصلات كروية الشكل صغيرة الحجم يتراوح قطرها بين ٥٠,٠٠ - ٥,٠ مايكرومتر تنتشر داخل السيتوبلازم، وتحتوي بداخلها على إنزيمات محللة، ومن هنا جاءت تسميتها بالأجسام المحللة، فهي المسؤولة عن تحلل معظم الجزيئات في الخلية، بالإضافة إلى التحلل الذاتي Autolysis للخلية بعد موتها بإنزيمات خلوية داخلية تُعرف بإنزيمات التحلل الذاتي. الجدير بالذكر، أن الإنزيمات المحللة متصلة بغشاء الجسم المحلل أو مذابة بداخله ولا توجد في السيتوبلازم. يُعد مسار التحلل اللايسوسومي أحد المسارات الرئيسية لتحليل البروتينات في حقيقيات النواة، ويتضمن احتواء أو إدخال خلوي Endocytosis للبروتينات المراد تحللها أو غير المرغوب فيها، وغيرها من العضيات التالفة داخل الجسم المحلل، ليتم بعد ذلك هضمها والتخلص منها.

هناك عدة آليات مختلفة للالتهام الذاتي يتم فيها إدخال المواد داخل الأجسام المحللة، ومن أهم تلك الآليات ما يلي:

## أ) آلية الالتهام الذاتي للجزيئات الكبيرة Macro-autophagy

يعتبر التهام الجزيئات الكبيرة أهم أنواع الالتهام الذاتي، فمن خلاله يتم تحلل البروتينات الذائبة، والعضيات الخلوية التالفة. يمكن إيجاز أحداث هذه الآلية بأنها عملية يتم خلالها احتواء وحصر الجزيئات الكبيرة وإحاطتها بغشاء مزدوج داخل السيتوبلازم. يُشتق هذا الغشاء من الغشاء الخلوي. يطلق على هذا الغشاء المتكون وما بداخله بالجسم المبتلع الذاتي Autophagosome، بعد ذلك، يقترب هذا الغشاء المتكون وما يحتويه نحو الجسم المحلل ويتحد معه، لتبدأ بعد ذلك عملية تحلل كامل لما بداخل الغشاء من جزيئات بواسطة الإنزيمات المحللة.

## Micro-autophagy المخريئات الصغيرة الالتهام الذاتي للجزيئات

يتم في هذا النوع ابتلاع المواد المتواجدة داخل السيتوبلازم من خلال فجوات صغيرة نتجت أساساً من غشاء الجسم المحلل، حيث يتحلل محتوى الفجوات الصغيرة داخل الأجسام المحللة، بعد ذلك تقترب هذه الفجوات مرة أخرى من غشاء الجسم المحلل وتتحد معه من جديد. إن تكون الفجوات من غشاء الجسم المحلل ثم اندماجها فيه مرة أخرى يحافظ على ثبات الحجم الطبيعي لغشاء الجسم المحلل.

## ج) آلية الالتهام الذاتي بواسطة الشبرونات Chaperone-mediated autophagy

يتم بهذه الآلية تحلل بروتينات سيتوبلازمية محددة بعدما تم التعرف عليها بواسطة معقد الشبرون، ومن ثم توجيهها نحو الجسم المحلل، يوجد على غشاء الجسم المحلل مستقبلات خاصة لهذه البروتينات يتم من خلالها إدخال هذه البروتينات إلى داخل الجسم المحلل لتبدأ بعد ذلك عملية تحلل تلك البروتينات غير المرغوبة. يوجد حوالي ثلاثين بروتينا مرتبطاً بعملية الالتهام الذاتي تعرف بعائلة (AuTophaGy (Atg) ، والتي تلعب دوراً أساسياً في العديد من مراحل الالتهام الذاتي للجزيئات الكبيرة. يزداد

التهام الجزيئات الكبيرة نتيجة لعمليات التجويع الخلوي القاسي أو لوجود عوامل إجهاد خلوي مما يسبب تلفاً بالغاً داخل الخلايا. هذه الظاهرة منتشرة في معظم أنواع الخلايا وتعد ظاهرة حيوية مهمة للحفاظ على حالة الثبات والتوازن داخل الخلايا وخارجها .

### الوظائف الفسيولوجية للالتهام الذاتي Physiological functions of autophagy

تمثل ظاهرة الالتهام الذاتي آلية دفاعية مهمة لخلايا الجسم، وتحدث هذه الظاهرة نتيجة للعديد من أنواع الجهد الخلوي، ومن أبرز وظائف الالتهام الذاتي ما يلى:

١- يعد الالتهام الذاتي مصدراً بديلاً للطاقة عندما تكون العناصر الغذائية نادرة، حيث يتم تحت هذه الظروف تحلل البروتينات والدهون المخزنة.

٢-يساهم في تخليص الخلايا من البروتينات الغير طبيعية أو العضيات التالفة.

٣- يلعب دوراً أساسياً في الدفاع عن الخلية ضد الميكروبات المسببة للمرض .Pathogens

يعتبر الجهد الناتج من نقص الموارد الغذائية (التجويع) من أبرز محفزات نشاط الأجسام الملتهمة، حيث تنشط الأجسام الملتهمة الذاتية في العديد من أنواع الخلايا في الكائنات الحية مثل الثدييات والكائنات وحيدة الخلية كبعض الفطريات. ويعد هذا النشاط في ظل هذه الظروف أمراً مهماً لحياة الخلايا. لقد أجريت العديد من الدراسات التجريبية على تنشيط ظاهرة الالتهام الذاتي في الخميرة لتتبع التغيرات الجينية التي تطرأ على الجينات المشاركة في هذه الظاهرة، أوضحت تلك النتائج أن هناك بعض العيوب في عملية الالتهام الذاتي كانت بسبب الطفرات التي تتعرض لها بعض الجينات المسؤولة عن عملية الالتهام الذاتي، ومن تلك العيوب موت الخلايا الطافرة بشكل سريع أثناء عملية التجويع مقارنة بالخلايا الطبيعية تحت نفس الظروف. وفيما يخص تنشيط عملية الالتهام الذاتي الحي تلجأ إليها الخلايا كآلية لمحاربة الميكروبات فإن الأجسام الملتهمة

لديها القدرة على محاصرة تلك الميكروبات وتحليليها داخل الأجسام المحللة. كما اتضح خلال السنوات القليلة الماضية أن الالتهام الذاتي يلعب دوراً بارزاً في المحافظة على النظام الخلوي عند الظروف الطبيعية، حيث يمنع تراكم المواد السامة والبروتينات غير الطبيعية والعضيات التالفة كالميتوكوندريا، فالتغيرات التي تطرأ على أغشية الميتوكوندريا وفعاليتها الوظيفية كتسرب بعض مكوناتها مثل السيتوكروم-سي يحفز مسارات الموت الخلوي.

# Autophagy and pathology الألتهام الذاتي وعلم الأمراض

تواجه الخلايا أثناء فترات نموها وعملها بعض العوامل المسببة للإجهاد الخلوي، وغيرها من الأسباب، وبمعدلات متفاوتة حسب الظروف التي تمر بها الخلايا ومنها على سبيل المثال الإصابة بالميكروبات، ونقص بعض العناصر العذائية، ونقص إنتاج عامل النمو، ونقص الأكسجين Hypoxia. تتأقلم الخلايا في حالات كثيرة مع تلك المسببات في سبيل البقاء على قيد الحياة، إلا أن الظروف غير المحتملة بجعل الخلية تفقد السيطرة على إحتواء ومقاومة تلك المسببات التي تُتلف العديد من الأنظمة الخلوية ومنها عمل الأجسام الملتهمة، مما يسبب حدوث الموت الخلوي المبرمج. أثبتت الدراسات أن تعرض الأجسام الملتهمة لتلف كبير قد يسبب موت الخلايا سواء بطريقة الموت الخلوي المبرمج فيره من أنواع الموت الخلوي الأحرى، تجدر الإشارة إلى أن هناك آليات ومسارات خلوية مختلفة تقود الخلايا إلى أحد أنواع الموت الخلوي.

استخدمت العديد من الطرق لتبع نشاط عملية الالتهام الذاتي داخل وخارج جسم الكائن الحي، بالإضافة إلى إحداث تحورات في عمل الأجسام الملتهمة، مما ساعد في إيجاد علاقة مباشرة بين عيوب عملية الالتهام الذاتي، والعديد من الأمراض مثل أمراض الانحلال العصبي Neurodegenerative diseases وأمراض الأيض diseases والأمراض المعدية Infectious diseases وأمراض السرطان وغيرها.

إن فشل حدوث عملية الالتهام الذاتي أو حدوثها بشكل غير طبيعي وراء العديد

من الأمراض الناتجة بفعل تراكم البروتينات الممرضة داخل الخلايا، ولكن إذا تمت عملية الالتهام الذاتي بشكل طبيعي فإنحا تزيل تلك البروتينات بشكل مستمر وتمنع تراكمها داخل الخلايا، مما يمنع حدوث السمية الخلوية Cytotoxicity. لقد ثبت أن زيادة نشاط عمليات الالتهام الذاتي في العديد من النماذج التجريبية يمنع تراكم البروتينات، ويُخفض نشاط بعض الأمراض. ولذلك فإن أي خلل قد يطرأ على عملية الالتهام الذاتي سيؤدي حتماً إلى تفاقم الأضرار المرتبطة بما مع مرور الوقت، مما يرجح أن فشل آلية الدفاع هو السبب وراء اضطراب الخلايا وزيادة الأعراض المرضية. فعلى سبيل المثال، تؤدي الطفرات وبعض التحورات التي تحدث ما بعد عملية النسخ Post-transcription إلى تراكم البروتينات في الخلايا العصبية عند المصابين بمرض باركنسون Parkinson's كما ثبت أن هناك علاقة وأخسية الأجسام المخللة وضعف نشاط التهام الجزيئات الكبيرة كما يحدث عند المصابين بمرض مباشرة بين تتبيط مستقبل (Chaperone-mediated autophagy (CMA) الموجود على أغشية الأجسام المخللة وضعف نشاط التهام الجزيئات الكبيرة كما يحدث عند المصابين بمرض عملية الالتهام الذاتي غير معروفة بشكل كامل. ومع ذلك فإن النتائج التي تم الحصول عليها تعتبر عملية الالتهام الذاتي عملية خلوية دفاعية ضد الأمراض الناتجة بفعل تحلل العصبية.

بينت التجارب التي أجريت حديثاً على الفئران المعدلة وراثياً بواسطة تعطيل بعض الجينات المشاركة في عمل الأجسام الملتهمة ظهور ضعف واضح في عمل الأجسام المحللة في خلايا البنكرياس، فلم تعد الأجسام الملتهمة قادرة على إزالة البروتينات المتغيرة مثل هرمون الإنسولين لدى مرضى السكر Diabetes، ثما يثبت دور الأجسام المحللة في عملية ثبات وتوازن خلايا بيتا المسؤولة عن إفراز هرمون الإنسولين. بينت هذه النتائج العلاقة القوية بين عيوب الأجسام المحللة واضطراب عمليات الأيض. أوضحت دراسات أخرى أجريت على أنواع مختلفة من الخلايا مثل الخلايا العصبية وخلايا الكبد وخلايا القلب وخلايا بيتا في البنكرياس أن ضعف عملية الالتهام الذاتي أدت إلى تغيرات في عملية التوازن الخلوي هما أدى إلى تحلل الخلايا وموقا بطريقة الموت الخلوي المبرمج.

#### الالتهام الذاتي كآلية مضادة للموت الخلوي Autophagy as anti-cell death mechanism

هناك العديد من الدلائل الداعمة للدور الوظيفي للأحسام الملتهمة كعامل مهم لحماية الخلية في العديد من الأنظمة الخلوية، والتي تم إيجاز أبرزها في (الجدول رقم ٦). فتعطيل عمل الأحسام الملتهمة من خلال إزالة الجينات الأساسية في بعض أنسجة الفأر سبب تراكم البروتينات المعلمة (الموسومة) Labeled ببروتين الأبكوتين، بالإضافة إلى حدوث تغيرات في العضيات الخلوية وتحلل الخلايا. تدعم هذه التغيرات الرأي السائد بأن وجود أحسام ملتهمة ولو بمستوى منخفض في الأنسجة الطبيعية يُعد من الوظائف الأساسية، التي تؤديها الأحسام الملتهمة. يشمل العمل الإيجابي للأحسام الملتهمة لأجل الحفاظ على حياة الخلايا وظيفتين أساسيتين هما: العمل كمصدر طاقة بديل والعمل كوسيلة للتخلص من المكونات الخلوية غير الطبيعية.

تعتبر قدرة الأجسام الملتهمة الذاتية على حفظ التوازن الإيجابي للطاقة الخلوية أمراً مهماً، وخصوصاً أثناء فترات نقص الغذاء. فتحلل البروتينات وصولاً لتحلل المخزون الدهني بفعل الأجسام الملتهمة يولد أحماضاً أمينية، وأحماضاً دهنية حرة يمكن أن تستخدم لبناء بروتينات جديدة تدعم مسارات أيضية أحرى مثل دورة حمض الكربوكسيل الثلاثي أو إنتاج طاقة ATP من الميتوكوندريا بواسطة عملية الأكسدة، وهذا يجعل الأجسام الملتهمة الذاتية قادرة على إعادة تدوير المواد داخل الخلية للمحافظة على حياة الخلية أثناء فترات التجويع. إلا أن دور الأجسام الملتهمة الذاتية لا يقتصر فقط على توفير الطاقة في فترات التجويع بل يمتد هذا الدور ليشمل توفير الطاقة تحت ظروف أخرى كالحرمان من عامل النمو أو نقص الأكسجين كما ورد سابقاً. التحلل السريع للجلوكوز بعد إزالة عامل النمو يجعل الخلايا تواجه خطورة توازن الطاقة، ولكن هذا لا يحدث بسبب نشاط الأجسام الملتهمة الذاتية الذي يافظ على مستويات الطاقة ATP داخل الخلايا بما يتوافق مع متطلبات بقاء الخلايا على قيد الحياة لعدة أسابيع.

الجدول رقم (٦). الدور الوظيفي للأجسام الملتهمة (٦٥١). الدور

الدور الوظيفي للجسم الملتهم	النسيج/ الخلية	معدل نشاط الجسم	الكائن الحي
		الملتهم	
نمو اليرقات	المخ	منخفض	الدروسوفيلا
تراكم البروتينات وتحللها	المخ	منخفض	
الحفاظ على إنتاج الطاقة من	خلايا عُطل فيها جين	مرتفع	
الجلوكوز	Bax		الفأر
الموت الخلوي	خلية عصبية	مرتفع	
التأقلم مع حالة التجويع	خلايا هيلا	مرتفع	
إزالة الميتوكوندريا التالفة	حلايا متنوعة	مرتفع	
نمو الخلية وتكاثرها	خلايا متنوعة	- مرتفع	الإنسان
زيادة الموت الخلوي	الخلايا الليفية أحادية	منخفض	
	الخلية		
الموت الخلوي	خلايا هيلا	منخفض	

تُعد قدرة الأجسام الملتهمة الذاتية على إزالة المحتويات الخلوية التالفة من أهم الوظائف، التي تقوم بها لمنع حدوث الموت الخلوي. فإزالة المواد السامة المتكونة والعضيات التالفة مهم جداً في توجيه مسارات الموت الخلوي. دلت التجارب على أن إزالة بعض العضيات الخلوية بشكل متزامن بواسطة الأجسام الملتهمة الذاتية يمنع حدوث الموت الخلوي، ولهذا فإن فشل مهمة الأجسام الملتهمة الذاتية يؤدي إلى موت الخلايا. هذا الدور الملاحظ للأجسام الملتهمة الذاتية يعتبر أحد الاستراتيجيات الخلوية للبقاء على قيد الحياة.

# الالتهام الذاتي كآلية للموت الخلوي Autophagy as cell death mechanism

يمكن تمييز الخلايا الملتكهمة Autophagic cells، التي بدأت مراحل الموت الخلوي من خلال ظهور بعض التغيرات الشكلية على العضيات الخلوية والمادة الوراثية

للخلية. كما يعد وجود الجسم الملتهم الذاتي دلالة واضحة للتعرف على الخلايا الميتة، وتمييزها مقارنة بالخلايا السليمة، والدليل على ذلك أن تثبيط عملية الالتهام الذاتي من خلال إيقاف عمل الجينات الأساسية التي تتحكم في تلك العملية يمنع حدوث الموت الخلوي. أثبتت العديد من الدراسات أن تثبيط عملية الالتهام الذاتي يؤدي إلى انخفاض معدل الموت الخلوي المبرمج عند ظروف مختلفة، فمثلاً يؤدي كبت الجين الجين Atg7 أو الجين معدل الموت الخلوي المبرمج عند ظروف مختلفة فمثلاً يؤدي كبت الجين 1929 أو الخلايا الليفية الجنينية Embryonic fibroblast المعزولة من الفئران والتي تم فيها تنشيط بعض حينات عائلة Bcl-2 مثل جيني Bax و Bak تكون مقاومة للموت الخلوي المبرمج، إلا أن هذه الخلايا تموت خلال نشاط إشارات خلوية أخرى مثل تنشيط الأجسام الملتهمة.

لوحظ أثناء عمليات الالتهام الذاتي المتسارعة أن هناك بطئاً في التخلص من الأجسام الملتهمة مما يسبب اضطرابات مؤقتة، كما أن التراكم الكثيف للأجسام الملتهمة داخل الخلايا يؤدي إلى تغيرات كبيرة في حركة النقل الخلوي Cellular trafficking، وعدم توازن الطاقة وتسرب السيتوسول خارج الخلية، بالإضافة لعدم تحلل المركبات السامة داخل الخلية. وفي ظل هذه الظروف الصعبة يؤدي تثبيط الجينات المشاركة في تكون الأجسام الملتهمة الذاتية إلى انخفاض أعدادها داخل الخلية، مما يتيح الفرصة أمام الأجسام الملتهمة الذاتي هو جزء من أنظمة الدفاع الخلوية ضد مسببات الإجهاد الخلوي بل الداخلية والخارجية، لذلك لا يقتصر دور الأجسام الملتهمة فقط على الموت الخلوي بل تعمل كذلك على التهام الميكروبات والتخلص منها مما يعزز دورها في الخفاظ على حيوية الخلايا وبقائها على قيد الحياة.

### الآلية الجزيئية للالتهام الذاتي: Molecular mechanism of the autophagy

ما زالت الآليات الجزيئية لالتهام الخلايا الميتة غير مفهومة بشكل كامل على الرغم من المحاولات المستمرة التي يبذلها العلماء في هذا الاتجاه لإيجاد بعض

الأحداث المشتركة بين تنظيم عمليتي الالتهام الذاتي والموت الخلوي المبرمج مثل تتبع مسارات بعض البروتينات مثل Bcl-2 و Bcl-1 ومن النتائج التي تم الحصول عليها أن بعض بروتينات عائلة Bcl-2 مثل Bcl-2 مثل Bak و Bak تلعب دوراً مهما لمقاومة الموت الخلوي المبرمج من خلال تنظيم حركة جزيئات الموت الخلوي الأولية الأحرى. قصور عمل البروتينات Bak و Bak أو تنشيط Bcl-2 يؤديان إلى مقاومة محفزات الموت الخلوي المبرمج، كما أن ارتباط Bcl-2 مع Bclin-1 يمنع تنشيط الأحسام الملتهمة الذاتية بينما تعطيل الجين Bcl-2 مع Bclin-1 يقللان من نشاط Bcl-2 الخلوي المبرمج، كما أن ارتباط Bcl-2 مع Bclin-1 يقللان من نشاط Bcl-2 مما بالملتهمة الذاتية، وبالتالي حدوث عملية الموت الخلوي، عما يسبب كثافة الأحسام الملتهمة الذاتية، وبالتالي حدوث عملية الموت الخلوي، الموت الخلوي بل قدرته كذلك على منع زيادة عملية الالتهام الذاتي. إن الجزيئات المنظمة لالتهام العضيات الميتة تدعم الرأي السائد بأن زيادة معدل عملية الالتهام الذاتي ربما تؤدي إلى تحلل عوامل أخرى مهمة في حياة الخلية وحمايتها، فعلى سبيل المثال: يؤدي تثبيط إنزيم الكتاليز Catalase بواسطة عملية الالتهام الذاتي إلى تجمع حدوث المؤات الأكسجين الحرة Bcl-2 مياسب حدوث الموت الخلوي المبرمج.

# الالتهام الذاتي وعلاقته بالموت الخلوي والسرطان

#### Autophagy: cellular death and cancer

هناك علاقة بين السرطان وعملية الالتهام الذاتي، تتضح من خلال علاقة عملية الالتهام الذاتي بالموت الخلوي، حيث يتجلى الدور المزدوج لعملية الالتهام الذاتي، فلها دور مضاد للسرطان Pro-oncogene ودور آخر كعامل سرطان أولي Pro-oncogene، والمفارقة الواضحة تكمن في وظيفة الالتهام الذاتي خلال الأحداث الحيوية لمرض السرطان. فدور الالتهام الذاتي كمضاد للسرطان يتمثل في أنه يقلل من تكاثر الخلايا وعدم استقرار الدنا

وربما يسهل عملية النخر الخلوي (التنكرز). كما أن حالة الالتهام المرتبطة بالتنكرز تولد نوعاً من تحفيز نمو الخلايا السرطانية، وفي المقابل فإن دوره كعامل سرطان أولي يتمثل في أن نشاط الأجسام الملتهمة الذاتية يعتبر ضرورياً لحياة الخلايا داخل مركز الورم السرطاني، وكذلك بمثابة دفاع ضد التلف الناتج بفعل المعاملة بمضادات السرطان. إن تثبيط عمل الأجسام الملتهمة الذاتية هو خاصية مشتركة في العديد من الخلايا السرطانية، بل يعد أمراً ضرورياً للحفاظ على فعالية الخلايا السرطانية.

هناك عدة آليات مقترحة لتفسير تأثير عملية الالتهام الذاتي كمضاد للسرطان. فعلى سبيل المثال عند التحول من عملية الهدم الأيضي Catabolism إلى عملية البناء الأيضي Anabolism أثناء انخفاض الالتهام الذاتي سيزيد نمو وانقسام الخلايا وتقدم حالة السرطان، كما يمكن أن يؤدي انخفاض الالتهام الذاتي كذلك إلى تحفيز نمو الخلايا السرطانية، ولهذا يؤدي تثبيط عملية الالتهام الذاتي إلى تثبيط موت الخلايا بواسطة آلية الموت الخلوي المبرمج وتنشيط الموت الخلوي بالتنكرز.

أثبتت الدراسات أن إضعاف Impairment أو تثبيط عملية الالتهام الذاتي للخلايا الطلائية للفأر يزيد تلف الدنا، واضطرابات الجسم المركزي Centrosome، وانحرافات كروموسومية تركيبية، وزيادة نشاط بعض الجينات، كل هذه التغيرات مرتبطة بزيادة نمو الخلايا السرطانية. ومن التفسيرات المقبولة أيضا لتوضيح دور عملية الالتهام الذاتي المضاد للسرطان أن مسار الهدم الأيضي يلعب دوراً مباشراً في التحكم السلبي لنمو الخلايا السرطانية ربما من خلال تحلل عضيات خلوية معينة أو تحلل بروتينات أساسية تتحكم في تنظيم نمو الخلايا. ومما يدعم هذا الرأي أن تعبير الجين 1-Beclin يبطئ نمو الخلايا السرطانية دون التأثير على الموت الخلوي. تتداخل Overlap الإشارات الخلوية اللنظمة لعمليات النمو والتكاثر الخلوي وإشارات الحياة والموت الخلوي. كما أن أنواع مختلفة من الخلايا السرطانية قادرة على تنشيط أو تثبيط عملية الالتهام الذاتي بحسب مرحلة النمو التي وصلت إليها الخلية تنشيط أو تثبيط عملية الالتهام الذاتي بحسب مرحلة النمو التي وصلت إليها الخلية

السرطانية. فبعض الجينات المثبطة للأورام السرطانية مثل  $P^{53}$  تمارس تأثيراً مزدوجاً على عملية الالتهام الذاتي، على العكس من الدور الذي يؤديه بروتين  $P^{53}$  في النواة، فإن هذا البروتين يعمل في السيتوبلازم على تثبيط عملية الالتهام الذاتي في خلايا الإنسان والفئران والغئران الخيطية، مما يجعل وظيفة هذا البروتين أكثر تعقيداً، فعمله لا يقتصر فقط على تثبيط الجينات المضادة للموت الخلوي المبرمج مثل  $P^{53}$  وتنشيط تعملية الالتهام عملية الالتهام الذاتي. تشير دراسات حديثة أن دور البروتين  $P^{53}$  ما زال غير واضح بشكل دقيق، إلا أن ما تم التوصل إليه يزودنا بمؤشرات واضحة حول مسارات الإشارات الخلوية المشتركة بين عملية الالتهام الذاتي والعيوب التنظيمية لبروتين  $P^{53}$ .

تخضع عملية الالتهام الذاتي لتأثير العديد من العوامل المختلفة مثل الإجهاد التأكسدي، وتراكم الجذور الحرة وغيرها من العوامل، مما يجعل هذه العملية الحيوية تلعب أدواراً متعاكسة فتعمل أحياناً كعوامل مضادة للسرطان وأحيانا أحرى كعوامل مفادة للسرطان وأحيانا أخرى كعوامل مغفزة للسرطان خلال مراحل مختلفة من نمو الخلايا السرطانية، وضمن ظروف بيئية محيطة بتلك الخلايا. وعليه فإن عملية الالتهام الذاتي ليست فقط عملية ابتلاع لمواد أو عضيات تالفة أو ميكروبات أو نحو ذلك، بل تشمل كذلك عملية تحلل تلك العناصر التي تم ابتلاعها. كما أن زيادة معدل حدوث هذه العملية الحيوية تؤدي للموت الخلوي.

## لالفصل لالثامن

# التخلص من الخلايا الميتة Clearance of apoptotic cells

إن الخلايا التي تخضع لأحداث الموت الخلوي المبرمج خلال مراحل النمو أو الاتزان النسيجي أو في الحالات المرضية، سيتم التخلص منها بواسطة خلايا متخصصة الاتزان النسيجي أو في الحالات المرضية، سيتم التخلص منها بواسطة خلايا ألمسمى البلعميات Professional cells والتي يطلق عليها أحياناً مسمى البلعميات أو الخلايا البلعمية Phagocytes ، وذلك من خلال عدة خطوات سيتم توضيحها لاحقاً. كما يتم أيضاً التخلص من الخلايا الميتة بواسطة خلايا غير متخصصة—Non-Brofessional cells ، والطلائية Endothelial ، والعضلية الملساء (الناعمة) والعضلية المناك خلايا أخرى تقوم بنفس المهمة. سيتم في هذا الفصل توضيح عمليات فصل وعزل الخلايا الميتة كخطوة رئيسية للتخلص من تلك الخلايا. الجدير بالذكر، أن هناك دلائل تؤكد أن أي عيوب قد تطرأ على عمليات التخلص من الخلايا الميتة يمكن أن تؤدي إلى حدوث أمراض والتهابات مزمنة وأمراض دات صلة بالجهاز المناعي الذاتي Autoimmune system.

يتم التخلص وبسرعة من الخلايا الميتة في كل الكائنات الحية بما فيها الكائنات التي لا تمتلك خلايا أكولة. الخلايا التي لا تمتلك خلايا أكولة لديها آلية أحرى للقيام بهذه المهمة، من خلال عمليات امتصاص أو تشرب الجزيئات الكبيرة -Macro . لقد خضعت عملية التخلص من الخلايا الميتة لدراسات مكثفة خصوصاً

الخلايا الأكولة المتخصصة مثل البلاعم الكبيرة Macrophages. عندما تموت الخلايا فإنحا تُزال، ويتم التخلص منها بواسطة خلايا مجاورة من نفس النسيج. فمثلاً أثناء التكوين المبكر للأجنة يتم التخلص من بعض الخلايا، التي أدت وظيفتها التي وجدت من أجلها وانتهى دورها، كما يتم التخلص من الخلايا التي أصيبت بضرر حتى لا تؤثر على خلايا النسيج الأخرى أو أن الخلايا أصبحت هرمة ولم تعد تؤدي دورها المنوط بها بصورة طبيعية. يلي إزالة الخلايا الميتة تعويض لتلك الخلايا واستبدالها بواسطة الانقسام الخلوي، بحيث يظل النسيج في حالة سليمة ومتوازنة، فالأعضاء وتكوينها ونموها تتطلب إعادة تنظيم وتحول مستمر. عند الأفراد البالغين يكون معدل التحول في النمو أكثر أثناء عمليات تكون الأعضاء (التعضي) Organogenesis، كما في مراحل تكون الدماغ في الثدييات حيث تتم إزالة حوالي ٥٠٪ من الخلايا أثناء النمو.

عملية إزالة الخلايا غير المرغوب فيها ليست بالعملية السهلة، فهي من جانب عملية حرجة وذات أهمية بالغة أثناء تكون وغو الأنسجة المختلفة، ومن جانب آخر فهي تلعب دوراً أساسياً في الحفاظ على الأنسجة وتوازنها وكذلك حماية الجهاز المناعي. ففي كل يوم تزال ملايين الخلايا البيضاء المتعادلة Neutrophil من الكبد والطحال بعد خروجها أو انسحابها من النسيج بواسطة عملية الالتهام الخلوي Phagocytosis. كما أن حوالي ٥٪ من الخلايا الثيموسية Treells قد تحولت إلى خلايا تائية Thymocytes ناضجة، بينما الغالبية العظمى خضعت للموت الخلوي المبرمج، وقد أطلق على هذه الظاهرة مصطلح الانتخاب السالب Negative selection، الذي يسمح بإزالة الخلايا اللمفاوية التي لها القدرة والفعّالية على تحفيز المناعة الذاتية Autoimmune.

إن تحديد نوع الخلايا التي تخضع للموت الخلوي المبرمج يقودنا إلى السؤال التالي: ماذا يحدث لو كان هناك بعض العوائق التي تمنع حدوث ظاهرة الموت الخلوي المبرمج، وبالتالي عدم التخلص من الخلايا غير المرغوب فيها؟ بداية يجب أن نتذكر أن هذه الخلايا الغير مرغوب فيها تظهر من خلال عمليات حيوية مهمة، كالتغيرات الفسيولوجية

المرتبطة بعمليات النمو والشيخوخة والحمل، وغير ذلك من مسببات وجود الخلايا الميتة أو غير المرغوب بها. كل هذه الأحداث والتغيرات وغيرها تنتج أعداداً هائلة من الخلايا، التي تفقد وتموت بواسطة آليات الموت الخلوي المبرمج. تقع الخلايا المصابة والملتهبة بشكل أو بآخر تحت سيطرة الجهاز المناعي وأحداث الموت الخلوي المبرمج، بمعنى آخر تخضع تلك الخلايا لمراقبة الجهاز المناعي. لقد تم التحقق من ذلك من خلال العديد من التحارب المختلفة داخل وخارج الجسم الحي. إن وجود أي عوائق يمكن أن تمنع حدوث ظاهرة الموت الخلوي المبرمج، وبالتالي عدم التخلص من الخلايا غير المرغوب فيها سيؤدي حتماً للعديد من الاضطرابات والأمراض خصوصاً تلك التي تتعلق بالجهاز المناعي كأمراض الانحلال العصبي كما سيذكر في الفصل الثالث عشر.

## التحرك نحو الخلايا الميتة: Migration toward dying cells

كما ذكر سابقاً فإن العديد من الخلايا المختلفة لديها القدرة على التهام الخلايا الميتة كأحد الوظائف الأساسية لتلك الخلايا. إن الخلايا التي تموت بمعدل يفوق المعدل الطبيعي سيولد اختلالات نسيجية واضطرابات في الجهاز المناعي، وبلا شك هناك علاقة طردية بين معدل الموت الخلوي المبرمج وأعداد الخلايا الملتهمة كاستجابة طبيعية لزيادة أعداد الخلايا الميتة. وهذا يقودنا إلى إدراك أن الخلايا التي تخضع لأحداث الموت الخلوي تولد إشارات محفزة وجاذبة للخلايا الملتهمة تقودها نحو مواقع الخلايا الميتة. يدعم نظرية الجذب هذه ما ذكره لوبر rable وزملاؤه من أن الخلايا المستزرعة التي تخضع للموت الخلوي تطلق إشارات كيميائية تحفز جذب الخلايا الوحيدة Monocytes ، كما تحفز إنتاج إنزيم كاسبيس-٣. لقد أدرك لوبر وزملاؤه أن الدهن الفوسفاتي لايسوفوسفاتيديل كولين (LPC) Lysophosphatidylcholine (LPC) يطلق من الخلايا الميتة من قبل الخلايا الملتهمة، ولكن الدور الذي يلعبه LPC في تسريع التهام الخلايا الميتة من قبل الخلايا الملتهمة، ولكن الدور الذي يلعبه LPC في المناء تكون إشارات جذب الخلايا الملتهمة

في الأنسجة الصلبة Solid tissues ما زال غير واضح. يوجد هناك إحتمال آخر يفسر آلية الحذب المذكورة آنفاً، وهو أن هناك مواد كيميائية معينة تسمى بالكيموكين كالمرافع المخرز من الخلايا الوحيدة مثل بروتين (MCP-1) (MCP-1) المنجم، كما يحدث في خلايا الذي يفرز من خلايا نفس النسيج أثناء الموت الخلوي المبرمج، كما يحدث في خلايا الحسم الأصفر Corpus luteum. على أي حال، سواء كانت الكيموكين تفرز مباشرة من الخلايا الميتة أو كإستجابة لوجود خلايا ميتة، فإن تفاصيل هذه العملية ليست معروفة بشكل كامل. أيضاً هناك دراسة مثيرة للإهتمام قام بحا كوزومس Koizums وزملاؤه افترضوا فيها أن هناك نيوكليوتيدات Nucleotides عنتلفة تطلق من الخلايا الميتة في الدماغ، والتي وبما تجذب الخلايا العصبية الصغيرة Microglia وتعزز نشاطها الالتهامي. بالإضافة إلى إشارات عوامل الجذب فإن التغيرات في تركيب ومميزات الغشاء الخلوي للخلايا التي تخضع للموت الخلوي المبرمج ربما تحفز نشوء إشارات كهربائية جاذبة للخلايا الملتهمة. كما تؤدي الإشارات الكهربائية دوراً مهماً في التئام الجروح ونمو الخلايا وهجرتها إلى أماكن التلف لتعويض الخلايا التالفة، التي فقدت جراء موت الخلايا أو نتيجة للجروح العارضة مثلاً، لتعويض الخلايا التالفة، التي فقدت جراء موت الخلايا أو نتيجة للجروح العارضة مثلاً، حيث يتم تكاثر الخلايا وهجرتها نحو مركز الفراغ الناشئ بسبب الموت الخلوي.

يولد التغير الجزيئي في طبيعة تركيب الغشاء الخلوي شحنة كهربائية على الغشاء الخلوي للخلايا التي تموت موتاً حلوياً مبرمجاً، وهذا ما ثبت علمياً في أنواع من الخلايا الطلائية. إن عملية التهام الخلايا الميتة والتخلص منها ما زال بحاجة إلى العديد من الدراسات والبحث العلمي المكثف من أجل فهم أكثر وأعمق لطبيعة الآليات الدقيقة، التي توجه الخلايا الملتهمة نحو احتواء الخلايا الميتة وابتلاعها والتخلص منها قبل أن تتلف أغشيتها الخلوية وتتمزق، وبالتالي تتبعثر محتوياتها وتنتشر بين الأنسجة المجاورة وتسبب لها الضرر.

## التعرف على الخلايا الميتة Recognition of dying cells

تتعرف الخلايا الملتهمة على الخلايا الميتة من خلال عدد من التغيرات والتحورات الكيميائية والشكلية التي تطرأ على الغشاء الخلوي للخلايا التي تعاني من الموت الخلوي

المبرمج. إلا أن الدراسات والأدلة المتوفرة التي تفسر تلك التغيرات ليست بالقدر الكافي الذي يمكننا من معرفة كل التفاصيل الدقيقة لتلك التغيرات والأحداث المعقدة، بل إن معظم الدراسات المتوفرة ركزت على مستقبلات التعرف Recognition receptors والجزيئات التي تعمل كعوامل رابطة بين مستقبلات خاصة موجودة على الغشاء الخلوي للخلايا الأكولة، والتي تؤدي في النهاية إلى مساعدة الخلايا الأكولة للتعرف على الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج، وبالتالي التهامها وتخليص النسيج منها. من ضمن التغيرات السطحية وأكثرها تميزاً فقدان التماثل Asymmetry للدهن الفوسفاتي فوسفاتيديل سيرين (Phosphatidylserine (PS) حيث ينتقل من طبقة الغشاء الخلوي المبرمج الدهن الثنائية العاملة للسيتوبلازم إلى الطبقة الخارجية Outer leaflet في المبرمج المبرمج المبركة. وتتضمن هذه الخطوة تنشيط حركة ثنائية الاتجاه Bidirectional للفوسفاتيديل الجارجية Flip-flop.

بالإضافة إلى PS فإن هناك جزيئات أخرى موجودة في السيتوبلازم تظهر على سطح الخلية مثل Annexin-1، وهو مجموعة من البروتينات المعتمدة على الكالسيوم ترتبط بالدهون الفوسفاتية ومنها PS، وكذلك بروتين كالريتكيولين Calreticulin الذي تنتجه الشبكة الإندوبلازمية والذي يزيد مستوى إنتاجه على سطح الخلية أثناء الموت الخلوي المبرمج، إلا أن آلية عمله ما زالت غير معروفة. تلعب الخلايا الأكولة الذاتية كذلك دوراً محورياً أثناء الموت الخلوي فهي تشاهد وبكثرة أثناء الموت الخلوي المبرمج عيث تشارك في عملية الموت الخلوي والتخلص من الخلايا الميتة من خلال تحفيز توليد طاقة تعتمد في إنتاجها على إشارات معينة، وهذه الطاقة ضرورية لإنتاج الدهن الفوسفاتي LPC وتحرك PS وانتقاله من طبقة الدهن الداخلية إلى الطبقة الخارجية. علاوة على ذلك، هناك بعض التحورات غير الموصوفة بشكل دقيق ربما نشأت بسبب عمليات الأكسدة، والتي أدت إلى وجود جزيئات معينة على سطح الخلية وتغيرات في

سلاسل جزيئات السكر والشحنات الكهربائية على سطح الغشاء الخلوي للخلايا التي تعاني من الموت الخلوي. هذه التغيرات في سطح الغشاء الخلوي إما أن تتداخل مباشرة مع المستقبلات الموجودة على أسطح الخلايا الأكولة أو ترتبط ببروتينات السيتوبلازم التي تعمل كرابط بين الخلايا الأكولة والخلايا التي ستلتهمها. إن هناك عدداً كبيراً من الجزيئات خارج الخلية تقوم معاً بتعزيز قابلية الخلايا الملتهمة على ابتلاع الخلايا الميتة وتخليص النسيج منها؛ ومن أمثلة تلك الجزيئات على سبيل المثال لا الحصر: بروتين إيقاف النمو Growth arrest-specific-6، وبيتا-٢ جلايكوبروتين السيرم PS وبروتين السيرم Serum protein-S، كل هذه البروتينات وغيرها ترتبط به كالخلايا الميتة.

افترضت إحدى الدراسات أن هناك معقداً بروتينياً كربوهيدراتياً Glycoprotein من البروتينات الرابطة ويسمى ثرومبوسبوندين Thrombospondin يحفز الارتباط بين أسطح الأغشية الخلوية للخلايا الميتة وبين الخلايا الأكولة، حيث يرتبط بمستقبل الابتلاع أو الإحتضان Ingestion receptor LRP. يلي ذلك تفاعل كيميائي بين مستقبلات الفترونيكتن Vitronectin يحفز المستقبلات المزيلة لبقايا الخلايا الأكولة.

يرتبط بروتين البنتراكسين Pentraxins كأحد بروتينات الاستجابة المناعية بالخلايا الميتة في مراحل متأخرة، حيث يقوم بروتين (C-reactive protein (CRP) بالتعرف على تلك الخلايا ويعزز من عملية ابتلاعها، حيث يرتبط بأسطح الخلايا الميتة ويؤكسد الفوسفاتيدايل كولين، كما يقوم أميلويد السيرم (SAP) Serum amyloid-P (SAP) بالارتباط بالخلايا الميتة ويحفز عملية ابتلاعها. يتحد بروتين SAP وبروتين CRP معاً ومن ثم ترتبط مع مستقبل آخر هو الجلوبين المناعي (Fcy) الساسمة في عملية وعادة توزيع الدهن الفوسفاتي PS في الخلايا الابتلاع. إن نواقل الطاقة تلعب دوراً في حركة وإعادة توزيع الدهن الفوسفاتي PS في الخلايا الميتة تمهيداً للتخلص منها.

تبين المعلومات السابقة أهمية التغيرات والتحركات التي تطرأ على PS في الغشاء الخلوي أثناء حدوث الموت الخلوي المبرمج، فقد بينت العديد من الدراسات المعملية كيفية محاصرة الخلايا الميتة كاستجابة لسلسلة من الإشارات الخلوية ومنها تلك التغيرات المكانية لله PS، وبلا شك فهناك العديد من البروتينات ذات العلاقة ترتبط به PS تحت تأثير مستقبلات نشأت لهذا الهدف. هناك اعتقاداً بأن بعض هذه المستقبلات الناشئة ليست موجودة في الأساس على أسطح الخلايا بل تتمركز في النواة ومن ثم تنتقل بشكل أو بآخر إلى الغشاء الخلوي. لذلك فهذا الاعتقاد يزيد الأمر تعقيداً وغموضاً، مما يعني الحاجة الملحة إلى مزيد من الدراسات والتجارب لتوضيح ومعرفة مكان وجود تلك المستقبلات، وفهم آلية عملها وعلاقتها بالمستقبلات الأخرى. إن هذا العدد الكبير من المستقبلات والجزيئات الأخرى إنما وُجِد لضمان حدوث عملية الموت الخلوي للخلايا المستقبلات والجزيئات الأخرى إنما وُجِد لضمان حدوث عملية الموت الخلوي للخلايا التي تعاني من أضرار خلوية أو وراثية ويجب محاصرتها والتخلص منها عن طريق الخلايا الأضرار، أو حتى لا تبقى وتضر بالنسيج أو ينشأ عنها خلايا جديدة تعاني من نفس الأضرار، أو حتى لا تتحول إلى خلايا تسلك طريق الموت بالتنكرز.

اقترح هوفمان Hoffmann وزملاؤه الباحثين نموذجاً يوضح كيفية تحرك الخلايا الأكولة نحو إشارات الانتحار الخلوية Eat-me signals المنبعثة من الخلايا التي بدأت مراحل الموت الخلوي المبرمج، هذه الإشارات الانتحارية إن صح التعبير تنبه مستقبلات الخلايا الأكولة تمهيداً لعملية الارتباط بالخلايا الميتة وابتلاعها. لقد عُرف الكثير من الجنيئات والمستقبلات التي تساهم في عملية التخلص من الخلايا الميتة، وما زالت الجهود متواصلة لمعرفة الدور الحقيقي الذي يقوم به كل واحد منها.

إن أهم ما يميز عمل الخلايا الأكوله هو قدرتها على التمييز بين الخلايا الحية والخلايا التي بدأت تعاني من أحداث الموت الخلوي المبرمج، أو حتى تلك الخلايا التي قد ماتت بشكل كامل. فالعديد من الجزيئات التي تم تجنيدها أو تطويعها في الخلايا الميتة كوسيلة للتعرف عليها من قبل الخلايا الأكولة، توجد كذلك في الخلايا الحية خاصة بعد

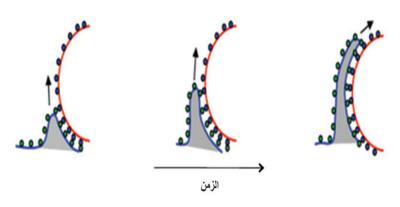
تنشيط SP أو CRT. هناك أسساً للتمييز بين الخلايا الحية والخلايا الميتة وما يلى ذلك من محاصرة والتهام للخلايا الميتة، وأحد أهم تلك الأسس هو مكان تواجد وإعادة انتشار الخلايا في النسيج. العديد من التفاعلات بين ربيطات Ligands البروتينات المحتلفة متقاربة وتتطلب تفاعلات كيميائية للوصول إلى التحفيز الأمثل، وهذا ربما يؤدى إلى عملية التعرف والتشابك بين أسطح الخلايا الميتة مع الخلايا الأكولة. وعلى النقيض من ذلك هناك ما يسمى مجازاً بإشارات البقاء أو عدم الالتهام Don't eat-me signals، التي تلعب دوراً مهماً ومكملاً للتمييز بين الخلايا الميتة والخلايا الحية. من العوامل التي تساعد أيضاً في عملية تحديد الخلايا الميتة ما يسمى بجزيئات الالتصاق في الخلايا الطلائية التي تتفاعل مع مستقبلات CD31 في الخلايا الأكولة لتسهيل فصل الخلايا الميتة عن بقية خلايا النسيج الحية. ينخفض نشاط بروتين CD47 أثناء مراحل الموت الخلوي المبرمج في العديد من أنواع الخلايا، وهذا الانخفاض مقترن بتحركات SP أو CRT، ولهذا فإن الخلايا الميتة وكذلك أيضاً الخلايا الحية التي ينخفض فيها نشاط CD47 غير قادرة على الارتباط بمستقبلات التثبيط المناعى (SIRP-α) وبالتالي فهي غير قادرة على منع عملية الالتهام من قبل الخلايا الأكولة، وهذا يثير الفضول والتساؤل: هل يجب على الخلايا المستهدفة بعملية الإبعاد أو الالتهام إثبات قدرتها على البقاء على قيد الحياة ومنع حدوث عملية الالتهام؟.

# ابتلاع الخلايا الميتة Engulfment of dying cells

يمكن تمييز آليات ومسارات إشارات الموت الخلوي المبرمج، وعملية التهام الخلايا الميتة عن آلية الامتصاص أو إدخال المواد إلى داخل الخلايا من خلال بعض المستقبلات مثل 3 أو Fc وهي مستقبلات تقع على سطح الغشاء الخلوي لخلايا معينة مثل الخلايا اللمفاوية B-Lymphocytes والخلايا القاتلة Killer cells والخلايا القاتلة على وظيفة والخلايا اللي تشارك في الحفاظ على وظيفة

الجهاز المناعي. كما أظهرت العديد من الدراسات خارج جسم الكائن الحي In vitro أن عملية التهام الخلايا الميتة تتم من خلال مهاجمة الخلايا المستهدفة وتحطيمها والتخلص منها من قبل الخلايا المناعية مثل Immune-opsonized cells.

يعتمد وجود المستقبلات المناعية مثل (Fcy) أثناء عملية البلع الخلوي IgG- على تفاعلات متتالية بين هذه المستقبلات وجزيئات الأجسام المناعية المغلّفة — Pseudopods ونتيجة لهذه التفاعلات تمتد الأقدام الكاذبة Pseudopods من أسطح الخلايا الأكولة لتحتضن الخلايا الميتة التي يطلق عليها في هذه المرحلة الأجسام المبتلعة أو الملتهمة Phagosomes ويطلق على آلية الاحتضان هذه مصطلح آلية السوستة Tipper الملتهمة وسعطلح آلية السوستة الخلوي الملته أنه أثناء عملية الابتلاع فأن مستقبلات الغشاء الخلوي تظهر على هيئة نقاط خضراء اللون والربيطات Ligands تظهر على هيئة نقاط زرقاء اللون ترتبطان بشكل متتالٍ، مما ينتج عن ذلك تقدم عملية الابتلاع مع مرور الزمن (الشكل رقم ٢٦).



الشكل رقم (٢٦). يوضح تكون الأقدام الكاذبة لاحتضان الخلايا الميتة.

من الأدلة المؤيدة لاختلاف عملية ابتلاع الخلايا الميتة عن آلية الامتصاص المذكورة آنفاً، أنه أثناء عملية الابتلاع تتحد الخلايا الميتة وبعض السوائل المحيطة بما مع الغشاء الخلوي للخلايا الأكولة ليتكون الجسم المبتّلع. يبدو من الوهلة الأولى أن هذه العملية

قريبة في آليتها من عملية حيوية أخرى تسمى التشرب الخلوي للجزيئات الكبيرة «Macro-pinocytosis» فكلاهما تحورات لغرض الإدخال الخلوي Endocytosis» إلا أن الفرق بينهما هو حجم الأجسام الملتهمة وطبيعتها، وفيما يلي توضيح مبسط للتمييز بين التشرب الخلوي والبلع الخلوي:

## أ) البلع الخلوي Phagocytosis

لقد ثبت بما لا يدع مجالاً للشك حدوث ظاهرة البلع الخلوي (البلعمة) في أنواع عديدة من الكائنات وحيدة الخلية وعديدة الخلايا. يقصد بالبلعمة إدخال مواد صلبة أو غير مهضومة أو جزئيات كبيرة Macromolecules إلى داخل الخلية، وبمساعدة الأقدام الكاذبة كما في تغذية الأميبا أو في التهام الميكروبات من قبل خلايا الدم البيضاء.

### ب) التشرب الخلوي Pinocytosis

هو إدخال مواد بسيطة أو مهضومة أو جزيئات صغيرة Micromolecules للخلية. تنقسم عملية التشرب الخلوي إلى نوعين:

١-التشرب الخلوي الدقيق Micro-pinocytosis: يحدث إذا كان نصف قطر الحويصلة أو المادة المدخلة أقل من ٧٠ نانومتراً مثل الأحماض الأمينية.

7-التشرب الخلوي الكبير Macro-pinocytosis: يحدث إذا كان نصف قطر الحويصلة أو المادة المدخلة بين ١٠٠٠، نانومتر مثل جزيئات الكوليسترول. بالعودة إلى احتواء الخلايا الميتة فإنه يتم احتواء الخلايا الميتة بشكل كامل كجسم مبتلع قد يصل قطره إلى ٢٠ ميكرومتراً، وهذا أكبر حجماً مما يمكن استيعابه بواسطة عملية التشرب الخلوي، وفي رأي العلماء فلا يزال هناك احتمال لوجود طرق أخرى مختلفة لعملية الإمتصاص.

من الناحية الوراثية، ساعدت بعض الكائنات اللينة كالديدان التي يمكن تشريحها وأحذ قطاعات في خلاياها الأكولة على إلقاء الضوء على مسارات الإشارات الخلوية المتعلقة بابتلاع الخلايا الميتة. فقد تم في الديدان الخيطية C. elegans تحديد سبعة

جينات مختلفة تساهم وبكفاءة عالية في التهام الخلايا الميتة. معظم تلك الجينات تُشَفِر لجزيئات تؤدي دوراً مهماً كإشارات خلوية بدلاً من المستقبلات. كما تبين أن البروتينات التي تُشَفِر لها تلك الجينات تعمل جزئياً ضمن مسارين مختلفين من مسارات الإشارات الخلوية يلعبان دوراً في تحفيز إعادة تنظيم الهيكل السيتوبلازمي reorganization، وتنشيط إنزيمات التحلل مثل بروتين Rac-1.

تؤدي المستقبلات الغشائية دور المنظم لكثير من العمليات الحيوية المتعلقة بعمل الخلايا الأكولة ومنها التعرف على ربيطات خاصة على الخلايا الميتة ثم تبادل الإشارات بين الزوائد السيتوبلازمية وبروتينات تقوم بدور الموصلات والتي بدورها تتحكم في حركية الغشاء Actin وإعادة تنظيم ألياف الأكتين Actin حول الخلايا الميتة.

أثبت رافيكاندران Ravichandran وزملاؤه وجود علاقة بين عملية إعادة تنظيم الهيكل السيتوبلازمي وابتلاع الخلايا الميتة وهضمها، حيث بيّنوا أن بروتينات Moesin و Radixin و Ezrin: قاطع التي تتكون من ثلاثة بروتينات متشابحة هي:Ezrin و Radixin و تتقاطع مع ألياف الأكتين في الغشاء البلازمي. هذه البروتينات غنية بروابط عديدة وترتبط مع بروتينات غشائية متداخلة Integral proteins، ومع ألياف الهيكل السيتوبلازمي، وعند تنشيطها ترتبط مع الأغشية المحيطة بالخلايا الميتة membrane بالمنابط على الأعشية المحيطة بالخلايا الميتة حول آليات الابتلاع عملية تجميع وتحريك الأحسام الملتهمة. لا تزال التفاصيل الدقيقة حول آليات الابتلاع والامتصاص والتخلص من الخلايا الميتة موضع نقاش، ولكن من الواضح حتى الآن أن الإشارات الخلوية التي تؤدي إلى بلمرة ألياف الأكتين Actin polymerization وتداخلها تعتمد على مستقبلات متخصصة تتوسط تلك العمليات وتمهد لها.

## هضم وتحلل الخلايا الميتة Digestion of dying cells

ما زالت المعلومات محدودة فيما يتعلق بعملية تنظيم المرحلة الأخيرة من التهام الخلايا الميتة والتخلص منها، والأهم من ذلك جوانب الاختلاف بين هذه المرحلة وبين عمليات الالتهام الأخرى كالتهام الميكروبات والتخلص منها. هناك بلا شك مراحل

تشترك فيها العمليتان خصوصاً عملية تحلل Degradation الخلايا الميتة. بناء على النتائج التي تم التوصل إليها حول هذه الظاهرة ذكر بعض الباحثين تصوراً تقريبياً لتفسير المرحلة الأخيرة من عمليات التخلص من الخلايا الميتة، فعملية هضم الخلايا الميتة من قبل البلاعم الكبيرة يعتمد على معدل سرعة تكون ونضج الجسم المبتلع Phagosome maturation وماهيته وطريقة احتوائه، بينما التهام الميكروبات يتم ببطء مما يتيح الفرصة لتكون المستضدات (الأنتيجينات) Antigens. لقد عرف منذ زمن بعيد أن الميكروبات الداخلية Intracellular pathogens استطاعت أن تطور العديد من الآليات المختلفة لإيقاف تكون الأجسام الملتهمة Phagosomes كمحاولة للبقاء على قيد الحياة. وهذا يدعو للتساؤل فيما إذا كانت الخلايا الميتة تسلك نفس الآليات، وهل تَكُون ونضج الأجسام الملتهمة يعتمد على طبيعة الخلايا الميتة. هذه الأسئلة طرحها شيراتسوشي Shiratsuchi وزملاؤه عندما لاحظوا أن الخلايا الأكولة في التجويف البريتوني Peritoneal macrophages للفأر، الذي يفتقد للمستقبل (Toll-like receptor-4 (TLR4) تتفاعل مع الخلايا الثيموسية الميتة Apoptotic thymocytes بمعدل أسرع مقارنة بالخلايا الأكولة البرية (الطبيعية) Wild-type macrophages. هذه الملاحظات تدل على عدم وجود أي تغيرات في قدرة الخلايا الملتهمة على الارتباط أو ابتلاع الخلايا المستهدفة. من جانب آخر، اقترح بلاندر Blander وزملاؤه أن عملية البلع الخلوي للبكتيريا تضعف أو تقل كفاءتها في غياب إشارات المستقبل TLRs، بعكس ما يحدث مع الخلايا الميتة، كما افترضوا أن هناك نوعين أو مسارين لتكون ونضج الأجسام الملتهمة:

١-المسار الأول: مسار أساسي وهو ما تمت ملاحظته في التعامل مع الخلايا الميتة، وهذا مسار بطيء ولا يتأثر بالإشارات التي تم اسستقبالها من خلال TLRs.

٢ - المسار الثاني: يمكن تحفيزه كما لوحظ في البكتيريا، وهذا أسرع ويمكن تحفيزه أكثر من خلال إشارات TLRs.

تزودنا هذه الفرضيات بمعلومات عن كيفية تخلص الكائنات الحية من الميكروبات

الضارة بطريقة سريعة وذات كفاءة عالية، ومن ناحية أخرى فمن المتوقع أن يتم التخلص منها في من الخلايا الميتة بمعدل بطيء نظراً لوجود ملايين الخلايا التي يتم التخلص منها في أنسجة الكائن الحي كل يوم، فمع وجود عدداً كبيراً من الخلايا، التي تفقد من الأنسجة المصابة إلا أنه لم يلاحظ وجود أجسام ملتهمة.

الجزيئات والإشارات الخلوية المشاركة في عملية التخلص من الخلايا الميتة تكون مشغولة بوظائفها مباشرة منذ بداية العملية، وما يؤيد ذلك أن الأجسام الملتهمة المحتوية على الخلايا الميتة كانت أسرع نضجاً من تلك التي تحتوي على ميكروبات كما ثبت في العديد من الخطوط الخلوية للخلايا الأكولة بما فيها الخلايا الأكولة الأولية والناضجة وكذلك الخلايا الليفية. تم تحديد بروتين Rho كعامل مهم لنضوج الأجسام الملتهمة التي تحتوي على خلايا ميتة.

أثبتت دراسات حديثة بأن احتواء الخلايا الميتة عملية طبيعية تخص الجهاز المناعي. فاحتواء الخلايا الحية كخلايا الدم البيضاء الحامضية Eosinophils والبيضاء المناعي. فاحتواء الخلايا الحية كخلايا اللهم البيضاء الأولية بينما بعد موت تلك المتعادلة Neutrophils لا يسبب تكون وسائط الالتهاب الأولية بينما بعد موت تلك الخلايا أو خلايا الميكروبات يحفز الخلايا الأكولة الحببة Granulocytes-Macrophages الخلايا الأكولة يحفز (GM). ليس هناك أدلة قاطعة على أن إرتباط الخلايا الميتة بالخلايا الأكولة يحفز إنتاج عامل تحويل النمو (Transforming growth factor beta (TGF-β) وهو أحد السيتوكينات الذي يؤدي وظائف متعددة ومنها التأثيرات المضادة للالتهابات المستوكينات الذي المتاج عامل عنودي وظائف متعددة ومنها التأثيرات المضادة للالتهابات المتاج الخلايا الميتة، فإنتاج GF-β يؤثر على إفراز السيكلوأوكسيجينيز - TGF-β يؤثر على إفراز السيكلوأوكسيجينيز - (Cox-2) وهو أحد مضادات الالتهاب. كما أن احتواء الخلايا الميتة يحفز وسائط أخرى من شأنها تعزيز عملية بلع الخلايا الميتة.

وجود أعداد كبيرة جداً من الخلايا الميتة نتيجة للإصابة ببعض الأمراض كأمراض الرئة المزمنة مثل التليف الكيسي Cystic fibrosis وغيرها لا يعني أن وجود تلك الأعداد

الكبيرة من الخلايا الميتة كان فقط بسبب المرض، ولكن هناك سبب آخر وهو ضعف أو بطء عملية التخلص من تلك الخلايا الميتة أولاً بأول من قبل الخلايا الأكولة القريبة. فلو كانت الخلايا الأكولة القريبة تؤدي عملها كما يجب لكانت أعداد الخلايا الميتة المتواجدة أقل بكثير.

تعد التغيرات التركيبية والشحنات الكهربائية التي تطرأ على أسطح الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي هي المحفز المباشر لعملية الابتلاع، وفي الغالب فإن التهام الخلايا الميتة يُولد آليات تساهم في تفادي الضرر وإصلاحه. الجدير بالذكر أن بعض الخلايا الأكولة قد تبتلع أكثر من خلية ميتة واحدة وبشكل متكرر، وهذا ما يجعلنا نفترض أن وجود حالة نشاط ملحوظ للمستقبلات يؤثر على قدرة الخلايا الأكولة على الابتلاع، وما يلي ذلك من استجابات خلوية. كما لا يغيب عن الذهن أن الخلايا الميتة والميكروبات تتشارك في العديد من الربيطات ولكن تلك الربيطات غالباً ما تحفز استجابات خلوية متعددة ولو بشكل جزئي، وذلك لأن تلك الربيطات ثشغل متوقع مستقبلات تعرّف Recognition مشتركة.

تعمل الخلايا المتفرعة (CDs) Dendritic cells (CDs) والمناعة المتحينات أولية تجعل الخلايا تبادر بالاستجابة المناعية، وتعمل كوسيط بين المناعة الأصيلة Innate immune والمناعة التكيّفية (Apoptotic autoantigen كما تعمل الخلايا الميتة كأنتيجينات ذاتية Adaptive immune عمل يشير إلى أن عملية التحصين Immunization تؤدي أيضاً إلى استجابة مناعية، وتنتج أحسام مضادة ذاتية Auto-antibodies، ولهذا فإن عيوب عملية التخلص من الخلايا الميتة تساهم في تطوير المناعة الذاتية. كما ثبت أن الفئران التي تعرضت لإتلاف أو تعطيل المستقبلات أو الجزيئات المشاركة في التخلص من الخلايا الميتة تتعرض لأمراض المناعة الذاتية. وبالتالي فإن الفشل في التخلص من الخلايا الميتة لا يؤدي إلى تطور المناعة الذاتية ولا يكفي لبدء تنشيطها. وهذا يطرح التساؤل حول إمكانية وجود آليات أخرى للاستجابة المناعية عند وجود الخلايا الميتة.

## لالفصل لالتاسع

# الشبكة الإندوبلازمية والموت الخلوي المبرمج Endoplasmic reticulum and apoptosis

أظهرت نتائج الفحص بالجهر الإلكتروني أن الشبكة الإندوبلازمية تتألف من شبكة حويصلات وأنيييات غشائية متصلة ببعضها البعض، ومكونة نظاماً مغلقاً مرنا من التحاويف داخل السيتوبلازم في الخلايا حقيقية النواة. تعد الشبكة الإندوبلازمية امتداداً طبيعياً للغشاء البلازمي المحيط بالخلية، وتحاط تجاويفها بغشاء يشبه الغشاء البلازمي من حيث التركيب الطبقي والكيميائي، وينتشر إلى مسافات كبيرة داخل السيتوبلازم حيث تصل المسافة السطحية التي يشغلها غشاء الشبكة الإندوبلازمية أكثر من عشرة أضعاف المساحة التي يشغلها الغشاء البلازمي. يحتوي السيتوبلازم على أكثر من عشرة دائرية لا يزيد قطرها على 200 أنجستروم، تسمى الرايبوسومات التي توجد على صورتين هما: الرايبوسومات الحرة Free ribosomes والرايبوسومات المرتبطة بالشبكة الإندوبلازمية وجود أو غياب الرايبوسومات على سطحها كما يلي: الشبكة الإندوبلازمية المين الخببة والملساء (الحببة) Eranular (Rough) E.R والشبكة الإندوبلازمية غير الخببة أو الملساء (الناعمة) E.R (الناعمة) Agranular (Smooth) E.R.

## وظائف الشبكة الإندوبلازمية:

١- تجزؤ السيتوبلازم إلى أجزاء مستقلة مما يوفر الدعم الميكانيكي للسيتوبلازم

الهلامي.

٢-تقوم الشبكة الإندوبالازمية بنقل التغييرات الكهربائية والأوامر العصبية في الخلايا
 العصبة.

٣-تعد الشبكة الإندوبلازمية «جهاز دوران الخلية» إذ يتم عن طريقها تبادل المواد داخل الخلية باتجاهات مختلفة.

٤- تقوم بإزالة السمية Detoxify لبعض العقاقير ومخلفات الأيض.

٥-تساهم بشكل مباشر في عملية تمثيل البروتين.

٦- تلعب دوراً أساسياً في أيض الدهون والبروتينات الدهنية Lipoproteins.

٧-تساهم في تحرير سكر الجلوكوز من خلال عملية تحلل الجليكوجين Glycolysis.

.Steroid hormones تؤدي دور مهم في تكوين الهرمونات الستيرويدية $-\Lambda$ 

9-جما أن الشبكة الإندوبلازمية تؤدي الوظائف السابقة، فهي بلا شك سوف تتفاعل مع الخلايا المجاورة وتتعرض للكثير من الضغوط أو حالات الإجهاد وربما الاختلال الوظيفي، الذي قد ينتج عنه ظهور بعض الاضطرابات التركيبية والوظيفية مثل بجمع البروتين غير المنطوي المنطوي بشكل خاطئ Misfolded أو المنطوي بشكل خاطئ Misfolded أو عدم التوازن في بناء دهون الشبكة الإندوبلازمية أو التغيرات في الحالة الأيونية، وغير ذلك من العيوب التي قد تزيد من الضغوط أو الجهد على الشبكة الإندوبلازمية. قبل الخوض في علاقة الشبكة الإندوبلازمية بأحداث الموت الخلوي المبرمج لا بد من القاء الضوء على التحورات التي تطرأ على البروتينات بعد عملية الترجمة وقبل أن تأخذ شكلها الطبيعي الفعّال، وذلك للعلاقة المباشرة بين تحورات البروتينات وعملية الإجهاد أو الضغط الذي تتعرض له الشبكة الإندوبلازمية والاستجابات الناتجة عنه.

#### تحور سلسلة عديد الببتيد Modification of polypeptide chain

إن عملية بناء البروتين تمر بثلاث مراحل رئيسة هي: مرحلة البدءInitiation ومرحلة الانتهاء Termination. أثناء عملية الترجمة

يتم تصنيع سلاسل عديدة الببتيد (سلسلة الأحماض الأمينية)، ولكن تصنيع تلك الببتيدات لا يعني إنتاج بروتينات فعّالة أو وظيفية Functional proteins، فلا بد أن تخضع تلك الببتيدات لعدة تحورات أو تغيرات محددة قبل أن تعطي الأشكال ثلاثية الأساسية الأبعاد Three dimensional conformation الفعّالة أو ما يسمى بالبُنية الأساسية الأبعاد Native configuration. في حالات عديدة لا بد من ربط ببتيدة واحدة أو أكثر مع بعضها البعض أو مع أيونات محددة لإنتاج معقد فعّال، كما في مركب الهيموجلوبين بعضها المكون من أربع ذرات حديد مرتبطة مع بروتين الجلوبين. بروتينات أخرى لا بد أن تخضع لتحورات معينة مثل عملية التفلج Cleavage أو الارتباط التساهمي مع السكريات و / أو الدهون التي تلعب دوراً مهماً في تمركز البروتينات الموتينات الخلايا أو على الأغشية الخلوية.

#### آليات تحور أو انطواء البروتينات ومعالجتها:

هناك عدة آليات تؤدي إلى تحور البروتينات، ومن أهم تلك الآليات ما يلي: أولاً: آلية الشبرونات Chaperones mechanism

الشبرونات نوع من البروتينات الجزيئية، تعمل على تسهيل عملية الانطواء أو الانثناء الذاتي للبروتينات لتتخذ شكلها النهائي، حيث تعمل الشبرونات على بقاء سلسلة عديد الببتيد النامية ممتدة أو غير منثنية Unfolded، حتى تكتمل عملية بناء البروتين، ومن ثم تُسهل الشبرونات عملية الإنثناء الطبيعي لسلسلة عديد الببتيد دون أن تكون تلك الشبرونات جزءاً من المعقد الناتج بعد عملية الانثناء. عند غياب الشبرونات تكون الببتيدات العديدة غير المنثية أو المنثنية جزئياً غير مستقرة داخل الخلايا أو ربما تنثني بشكل غير طبيعي، وبالتالي لا تؤدي مهمتها بالشكل المطلوب أو لا تعمل نهائياً مما يولد نوعاً من الإجهاد على بعض العضيات الخلوية مثل الشبكة الإندوبلازمية. كما تعمل الشبرونات على استقرار السلاسل الببتيدية غير المنثنية خلال

انتقالها من السيتوسول إلى عضيات أخرى كالميتوكوندريا والبلاستيدات الخضراء. أيضاً تقوم الشيرونات بتجميع البروتينات التي تتكون من وحدات عديدة Multi-subunits. ترتبط الشيرونات بالببتيدات العديدة ارتباطاً عكوساً، بمعنى أنها ترتبط وتنفصل، وهذا الارتباط يستهلك طاقة ATP.

### ثانياً: الآلية الإنزيمية Enzymes mechanism

تمتلك الخلايا، بالإضافة إلى الشبرونات بعض الإنزيمات مثل الفولديز Foldase، الذي يعمل على تحفيز انثناء البروتينات من خلال تكسير وإعادة تكوين الروابط التساهمية بين الأحماض الأمينية.

#### ثالثاً: آلية التفلج Cleavage mechanism

يعد تفلج وتحور البروتينات خطوة مهمة في نضوج العديد من البروتينات. فمثلاً إزالة الحمض الأميني المثيونين، وهو غالباً ما يكون الحمض الأول في عملية الترجمة من طرف سلسلة عديد الببتيد المحتوية على مجموعة الأمين، مما يعني عدم وجود هذا الحمض في التركيب النهائي لمعظم البروتينات. تتم عملية الإزالة بعد نمو هذا الطرف مباشرة وخروجه من الرايبوسوم؛ يلي ذلك إضافة مجاميع كيميائية فعّالة مثل مجموعة الأستيل Phosphorylation أو حدوث عمليات حيوية مهمة مثل عملية الفسفرة Phosphorylation أو إضافة سلاسل من الأحماض الدهنية إلى هذه النهاية. تتجه البروتينات بعد عملية التحول إلى مكانما المخصص في الخلية لتؤدي وظائفها الحيوية المناطة بما.

نشوء أي عيوب وظيفية Dysfunctions يحفز استجابة الشبكة الإندوبلازمية لها في محاولة للتخفيف من الضغط الناتج عن تلك العيوب، وذلك من خلال طريقتين تقدفان معاً إلى العمل على زيادة القدرة الاستيعابية للشبكة الإندوبلازمية لطي أكبر كمية من البروتينات، وفي الوقت نفسه تخفيف العبء على العضيات الأحرى من خلال خفض كمية البروتين المصنعة داخل الشبكة الإندوبلازمية. يتحقق ذلك من خلال أربع طرق رئيسية هي:

۱-الاستجابة لوجود البروتين غير المنطوي من خلال تحفيز عملية النسخ لبروتينات الشبرونات المرافقة لتجاويف الشبكة الإندوبلازمية والعديد من المكونات الإفرازية الأخرى، التي تعمل على تحفيز انطواء سلسلة عديد الببتيد بشكل طبيعي والقدرة على معالجة الشبكة الإندوبلازمية.

٢-السيطرة على ترجمة البروتين لتخفيف حركة سلسلة عديد الببتيد داخل الشبكة الإندوبلازمية.

تنشيط المعقد البروتيني المحلل Proteasome المرتبط بتحلل الشبكة الإندوبالازمية.

٣- تحفيز تحلل البروتينات المبتلعة من قبل الخلايا الأكولة للتخلص من بروتينات الشبكة الإندوبلازمية الفائضة.

أدت الطرق السابقة إلى نتائج إيجابية ملحوظة تضمنت إعادة التوازن والاستقرار للشبكة الإندوبلازمية. مع العلم أن الضغط والإجهاد، الذي تتعرض له الشبكة الإندوبلازمية أدى إلى تنشيط الموت الخلوي المبرمج في بعض الكائنات عديدة الخلايا. يؤدي إجهاد الشبكة الإندوبلازمية والموت الخلوي المصاحب له في الإنسان إلى ظهور العديد من الأمراض المزمنة، مثل مرض السكر والسمنة والاضطرابات العصبية والعدوى الفيروسية والعديد من الأمراض الأحرى المرتبطة بالعيوب الوظيفية للشبكة الإندوبلازمية.

#### الاستجابة لإجهاد الشبكة الإندوبلازمية والموت الخلوي

### Endoplasmic reticulum stress response and apoptosis

الإستجابة لإجهاد الشبكة الإندوبلازمية يساعد على إعادة التوازن الطبيعي لها وحماية الخلية، ولكن عندما يكون الإجهاد أو الضغط الذي تعانيه الشبكة الإندوبلازمية قوياً جداً أو مستمراً، وينتج عنه عيوب وظيفية لا يمكن تعديلها أو التخفيف من حدتها، فإن ذلك سيقود الخلية إلى الموت الخلوي المبرمج، وبالتالي التدمير المستمر والمنظم للخلايا التي أصابحا تلف غير قابل للإصلاح وربما يطال هذا التلف كل خلايا

الكائن الحي.

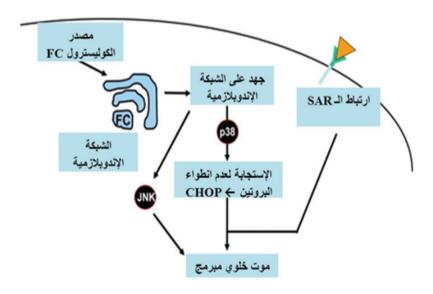
يمكن لبعض المكونات الأساسية للشبكة الإندوبالازمية أن تقوم بالتهيئة والتحضير لمراحل الموت الخلوي المبرمج عند حالة الإجهاد. على سبيل المثال: وجود الإجهاد المستمر على الشبكة الإندوبلازمية يسبب تنشيطاً طويل الأمد لأحد إنزيمات الكاينيز -Inositol requiring enzyme-1 (IRE-1) ، الذي يمتلك نشاطاً إنزيمياً داخلياً قد تحدث تغيرات في تعبير هذا الجين استجابة لتغير إشارات الإجهاد التي تتعرض لها الشبكة الإندوبالازمية. يؤدي التحسس بوجود بروتينات غير منطوية داخل تجاويف الشبكة الإندوبالازمية إلى التنشيط الذاتي لإنزيم IRE-1، مما يؤثر سلباً على منشطات عملية النسخ وإيقاف دورة نمو الخلية وتثبيط مسار الموت الخلوي المبرمج. يتم تنشيط البروتين المعزز المرتبط بأحد عناصر النسخ الثابتة(CCAAT-homologous protein (CHOP) عند حالات الإجهاد التي تصيب الشبكة الإندوبلازمية ويكون له دور الوسيط أثناء الموت الخلوي المبرمج، كما يلعب بروتين CHOP دوراً في إنتاج السيتوكين داخل الخلايا البلعمية الكبيرة. الجدير بالذكر أن كلاً من بروتين IRE-1 وبروتين CHOP يشتركان معاً في تنشيط ظاهرة الموت الخلوي المبرمج في الخلايا التي تخضع لاضطرابات فسيولوجية ومرضية. تعمل البروتينات غير المنطوية في الظروف الطبيعية على تحفيز الموت الخلوي المبرمج، ربما كوسيلة للتخلص من الخلايا القليلة التالفة والجحاورة للشبكة الإندوبلازمية، التي تتعرض لحالات الإجهاد. أما الخلايا التالفة التي لم تتعرض للموت الخلوي المبرمج فيمكن أن تسبب حالات التهاب، وعادة ما يرافق الموت الخلوي المبرمج نشاطاً عالياً للخلايا الأكولة، وبالتالي التخلص من الخلايا الميتة ومنع حدوث الالتهابات. أما في حالات إجهاد الشبكة الإندوبلازمية المزمن فيمكن أن يحدث الموت الخلوى المبرمج بشكل كبير.

الدور الذي يقوم به بروتين Apaf-1 في أحداث ومسارات الموت الخلوي المبرمج المتعلقة بالميتوكوندريا هو جزء لا يتجزأ من أحداث الموت المرتبطة بالشبكة

الإندوبالازمية. تحفز الشبكة الإندوبالازمية إنزيمات الكاسبيس من خلال آليات معتمدة بشكل مباشر أو غير مباشر على بروتين 1-Apaf ضمن مسارات مشتركة مع الميتوكوندريا. لقد كرس الباحثون جهودهم للبحث عن الآليات الجزيئية التي تربط ما بين مسار الميتوكوندريا ومسار الشبكة الإندوبالازمية، فوجدوا أن الشبكة الإندوبالازمية في الخلايا الليفية لأجنة الفأر (MEFs) Noxa وبروتين بوما Puma الإندوبالازمية في الخلايا الليفية ألفي مشارات الموت الخلوي المبرمج تحتوي على بروتينات 2-Bb نشطة، مثل بروتين نوكسا Noxa وبروتين بوما اللذين ينشطان تحت تأثير وسيطرة الجين ألاجين ومن الموت الخلوي المبرمج المعتمدة على سيطرة الجين أو ينشط بروتين والحكم وإنزيم كاسبيس- ١٢. كما لوحظ أن مستويات بروتين وأكب التي تتعرض لها الشبكة الإندوبالازمية التي تتعرض الليفية حسب حالة الإجهاد التي تتعرض لها الشبكة الإندوبالازمية التي تتعرض الذي يمارسه كل من بروتين نوكسا وبروتين بوما في الشبكة الإندوبالازمية التي تتعرض الإجهاد، تم تعطيل الجينات المشفرة لكل منهما فكانت النتيجة انخفاض دور الشبكة الإندوبالازمية في تحفيز الموت الخلوي المبرمج. وعلى العكس من ذلك وجد أن التعبير الجيني المفرط لجينات النوكسا والبوما يحفز الموت الخلوي المبرمج من خلال نشاط بروتين الهدي المهراء والنزيم كاسبيس-٧.

من الاستجابات التكيّفية لانطواء البروتينات بشكل غير طبيعي داخل الشبكة الإندوبلازمية حدوث الموت الخلوي المبرمج من خلال تنشيط تحلل بروتينات الكاينيز وعوامل النسخ وبعض بروتينات 2-Bcl. تُعد قدرة الخلايا على تحمل الاضطرابات الوظيفية في الشبكة الإندوبلازمية أمراً مهماً لبقاء تلك الخلايا على قيد الحياة، ولكن إذا أصبحت تلك العيوب أو الاضطرابات الوظيفية مزمنة ولم يتم التخلص منها فسوف يؤدي ذلك حتماً إلى موت خلوي مبرمج. بالإضافة إلى الأضرار الناتجة بفعل زيادة بناء البروتينات أو اضطرابات انطوائها أو بعض العيوب التي قد تطال عمل الشبرونات، فقد تطرأ كذلك تغيرات في تخزين الكالسيوم داخل الشبكة الإندوبلازمية أو نشوء جهد تأكسدي يسبب عدم توازن الشبكة الإندوبلازمية.

يوضح (الشكل رقم ٢٧) أحد نماذج إجهاد الشبكة الإندوبالازمية المحفز للموت الخلوي المبرمج، وهو مسار بروتين الكاينيز المنشط للميتوجين Mitogen-activated (المجلوبي المبرمج، وهو مسار بروتين الكاينيز المنشط الميتوجين protein kinases (MAPK) الخفزات مثل الصدمات الحرارية. كما يساهم في تنظيم التعبير الجيني وتكاثر الخلايا وتمايزها والانقسام الميتوزي وتنظيم معدل الموت الخلوي المبرمج. يمارس المستقبل الاستيرويدي المنشط للرنا (Steroid receptor RNA activator (SRA) دوراً في إجهاد الشبكة الإندوبالازمية من خلال تحفيز ارتباط كميات كبيرة من الكوليسترول الحر(FC) وبروتين السبكة الإندوبالازمية، مما يؤدي إلى تحفيز بروتين تنشيط الميتوجين وأحداث مهمة بالشبكة الإندوبالازمية، عمادة. تنشيط بروتين المخابطة بوظائف خلوية محددة. تنشيط بروتين الكوليسترول الذي يؤثر على المبروتينات غير المنطوية. كما أن تنشيط بروتين اللا ينظم بواسطة عملية الفسفرة استحابة للضغوط وحالات الالتهاب التي تتعرض لها الخلية.



الشكل رقم (٢٧). يوضح نموذج لمسار إجهاد الشبكة الإندوبلازمية المحفز للموت الخلوي المبرمج.

## لالفصل لالعاشر

# الكشف عن الموت الخلوي المبرمج Detection of apoptosis

عندما تتعرض الخلايا لعوامل ذات سمية حلوية و/أو وراثية فإنما تستجيب العوامل بطرق عدة، حسب نوع وشدة تأثير تلك العوامل، وتحاول الخلية بما منحها الله من آليات خلوية مختلفة أن تعادل أو تخفف من تأثير تلك المواد السامة. عند تعرض المادة الوراثية للتلف فإن هناك عدة آليات مختلفة تندرج تحت مسمى آليات إصلاح الدنا والتي تعمل على إصلاح التلف. إلا أن فشل الخلية في التصدي لتلك العوامل السامة، وكذلك عدم قدرة آليات إصلاح الدنا على تجاوز الضرر يجعلها تقرر الموت أو بتعبير أدق الانتحار بطريقة الموت الخلوي المبرمج.

لقد اكتشف العلماء والباحثون أن هناك بعض التغيرات المظهرية أو الشكلية، التي تطرأ على الحلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج. هناك أيضاً تغيرات على المستوى الجزيئي لعدد من الجينات المرتبطة بأحداث الموت الخلوي المبرمج. لقد أثبتت التجارب أن هناك تغيرات مختلفة تطال حينات البقاء Survival genes وحينات الموت الموت المحتون عدداً من الاختبارات ووقع على حد سواء. نتيجة للتغيرات المذكورة فقد طور الباحثون عدداً من الاختبارات التي صممت للكشف عن التغيرات المصاحبة لظاهرة الموت الخلوي المبرمج سواء على المستوى الظاهري أو الجزيئي، وفيما يلي أهم اختبارات الكشف عن الموت الخلوي المبرمج وأكثرها استخداماً.

### ١-الكشف بواسطة المجهر الضوئي: Light microscope

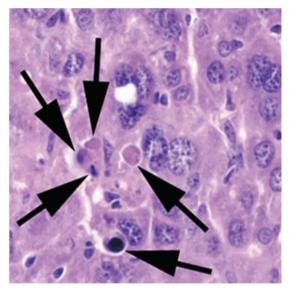
تتميز الخلايا أثناء المراحل المختلفة من الموت الخلوي المبرمج بعدد من التغيرات المصاحبة (الشكل رقم ٢٨) ، التي يمكن مشاهدتها بواسطة المجهر الضوئي، ومن أبرز تلك التغيرات ما يلى:

أ)ظهور أجسام الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis bodies (Apoptosome داخل الخلايا الإلتهامية Phagocytes.

ب) وجود خلايا داكنة اللون.

ج) ظهور أنوية متجزئة و/ أو متكثفة .

د)وجود أنوية غير منتظمة الشكل.



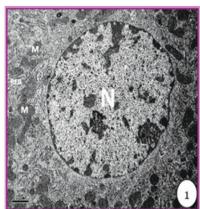
الشكل رقم (٢٨). يوضح بعض التغيرات المصاحبة للموت الخلوي المبرمج كما تظهر تحت المجهر الضوئي (المرزوق ٢٠٠٥).

### Y-الكشف بواسطة المجهر الإلكتروني: Electron microscope

يتيح المجهر الإلكتروني التعرف على طبيعة التراكيب الدقيقة Ultra structure للخلية

وعضياتها المختلفة، وبالتالي يمكن مشاهدة التفاصيل الدقيقة للتغيرات التي تطرأ على التركيب الخارجي والداخلي للخلايا المتأثرة. تم رصد بعض التغيرات التي تطرأ على الخلية التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج والتي يمكن مشاهدتها في (الشكل رقم ٢٩).





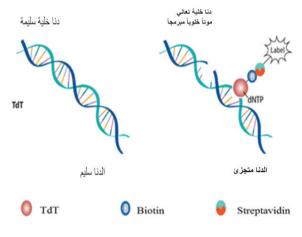
الشكل رقم (٢٩). يوضح بعض التغيرات المصاحبة للموت الخلوي المبرمج كما تظهر تحت المجهر الإلكتروني (٢٩). يوضح بعض التغيرات المصاحبة للموت الخلوي المبرمج كما تظهر تحت المجهر الإلكتروني (N) وكروماتين حقيقي منتشر Dispersed euchromatin مع تجمع واضح للكروماتين المتباين المتباين Heterochromatin تحت الغلاف النووي الداخي مع وجود عدد من الميتوكوندريا (M) والشبكة الإندوبلازمية الخشنة (RNR) السليمة. ٢- خلية مصابة تعاني الموت الخلوي المبرمج وتبدو فيها ملامح الموت واضحة فنواتها (N) منكمشة وغير منتظمة الشكل مع وجود تكثف للمواد داخل النواة، وتوزيع عشوائي للكروماتين وظهور فقاعات سيتوبلازمية. يوجد عدد كبير من الأجسام المحللة Lysosomes والقطرات الدهنية (Lb).

## TUNEL assay انكشف بواسطة اختبار تنل

TUNEL (Terminal deoxynucleotidyI transferase mediated dUTP nick end labeling) assay

يعتبر اختبار تنل من الاختبارات الشائعة والأساسية للكشف عن تجزؤ الدنا DNA

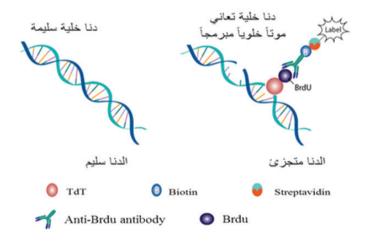
fragmentation وهذا التجزؤ بمثابة العلامة البارزة لحدوث الموت الخلوي (الشكل رقم ٣٠). يستخم في طريقة تنل التعليم الإنزيمي لنهايات أجزاء الدنا المتكسرة. فعند وجود كسور الدنا يرتفع النشاط الإنزيمي الداخلي Endonuclease، الذي يعمل على تحلل الأحماض النووية وتجزئتها إلى قطع متفاوتة الحجم. عند استخدام اختبار تنل يعمل إنزيم (Terminal deoxynucleotidyI transferase (TdT) وهو أحد مكونات طقم تنل على إضافة النيوكليوتيدات (Probes) المعكمة بالمسابير Probes إلى الكربون رقم ٣ في قطع الدنا، حيث يمكن الكشف عنها باستعمال المجهر. تم في الطرق الحديثة لهذا الاختبار دمج dUTPs محورة بإضافة مادة البيوتين Biotin أو البرومين الكشف عنها بطريقة مباشرة باستخدام الصبغات الفلورنسية مثل استخدام الصبغات الفلورنسية مثل استخدام الأجسام المضادة.



الشكل رقم (٣٠). يوضح طريقة وسم الدنا.

يتوفر حالياً طرق كشف تحتوي على إنزيمات TdT تتحد مع النيوكليوتيدات المرتبطة بالبيوتين باستخدام الأجسام Biotinylated nucleotides، حيث يتم تعليم البيوتين باستخدام الأجسام المضادة الثانوية المرتبطة بالستربتافيدين Streptavidin-horseradish peroxidase، ومن ثم تلوين تلك الأجسام المضادة الثانوية باستخدام صبغة داب(DAB)

شائعة الإستخدام كركيزة Substrate للإنزيم. يعتمد هذا الاختبار على اتحاد النيوكليوتيدات المرتبطة بالبيوتين مع مركب (Bromodeoxyuridine (BrdU) عند ذرة الكربون رقم المرتبطة بمجموعة الهيدروكسيل OH-3° في قطع الدنا، التي تتكون أثناء الموت الخلوي المبرمج. بعض من أجزاء قطع الدنا المتكونة بفعل نشاط إنزيم التحلل الداخلي تكون عارية أو مكشوفة، وباتالي يمكن تحديدها بواسطة إنزيم التحلمة لنهايات شريطي الدنا المكسورة (الشكل رقم (٣١)).



الشكل رقم (٣١). يوضح الكشف عن تجزؤ الدنا بواسطة إنزيمات TdT الموسومة في وجود الأجسام المضادة الثانوية المرتبطة بالستربتافيدين.

يطبق اختبار تنل كاختبار تأكيدي للكشف عن الموت الخلوي المبرمج في الخلايا المستزرعة وفي القطاعات النسيجية التي تفحص بعد ذلك بالمجهر الفلورسنتي Fluorescence المستزرعة وفي القطاعات النسيجية التي تفحص بعد ذلك بالمجهر الفلورسنتي microscopy. من عيوب هذا الاختبار أنه قد يعطي نتائج غير دقيقة، وذلك من خلال تحديد الخلايا التي تخضع لآلية إصلاح الدنا DNA repair أو التي تموت بطريقة النخر

الخلوي Necrosis عند تعرض الخلايا لمواد سامة تؤدي لتجزئة الدنا، ولهذا يمكن اعتبار الحتبار تنل طريقة للكشف عن تلف الدنا أو تجزؤ الدنا، كما يمكن اعتباره أيضاً وتحت ظروف محددة طريقة متخصصة للكشف عن الموت الخلوي المبرمج أو لتأكيد اختبار آخر من اختبارات الموت الخلوي المبرج.

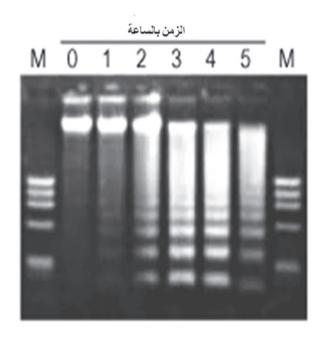
## ٤-الكشف بواسطة اختبار تجزئة الدنا: DNA fragmentation assay

ما زالت المعلومات الدقيقة حول التأثيرات السمية الخلوية والوراثية لبعض المواد الكيميائية غير واضحة بشكل تام داخل الأنظمة الخلوية، إلا أن المعلومات المتوفرة تزودنا بالأسس المستقبلية اللازمة لتحسين وتطوير وسلامة النُظم الحيوية المختلفة كأنظمة الطب الحيوي Biomedical systems.

يطرأ على الخلايا التي تتعرض للمواد السامة تغيرات شكلية كسمات لحدوث الموت الخلوي المبرمج التي ذكرت في الفصل الثاني. يتم الكشف عن قطع الدنا باستخدام طريقة الفصل الكهربائي على جل الأجاروزAgarose gel electrophoresis باستخدام طريقة الفصل الكهربائي على جل الأجاروزقطع Bands متتالية ومنفصلة عن ينفصل الدنا بفعل الهجرة الكهربائية ليكون قطع Park متتالية ومنفصلة عن بعضها البعض تبعاً لأحجامها والتي تشبه السُلم (الشكل رقم ٣٦). لذلك أطلق على هذا الاختبار سُلم الدنا وحجامها والتي تشبه اللهمة المنائج الموت الخلوي المبرمج، فتكسر الدنا إحدى الخطوات المهمة الدالة على هذه الظاهرة. حدوث تجزئة الدنا هي نتيجة لموت الخلايا بطريقة الموت الخلوي المبرمج، حيث يتجزأ الدنا إلى قطع منتظمة بطول ٥٠٥٠٠ كيلو زوج قاعدي الخلوي المبرمج، حيث يتجزأ الدنا إلى قطع منتظمة بطول ٢٠٠٠٠ كيلو زوج قاعدي يكون غير منتظم ولا يشبه السُلم.

تحفز المواد السامة إفراز إنزيم سيتوكروم-سي من الميتوكوندريا والذي بدوره ينشط محموعة من إنزيمات الكاسبيس التي تتفاعل مع بعضها وتؤثر على عوامل محددة

داخل الخلية، ومنها الدنا الذي يتحول إلى قطع منتظمة كدليل على حدوث الموت الخلوي المبرمج. أثبتت التجارب خارج جسم الكائن الحي أن مثبطات إنزيم إصلاح الدنا المعروف بـ (Poly(ADP-ribose) polymerase(PARP). تحفز تجزئة الدنا، وهذا أيضاً من الأدلة التي تؤكد حدوث الموت الخلوي المبرمج كما سيتضح لاحقاً.



الشكل رقم (٣٢). يوضح اختبار سلم الدنا.

## ه – الكشف بواسطة اختبار Poly (ADP-ribose) polymerase (PARP) assay

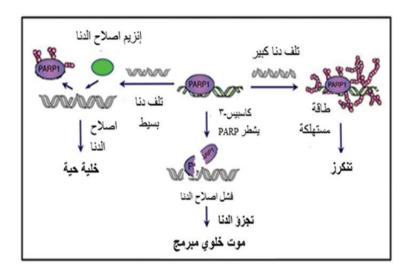
عندما تتعرض الخلايا لمسببات الموت الخلوي تنشط مسارات إشارات الموت وينشط معها العديد من الإنزيمات المشاركة في أحداث الموت الخلوي ومن أهمها إنزيمات الكاسبيس. تؤثر تلك الإنزيمات على أهداف معينة تسمى بمواد التفاعل (الركائز) Substrates، ومن أبرز مواد التفاعل التي تتأثر بمسببات الموت الخلوي أحد إنزيمات

إصلاح الدنا والذي يطلق عليه اسم Poly(ADP-ribose) polymerase(PARP). عند حدوث تلف الدنا تحدث كسور بسيطة يمكن إصلاحها بفعل نشاط إنزيم الإصلاح PARP مع بروتينات نووية أخرى استجابة لهذا التلف الذي أصاب الدنا، حيث يتعرف إنزيم PARP على مواقع كسور الدنا المفردة أو المزدوجة ويرتبط بها.

يعد تنشيط إنزيم PARP أول خطوة تتم كاستجابة لتلف الدنا. إلا أن دور إنزيم الإصلاح PARP ما زال غير مفهوم بشكل جيد، ولكن من المؤكد أنه يشارك في العديد من الاستجابات الخلوية ذات العلاقة بالضرر الناتج عن السمية الوراثية، التي ترتبط بحياة أو موت الخلية وتحولاتها وإصلاح الدنا. تتضمن التغيرات الجوهرية التي تحدد مسار الموت الخلوي المبرمج نشاط كل من إنزيم PARP والعامل المحفز للموت الخلوي المبرمج (Apoptosis inducing factor (AIF) فتنشيط اله PARP يحفز نقل AIF من الميتوكوندريا إلى النواة مسبباً تكثف وتجزؤ الدنا وبالتالي، موت الخلية. لقد أثبتت التجارب التي أجريت للتأكد من عمل ونشاط إنزيم PARP والتي استخدم فيها مثبطات لهذا الإنزيم أن نشاط إنزيم PARP ضروري لإنقاذ الخلايا بعد تعرض مادتها الوراثية لأضرار بسيطة. نشاط إنزيم PARP الإصلاحي يستهلك طاقة ATP عالية أثناء إصلاح الكسور حتى وإن كانت تلك الكسور بسيطة، ولذلك فإن تعرض الخلايا لأضرار كبيرة وكسور متعددة في الدنا، يجعل إنزيم PARP ينشط بشكل مفرط، مما يسبب استهلاك الطاقة المتوفرة بشكل كبير قد يصل لحد نفاذ الطاقة وعدم إتمام عملية الإصلاح، مما ينتج عنه زيادة تلف الدنا بشكل كبير وبالتالي تصبح الخلايا أمام خيار واحد وهو الموت بالانتحار قبل أن تتمكن تلك الخلايا من إصلاح الدنا. انتحار الخلايا مفيد للكائنات الحية قبل أن تتعرض مادتها الوراثية لمعدلات طفور عالية. بالإضافة إلى الدور الذي يقوم به إنزيم PARP في عملية إصلاح الدنا فهو يشارك في الوظائف الخلوية، التي تتضمن عمليات تكثف الكروماتين وتضاعف الدنا والتعبير الجيني والتمايز الخلوي والنسخ. الميتوكوندريا هي إحدى العضيات التي تتأثر بالمركبات السامة مما يجعلها تفقد السيطرة على نفاذيتها الغشائية فيتحرر منها إنزيم سيتوكروم سي والذي بدوره ينشط مجموعة الكاسبيس التي تنشطر إلى أجزاء إنزيمية نشطة تعمل على تكسير بروتينات فاعِلة تؤدي إلى تحطيم الخلية. إنزيم PARP أحد الركائز التي تتأثر بإنزيم كاسبيس ٣ الذي يعمل على شطر إنزيم PARP ذي الوزن الجزيئي ١٦١ كيلو دالتون إلى قطعتين إحداهما كبيرة ووزنما الجزيئي ١٩ كيلو دالتون (الشكل ووزنما الجزيئي ١٩ كيلو دالتون (الشكل رقم ٣٣). يدل انشطار أو تجزؤ إنزيم PARP على حدوث عملية الموت الخلوي المبرمج، ويمكن الكشف عن قطع إنزيم PARP باستخدام الأجسام المضادة المتخصصة، التي ترتبط بقطع إنزيم PARP الناتجة بفعل إنزيم كاسبيس ٣٠. يمكن الكشف عن حدوث الموت الخلوي المبرمج وتحديد أجزاء إنزيم PARP باستخدام الأجسام المضادة على القطاعات الموت الخلوي المبرمج وقحديد أجزاء إنزيم PARP باستخدام الأجسام المضادة على القطاعات النسيجية والمزارع الخلوية.

يحدث انشطار إنزيم PARP في الإنسان بين الحمضين الأمينيين الأسبرتات ASP 214 و الجلايسين Gly 215. كما أن أنواع الأكسجين الحرة ROS تحفز تكسير شريطي الدنا مما يؤدي إلى زيادة عالية في نشاط إنزيم PARP، الذي يستهلك الطاقة، وهذا يؤثر على العديد من العمليات الحيوية داخل الخلية مثل أداء ونشاط الإنزيمات الضرورية لعملية تحلل السكر Glycolysis ودورة كربس Krebs's cycle بنتج عنه تحفيز موت الخلية.

بالإضافة إلى دور الجين  $P^{53}$  في تنظيم الموت الخلوي المبرمج، فإنه يشترك مع إنزيم PARP في هذا التنظيم. كما يساهم إنزيم PARP في تنظيم التعبير الجيني لـ  $P^{53}$ . فعند انخفاض مستوى إنزيم PARP، ينخفض نشاط الجين  $P^{53}$ ، كما تقل حساسية الخلايا تجاه الموت الخلوي المبرمج الناتج بفعل تأثير الجين  $P^{53}$ .



الشكل رقم (٣٣). يوضح تركيب إنزيم PARP وانشطاره بواسطة إنزيم كاسبيس-٣ (Boulares et al., 1999).

#### ٦-الكشف بواسطة اختبار اللامينا: Lamina assay

اللامينا النووية Nuclear lamina بروتين شبكي ليفي يبطن الغلاف النووي الداخلي. كما يعتبر من التراكيب الجزيئية الكبيرة، وله أهمية حيوية للخلية من الناحيتين التركيبية والوظيفية، فهو يؤدي دوراً رئيسياً في العمليات التالية:

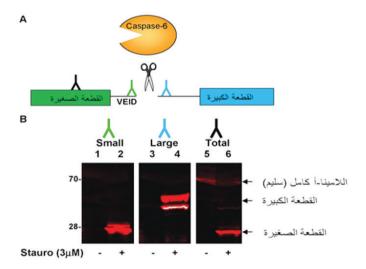
أ)تنظيم ألياف المغزل أثناء الانقسام الخلوي.

ب) يساهم في تركيب وتدعيم غلاف النواة حيث يعطي النواة شكلها وقوامها الطبيعي.

- ج)ينظم دورة الخلية وتضاعف الدنا وتنظيم الكروماتين.
  - د) ينظم نسخ ANR ومعالجة ANRm
  - ه) يساهم في تنظيم نمو الخلايا وتمايزها.
- و) يلعب دوراً مهماً في توجيه مسار الموت الخلوي المبرمج.

أثبتت الدراسات أن تطفر جينات اللامينا يؤدي إلى ظهور العديد من الأمراض الوراثية في الإنسان. توجد ثلاثة أنواع من بروتينات اللامينا هي لامينا-أ، ب،ج

Lamina—A, B, C وغيرها من المواد المحفزة للموت الخلوي المبرمج. يعد اللامينا—أ أحد ركائز Substrate وغيرها من المواد المحفزة للموت الخلوي المبرمج، فإنزيم الكاسبيس—٦، الذي ينشط أثناء المراحل الأخيرة من الموت الخلوي المبرمج، فإنزيم الكاسبيس—٦ يشطر بروتين اللامينا—أ ذا الوزن الجزيئي ٧٠ كيلو دالتون إلى قطعتين إحداهما كبيرة ووزنها الجزيئي حوالي ٥٥ كيلو دالتون وأخرى صغيرة ووزنها الجزيئي ٢٨ كيلو دالتون (الشكل رقم ٢٣). باستخدام الأحسام المضادة، يتم الكشف عن أجزاء بروتين اللامينا—أ فإذا كانت الخلية تعاني من الموت الخلوي المبرمج فإن بروتين اللامينا يتجزأ وتظهر الأجزاء أو القطع عند إجراء الاختبار، بينما إذا كانت الخلية سليمة فلا تظهر تلك القطع. وكما هو الحال في اختبار PARP يمكن الكشف عن اللامينا—أ سواء في القطاعات النسيجية والمزارع الخلوية أو باستخدام تقنية والخلايا منها تكثف النواة وتمزق غلافها وتفسخها كدليل على موت الخلية موتاً خلوياً مبرجماً.



الشكل رقم (٣٤). يوضح تركيب بروتين اللامينا وانشطاره بواسطة إنزيم كاسبيس-٣٤ (Mintzer). وفت الشكل رقم (٣٤). وفت الامينا وانشطاره بواسطة إنزيم كاسبيس-١٤ (et al., 2012)

#### ٧-الكشف بواسطة اختبار MTT assay

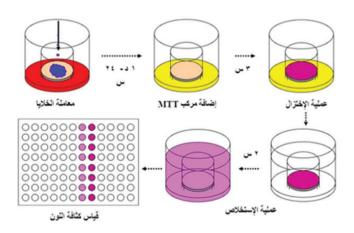
إن التقدير الدقيق لعدد الخلايا ومعدل تكاثرها مهم جداً في العديد من الاختبارات المتعلقة بالكشف عن السمية الخلوية والوراثية والموت الخلوي المبرمج، ففي الاختبارات المتعلقة بتكاثر الخلايا كاختبار-2,5-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) الاختبارات المتعلقة بتكاثر الخلايا كاختبار في عمله على التفاعل الإنزيمي، يتم اختزال المواد الملونة في الخلايا الحية لتحديد حيوية الخلايا بالطرق المعتمدة على اللون .Colorimetric methods

يقيس اختبار MTT تكاثر الخلايا وحيويتها، وهو من الاختبارات الآمنة والحساسة لقياس تكاثر الخلايا في الخطوط الخلوية Cell lines بشكل عام. لفحص الخلايا بهذا الاختبار يضاف مركب MTT (أصفر اللون) للخلايا المعاملة حيث يُختزل هذا المركب في الخلايا الحية بواسطة الإنزيم النازع للهيدروجين من السكسنيت الموجود في الميتوكوندريا Mitochondrial succinate dehydrogenase وهو أحد الإنزيمات الهامة في دورة كربس ويرتبط بالغلاف الداخلي للميتوكوندريا لينتج بعد ذلك بلورات بنفسجية اللون Purple color داخل الخلايا الحية (الشكل رقم ٣٥). يلى ذلك، إزالة المادة السامة، ثم تترك الخلايا لمدة ٢-٤ ساعات لتتكاثر وذلك بمدف التمييز بين الخلايا التي بقيت حية ولها القدرة على التكاثر وبين الخلايا التي بقيت حية لكنها فقدت قدرتما على التكاثر. يضاف بعد ذلك للخلايا مركب عضوى (مذيب) Detergent لإذابة البلورات المتكونة حتى يمكن تحديد شدة الامتصاص (الكثافة الضوئية) Optical density (OD) بجهاز تحليل الطيف الضوئي Spectrophotometer المزود بقارئ الأطباق Spectrophotometer عند طول موجى ٥٥٠-٢٠٠ نانومتر (شكل رقم ٣٦). يتم تحليل النتائج بناء على درجات الإمتصاص Absorbance التي تحدد بواسطة جهاز التحليل الطيفي في الخلايا المعاملة وغير المعاملة. إن معدل اختزال مركب أملاح الزوليوم الرباعية في مركب MTT الذي يستدل عليه من كثافة اللون الناتج يتناسب طردياً مع معدل تكاثر الخلايا الحال معرفة proliferation والذي يشار إليه بعدد الخلايا الحية Viable cells، من خلال معرفة عدد عدد الخلايا غير المعاملة وعدد الخلايا التي بقيت على قيد الحياة يمكن معرفة عدد الخلايا الميتة Dead cells. لحساب نسبة الخلايا الحية تستخدم المعادلة الحسابية التالية:

نسبة الخلايا الحية (٪) = قيمة امتصاص الخلايا المعاملة ÷ قيمة امتصاص العينة الضابطة × ١٠٠٠.

تشير قراءات الامتصاص الأقل من العينة الضابطة إلى انخفاض معدل تكاثر الخلايا والعكس صحيح. مما سبق يتضح أن اختبار MTT يقيس وظيفة الميتوكوندريا، فهذا الاختبار موجه لمعرفة مدى فقدان الخلايا لحيويتها بسبب العوامل المسببة فهذا الاختبار إلا أنه لا يخلو من العيوب، مثل تقدير تلف الدنا والموت الخلوي بأقل من المستوى الحقيقي، والسبب في ذلك أن هذا الاختبار يكشف حالة الخلية عند المراحل الأخيرة للموت الخلوي المبرمج، التي عندها يكون النشاط الأيضي عند أقل مستوياته. كما أن العدد الأدني لكسور الدنا اللازمة لنجاح هذا الاختبار غير معروف، ومع ذلك يعد اختبار MTT مفيد جداً عند تحديد كمية السمية الخلوية Cytotoxicity على المدى القصير (١-٤ أيام). لإجراء اختبار assay ينصح باستخدام عدد خلايا يتراوح ما أن تكون الميتوكوندريا سليمة في الخلايا المعاملة لكي يمكن تحويل صبغة أملاح الزوليوم الرباعية إلى شكلها المختزل. تتوفر جميع متطلبات هذا الاختبار على شكل كواشف Kits متوفرة لدى العديد من الشركات المتخصصة، التي تتضمن شكل كواشف Kits متوفرة لدى العديد من الشركات المتخصصة، التي تتضمن التركون الموراء العمل Protocol

الشكل رقم (٣٥). يوضح اختزال مركب MTT وتحوله للون الوردي.



الشكل رقم (٣٦). يوضح خطوات اختبار MTT.

#### A-الكشف بواسطة اختبار كومت Comet assay

تتأثر أنظمة إصلاح الدنا سلباً بالعديد من المواد الكيميائية السامة وغيرها من المواد الضارة والمحفزة لتلف الدنا، ولهذا ظهرت العديد من الطرق المختلفة للكشف عن تلك الأضرار، إلا أن معظم تلك الطرق يستهلك وقتاً طويلاً وجهداً كبيراً، بالإضافة

لتكلفتها العالية وقلة حساسيتها لقياس التلف، وعلى العكس من ذلك يتميز اختبار كومت بالفعالية والسرعة والحساسية العالية لتلف الدنا، كما أنه غير مكلف.

يعتمد اختبار كومت - أو كما يسمى اختبار المذنب - على الرحلان الكهربي الهلامي لخلية واحدة (Single cell gel electrophoresis assay (SCGE). هذه التقنية بسيطة وحساسة للكشف عن أضرار الدنا في خلية حقيقية نواة واحدة، فهو يحدد الكسور التي قد تحدث في شريط أو شريطي الدنا Single/double strand breaks. صمم هذا الاختبار أوستلنق عام ١٩٨٤م، ثم أضيفت إليه بعض التعديلات من قبل سينغ وآخرون عام المستخدم هذا الاختبار على نطاق واسع كإحدى التقنيات المشهورة لتقييم أضرار الدنا والسمية الوراثية والموت الخلوي المبرمج.

يتضمن اختبار كومت تغليف الخلايا بحلام أجاروز ذي درجة ذوبان منخفضة - Low يتضمن اختبار كومت تغليف الخلايا بهالام أجاروز دوجة مئوية، بحيث يتم التغليف على شريحة مخصصة لهذا الغرض تسمى بشريحة كومت Comet slide. بعد غمر الخلايا بهالام الأجاروز تتحلل الخلايا بواسطة مادة مذيبة للغلاف الخلوي مثل Triton X-100 أو غيره من المذيبات العضوية المناسبة، وفي وسط عالي الملوحة لإذابة وإتلاف البروتين الخلوي والرنا، بحيث لا يبقى سوى الدنا. ثم تحضن الخلايا في وسط معتدل أو قاعدي (13حالم) لفك حلزنة الدنا وتكوين شرائط دنا مفردة. بعد ذلك تعرض الخلايا لحقل كهربائي، وفي حالة حدوث كسور أو تجزؤ للدنا سوف تنساب (تتحرك) تلك الأجزاء سالبة الشحنة إلى مسافات متفاوتة بعيداً عن النواة على ملام الأجاروز المحيط بالخلايا المتضررة إلى القطب الآخر موجب الشحنة (الشكل رقم ٢٧٧). هلام الأجاروز المحيط بالخلايا المتضررة إلى القطب الآخر موجب الشحنة (الشكل رقم ١٧٧). التي تشكلت من قطع الدنا التي فقدت حلزنتها وأصبحت حرة تتحرك نحو القطب الموجب، التي يمكن مشاهدتها بالمجهر الفلورسنتي، حيث يتم تحليل كثافة اللون في الصور المنبعثة من الخلايا والتي تعكس مدى الضرر الذي حدث للدنا وأدى إلى ظهور الذنب أو الذيل احتا، الذي يتناسب تعكس مدى الضرر الذي حدث للدنا وأدى إلى ظهور الذنب أو الذيل احتا، الذي يتناسب طوله طردياً مع نسبة التلف، فكثافة المذنب أو الذيل تتناسب طردياً مع عدد كسور الدنا.

يبقى شريط الدنا السليم Intact DNA منتظماً ومرتبطاً بالبروتينات النووية ولا

يتحرك بعيداً عن النواة بعكس الدنا المتضرر. يمكن استخدام بعض المواد المسببة لتلف الدنا كعينة ضابطة موجبة Positive control مثل مادة إيتوبوسيد Etoposide السامة والمستخدمة كعقار مضاد للسرطان.

يكشف اختبار كومت الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج وتحتوي على كسور في الدنا. يمكن قياس حوالي ٥٠ كسراً في كل خلية من خلايا الثدييات ثنائية العدد الكروموسومي Diploid. ما يميز هذا الاختبار عن الاختبارات الأخرى أنه يتطلب عدداً قليلاً من الخلايا في حدود ١٠٠٠ خلية تقريباً، كما أنه ليس هناك حاجة لتعليم أو وسم الخلايا بالنظائر المشعة Radioisotope.

فيما يلى موجز لخطوات إجراء اختبار كومت (الشكل رقم 7 أ- ب).

١-غمر الخلايا بملام الأجاروز ذي درجة ذوبان منخفضة على شريحة كومت.

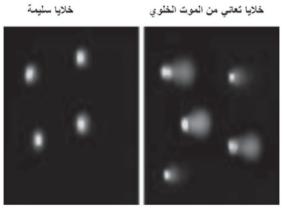
٢-معاملة الخلايا بالمحلول المحلل لإذابة الأغشية الخلوية والهستونات Histones من الدنا.

٣-معاملة الخلايا في وسط قاعدى لفك حلزنة الدنا.

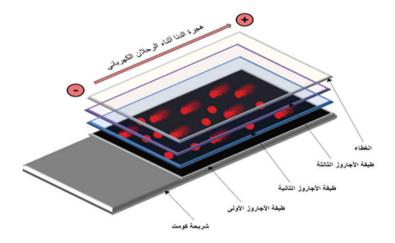
٤ - صبغ الخلايا بصبغة فلورسنتية.

٥-بدء عملية الرحلان الكهربائي.

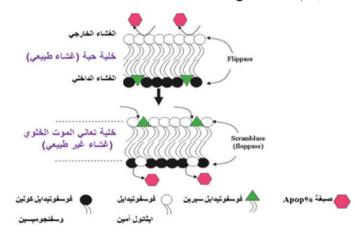
٦-فحص الخلايا تحت الجهر الفورسنتي لمشاهدة تلف الدنا على شكل ذيول.



الشكل رقم (٣٧). يوضح ظهور الذيل في الخلايا التي تعاني الموت الخلوي المبرمج بواسطة اختبار كومت (طعن (٣٧). (Lei et al., 2015)



الشكل رقم (٣٨ أ). يوضح موجز لخطوات إجراء اختبار كومت (Lei et al., 2015)



الشكل رقم (٣٨ ب). يوضع تجزؤ الدنا إلى قطع متباينة الحجم وتكون الذيل (Lei et al., 2015).

### Apopercentage assay الكشف بواسطة اختبار

يحدد هذا الاختبار ويقيس الدلائل التي تشير إلى وجود ظاهرة الموت الخلوي المبرمج في الخلايا الفردية In vitro للثدييات في المزارع الخلوية In vitro، ولا ينصح به لغير خلايا الثدييات. أثبتت الدراسات أن عمليات الموت الخلوي في خلايا الثدييات تحدث بسرعة تتراوح ما بين ٢-٤ ساعات. وهناك اختبارات عديدة لتحديد مراحل

الموت الخلوي المبكرة والمتأخرة كل على حدة كتلك التي تحدد الإنزيمات التي تَنشط في مراحل متأخرة مثل إنزيمات الكاسبيس البادئة أو الإنزيمات التي تَنشط في مراحل متأخرة مثل إنزيمات الكاسبيس المنفذة.

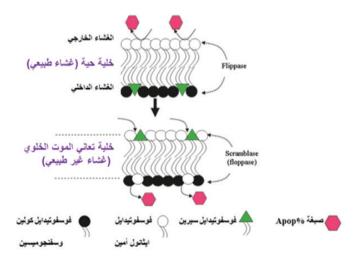
يعتمد مبدأ هذا الاختبار على تفاعل صبغة Apopercentage dye خلايا الثديبات، الذي يمتاز بطبيعته المرنة شبه السائلة Semi-fluid mosaic أو ما يسمى بالتركيب الفُسيفُسائي المائي، الذي يحتوي على العديد من أنواع الدهون الفوسفاتية ثنائية الطبقات. يوجد من تلك الدهون في الطبقة الخارجية للغشاء الخلوي فسفوتيديل كولين الطبقات. يوجد من تلك الدهون في الطبقة الخارجية، بينما يوجد في الطبقة الداخلية للغشاء الخلوي الفوسفوتيديل سيرين (Phosphatidylserine (PS)، الذي يقابل الستوبلازم. وكما هو معروف تتجه روؤس الأحماض الدهنية المكونة للدهن الفوسفاتي ذات الطبيعة القطبية معروف تتجه لمواقس اللاماء Hydrophilic للخارج بينما تتجه ذيول الأحماض الدهنية غير القطبية جعلته يحافظ على حيوية الخلايا وأنشطتها الوظيفية المختلفة، ومنها التحكم في دخول وخروج المواد من وإلى الخلية لما يحتويه من مستقبلات عديدة وبروتينات ناقلة وقنوات نقل وغير ذلك من الصفات. ولضمان استمرارية هذا الدور الوظيفي لا بد من الحفاظ على توازن مكونات الغشاء الخلوي في وضعها الطبيعي.

تتضمن الأنظمة الخلوية إنزيمات خاصة تحرك وتنقل بعض الدهون الفوسفاتية بين جانبي الغشاء الخلوي مثل الإنزيمات المحفزة للانقلاب Flip-flop التي تحفز النقل النشط للدهن الفوسفاتي من مكان لآخر في الغشاء الخلوي. لقد وجد أن الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي المبرمج تعاني في الوقت نفسه من اختلال التوزيع الطبيعي للدهون الفوسفاتية بين جانبي الغشاء الخلوي، كأن ينتقل PS من طبقة الغشاء الخلوي الداخلي لطبقة الغشاء الخلوي الخارجي بفعل إنزيم الفلوبيز Floppase، الذي يسمى كذلك سكرامبليز Scramblase. يدل هذا الانتقال على حدوث الموت الخلوي المبرمج (الشكل رقم ٣٩). لقد ارتبط تحرك وانتقال PS لطبقة الغشاء الخارجي ببداية المرحلة المنفذة

Execution phase للموت الخلوي كما ثبت من خلال التجربة باستخدام اختبار أنكسن .Annexin V

يتم الكشف على انتقال PS عبر الغشاء الخلوي باختبار Apopercentage ولا تدخل الخلايا إلا الخي تعاني من الموت الخلوي المبرمج صبغة Apopercentage dye ولا تدخل الخلايا إلا بعد حدوث انقلاب PS، حيث يتحرك PS للخارج فيسمح بدخول الصبغة للخلية وتراكمها، ومما يزيد تركيز الصبغة هو انكماش الخلية التي تعاني الموت الخلوي. يمكن حصر الخلايا المصبوغة وعدها باستخدام المجهر الضوئي أو باستخدام جهاز تحليل الكثافة الضوئية. الجدير بالذكر أن الخلايا التي تعاني من النخر الخلوي (التنكرز) Necrosis لا تصبغ.

اختبارات الموت الخلوي متعددة ومتنوعة وتستخدم عند مراحل معينة من الموت الخلوي. في بعض الأحيان قد يحدث الموت الخلوي دون حدوث تحلل للدنا أو زيادة في نشاط إنزيمات الكاسبيس. لهذا ينصح بإجراء أكثر من اختبار للكشف عن الموت الخلوي المبرمج لإثبات حدوثه من عدمه.



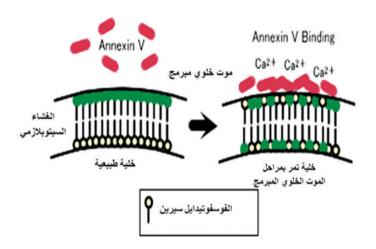
الشكل رقم (٣٩). يوضح تحرك وإعادة انتشار الدهن الفوسفاتي PS بين الغشائين الداخلي والخارجي للخلية الشكل رقم (٣٩).

### • ١ - الكشف بواسطة اختبار أنكسن Annexin V

تسبب محفزات الموت الخلوي تغيرات في تركيب الأغشية الخلوية للخلايا، التي تعاني الموت الخلوي، ومنها تحركات PS. مثل هذه التغيرات شائعة في خلايا الثدييات إلا أنها رصدت كذلك في خلايا الحشرات والنبات.

تعرف طريقة أنكسن Annexins على أنها مجموعة من البروتينات المعتمدة على الكالسيوم والتي ترتبط بالدهون الفوسفاتية، حيث ترتبط الأنكسن بأحد الدهون الفوسفاتية مثل PS كوسيلة للكشف عن الموت الخلوي المبرمج. يتواجد PS عندما تكون الخلايا سليمة وفي وضعها الطبيعي، على الطبقة الداخلية للغشاء البلازمي مقابل السائل الخلوي (Cytosol). أما إذا كانت الخلية تعاني الموت الخلوي فإن توزيع وتواجد الد PS يختل ويتغير كدلالة على نشاط أحداث الموت الخلوي المبرمج كما ذكر سابقاً.

يتشابه قياس الموت الخلوي المبرمج بطريقة الأنكسن إلى حد كبير مع إختبار الطبيعي المجرمة بداية أحداث الموت الخلوي يفقد PS انتشاره الطبيعي وينتقل إلى طبقة الغشاء الخارجية ومن ثم يمكن تحديد مكانه باستخدام الأنكسن. بمجرد ظهور PS على طبقة الغشاء الخارجية للخلية تبدأ الخلايا الدخول في سلسلة أحداث الموت الخلوي المبرمج. يرتبط اله PS وبتخصصية عالية مع أحد البروتينات المعتمدة على الكالسيوم وهو Annexin V، ومن ثم يمكن وبسهولة الستخدام صبغة فلورنسية مقترنة بالأنكسن مثل Annexin V ومن ثم يمكن البيوتين Biotin التي يرمز لها بـ Annexin V-FITC أو باستخدام مركب البيوتين المتخصصة وهو أحد أنواع فيتامين ب المركب الذي يرتبط بقوة مع الصبغات المتخصصة مثل ستربنافيدين Avidin أو الأفيدين Avidin لتحديد الفوسفوتيديل سيرين (الشكل رقم ٤٠).



الشكل رقم (٤٠). يوضح الكشف عن الموت الخلوي المبرمج بطريقة Annexin V (٤٠).

عندما ينتقل الـ PS الطبقة الخارجية للغشاء البلازمي بمساعدة الإنزيم الناقل Phagocytes عسم مرشدة للخلايا الملتهمة Aminophospholipid translocase التي بدورها تلتهم أجزاء الخلية الميتة التي يطلق عليها أجسام الموت الخلوي المبرمج. يمكن الكشف عن الموت الخلوي المبرمج في مراحله المبكرة بواسطة الأنكسن يمكن الكشف عن الموت الخلوي الأخرى المعتمدة على الدنا. كما يمكن التمييز بين الموت الخلوي المبرمج والموت الخلوي بالتنكرز في الوقت نفسه باستخدام صبغة يوديد البروبيديوم (PI) Propidium iodide (PI) جنب مع الصبغات الفلورسنتية مثل FITC المروبيديوم الخلايا التي تعاني من الموت الخلوي بالتنكرز بصبغة PI في حين تصبغ الخلايا التي تعاني الموت الخلوي المبرمج بصبغة Annexin V-FITC، ولهذا يمكن التحليل المزدوج باستخدام تقنية التدفق الخلوي المبرمج بصبغة Flow cytometry التي يطلق عليها كذلك بالفاكس المستخدام تقنية التدفق الخلوي Viable apoptotic cells والخلايا التي تعاني الموت الخلوي المبرمج بالتنكرز Plagocytes الموت الخلوي بالتنكرز Plagocytes الخلايا التي تعاني الموت الخلوي المبرمج بالتنكرز Plagocytes والخلايا التي تعاني الموت الخلوي بالتنكرز Plagocytes والخلايا التي تعاني الموت الخلوي بالتنكرز Plagocytes بأي من الصبغتين Plagocytes والخلايا الحية لا تصبغ بأي من الصبغتين Necrotic cells والخلايا المية و Phanexin V-FITC الخلايا الحية لا تصبغ بأي من الصبغتين Necrotic cells

حين تصبغ الخلايا في بداية مراحل الموت الخلوي بصبغة Annexin V-FITC فقط. الخلايا في مادين المحتبار عند ماتت فعلاً تصبغ بصبغتي Annexin V-FITC و كماية مراحل الموت الخلوي أو التي قد ماتت فعلاً تصبغ بصبغتي Deferent time points . ولهذا يفضل تطبيق هذا الاختبار عند أوقات زمنية مختلفة PI

### 1 1 - الكشف بواسطة اختبار إنزيم الكاسبيس Caspase-3 assay

ينتمي إنزيم كاسبيس-٣ لعائلة الكاسبيس، التي تضم عدة أنواع كما ذُكر في الفصل السادس. تعرّف نيكلسون Nicholson وزملاؤه على إنزيم كاسبيس-٣ عام ٥٩٩٥م، يوجد لكل نوع من إنزيمات الكاسبيس دور محدد في أحداث الموت الخلوي المبرمج، إلا أن كاسبيس-٣ يقوم بالدور الرئيسي في تلك الأحداث. يُعد نشاط إنزيمات الكاسبيس وتأثير بعضها على الآخر أمراً أساسياً في تنظيم آلية تنفيذ مراحل الموت الخلوي المبرمج.

توجد إنزيمات الكاسبيس في صورة غير نشطة تسمى إنزيمات الكاسبيس الأولية وجد إنزيمات الكاسبيس الأولية المحرضة (Procaspases (proenzymes) عندما تكون الخلايا في حالتها الطبيعية، أما إذا تعرضت الخلايا لمسببات الموت الخلوي فإن إنزيمات الكاسبيس تخضع لجملة من التغيرات الجزيئية، التي تنتهي بتحويل تلك الإنزيمات من الحالة الخاملة إلى الحالة النشطة، التي ينفصل فيها الإنزيم إلى جزئين أو تحت وحدتين Two subunits إحداهما كبيرة والأخرى صغيرة. الوزن الجزيئي للكاسبيس-٣ غير النشط حوالي ٣٢ كيلو دالتون، وبعد تنشيطه يتحول إلى قطعتين إحداهما وزنا الجزيئي حوالي ١٧ كيلو دالتون والثانية أصغر وزناً حوالي ٢٢ كيلو دالتون.

يُنْشط مسار الكاسبيس-٣ من خلال مسارات الموت الخلوي الداخلية Extrinsic يُنُشط مسار الكاسبيس-٣ من خلال مسارات الموت الخلوي الخارجية pathways هريق الميتوكوندريا، ومسارات الموت الخلوي الخارجية تتم عن طريق تطويع عوامل موت خلوية أخرى. وبما أن كاسبيس عن طريق تطويع عوامل موت خلوية أخرى. وبما أن كاسبيس المنفذة للموت الخلوي فإنه يظل بصورة غير نشطة حتى تتم

تجزئته بواسطة الكاسبيس البادئة Initiator caspase بعد تفعيل إشارات الموت الخلوي المبرمج مثل Granzyme B، وهو أحد الإنزيمات التي تفرز من الحبيبات السيتوبلازمية للخلايا التائية القاتلة Killer T-cells. تنشيط كاسبيس ٣٠ بحذه الطريقة يحفز سلسلة إنزيمات الكاسبيس الأخرى ليبدأ مسار الموت الخلوي الذي يلعب فيه كاسبيس ووراً أساسياً. فيما يتعلق بالمسارات الداخلية يعمل إطلاق إنزيم سيتوكروم سي من الميتوكوندريا بالتعاون مع كاسبيس ٩٠ والعامل المنشط للموت الخلوي 1-Apaf على تحويل كاسبيس ٣٠ من صورته غير النشطة للصورة النشطة. علماً أن كاسبيس ٣٠ يؤثر على العديد من مواد التفاعل (الركائز) مثل إنزيم إصلاح الدنا PARP وصفيحة اللامينا النووية المحديد من مواد التفاعل (الركائز) مثل إنزيم إصلاح الدنا وغيرها. يعد النشاط (التعبير) الجيني العالي لكاسبيس ٣٠ دليلاً على وجود عيوب خلوية وظيفية أو تركيبية قادت الخلية الحوي الموت الخلوي المبرمج، وعلى العكس من ذلك فإن تثبيط نشاط كاسبيس ٣٠ يمنع الخلايا من الدحول في مسار الموت الخلوي المبرمج.

يتم تحديد نشاط كاسبيس ٣- في الخلايا باستخدام كواشف Fluorogenic substrate يقوم assay kits تعتوي على مواد تفاعل فلورنسية Fluorogenic substrate، حيث يقوم كاسبيس ٣- الذي ينشط في الخلايا التي تعاني الموت الخلوي بفصل Cleaves الركيزة عما يولد توهجاً يمكن تحديدة بطرق مختلفة مثل Fluorescence reader عند طول موجي ١٠٤ خرد كاننومتر. بناء على ذلك تتناسب القراءات التي تم قياسها طردياً مع عدد الخلايا التي تعاني الموت الخلوي المبرمج في العينة المعطاة. يمكن أيضاً تحديد نشاط كاسبيس ٣- من خلال قياس التفاعل اللوني Colorimetric فعندما يؤثر هذا الإنزيم على ركيزته ينبعث منها لون يميل للاصفرار كمؤشر على مرحلة الموت الخلوي المبكرة. يمكن قياس شدة اللون بواسطة ELISA reader عند طول موجي ١٠٠٠ نانومتر تقريباً. من الجدير بالملاحظة انخفاض مستوى كاسبيس ٣- عند المراحل الأخيرة من الموت الخلوي المبرمج.

يعتبر اختبار Western-blot assay أحد الخيارات المتعددة لقياس كاسبيس-٣ واستخدامه كمؤشر للموت الخلوي المبرج وذلك باستخدام الأجسام المضادة لتحديد أجزاء (قطع) Fragments الإنزيم سواء الكبيرة أو الصغيرة أو كلاهما، وكذلك قطعة الكاسبيس-٣ السليم كاملةً في حالة عدم نشاط الإنزيم أو عدم حدوث الموت الخلوي. عادة ما يتم إجراء هذا الاختبار لتأكيد الاختبارات الأخرى والحصول على نتائج مؤكدة. كما يمكن استخدام الأجسام المضادة للكشف عن الموت الخلوي المبرمج في القطاعات النسيجية.

### لالفصل الحادي عشر

### الموت الخلوي المبرمج في خلايا الكبد

#### Apoptosis in the liver cells

يعتبر الكبد أحد أكبر وأهم الأعضاء في الجسم، وهو أكبر عضو غدي في الجسم. يلعب الكبد دوراً أساسياً في عمليات الأيض وعدد من وظائف الجسم ومن أهمها: نزع ومعادلة المواد السامة Detoxicity كإخراج بقايا وآثار الأدوية، مركز لتخزين الجليكوجين Glycogen من خلال تحول الجلوكوز الزائد إلى جليكوجين وتنظيم مستوى السكر في الدم، الحفاظ على التوازن Haemostasis الداخلي للجسم، مركز تصنيع بروتينات الدم، التخلص من الأمونيا، تنظيم بعض المسارات الكيموحيوية المرتبطة بالنمو ومواجهة الأمراض، إنتاج العصارة المرارية (الأملاح الصفراوية) التي تساعد على هضم الدهون، مقاومة العدوى عن طريق إنتاج عوامل المناعة.

ونظراً لأن الكبد يقوم بعمليات حيوية كثيرة فإن الإنسان قد يموت خلال ٢٤ ساعة من توقف عمل الكبد. يتكون الكبد من خلايا تركيبية (حشوية) ٢٤ ساعة من توقف عمل الكبدية Hepatocytes وخلايا أخرى غير تركيبية (لاحشوية) Non – parenchymal cells. تؤدي الخلايا الكبدية أغلب الوظائف الرئيسية والمهمة لعملية التوازن الداخلي للجسم، كما تعمل كخط دفاع حيوي كيميائي ضد المواد الكيميائية السامة التي تدخل الجسم مع الطعام أو الشراب ومن ضمنها ما قد يتناوله الشخص من عقاقير وأدوية ذات آثار جانبية سلبية مثل

احتوائها على مواد سامة، مما يعني أن الكبد تقوم بإعادة معالجة نواتج هضم عناصر الطعام الممتص أو ما قد يصل للجهاز الهضمي من مواد. الخلايا الكبدية خلايا نشطة للغاية وفي حالة تجدد مستمر.

تبطن الخلايا اللاحشوية الجيوب الكبدية Sinusoid والقنوات الصفراوية وتتكون تلك الخلايا من خمسة أنواع مختلفة من الخلايا هي: خلايا كوفر Kupffer cells، الخلايا اللحمية الطلائية أو البطانية Pit cells، اخلايا البحمية دلايا الجوبة أو النقرة Pit cells، الخلايا النجمية (Cholangiocytes) وخلايا الصفراء Stellate cells. تختلف هذه الخلايا في كثير من الجوانب كاختلاف خصائصها ووظائفها ومنشئها وعددها وحركتها ومظهرها. وفيما يلي نبذة مختصرة عن أنواع الخلايا الكبدية:

#### ۱-خلایا کوفر Kupffer cells

تمثل هذه الخلايا عدداً كبيراً من الخلايا البلعمية الكبيرة وهي خلايا مناعية تلتهم الأجسام الغريبة وتتواجد في أماكن مناسبة تمكنها من السيطرة على العديد من المواد المحمولة في الدم، فغالباً ما تقع بين الخلايا الطلائية المبطنة لتجويف الجيوب الكبدية. لخلايا كوفر القدرة على التخلص من سمية الكائنات الحية الدقيقة المجيوب الكبدية. والنواع أو معادلة السموم الداخلية Endotoxins والخلايا المتحللة، والمركبات المناعية، والعوامل السامة Toxic agent. كما تقوم خلايا كوفر بالتخلص من كريات الدم الحمراء الهرمة وتحطيم الميكروبات ونواتج أيض الخلايا. فيما يختص بالمناعة تشارك خلايا كوفر في تنظيم استجابة الجهاز المناعي الأصلي (الفطري)Innate immune وعملية الدفاع عن الجسم من خلال عملها كوسائط في عمليات الالتهاب Inflammatory mediators

#### Y-الخلايا النجمية Stellate cells

تمثل الخلايا النجمية حوالي ثلث الخلايا اللاحشوية وحوالي ١٥٪ من مجموع خلايا الكبد السليمة. هذه الخلايا تكون على شكل ألياف أو خيوط وذات نوى ممتدة أو متطاولة Elongated nuclei ولها شبكة إندوبلازمية متطورة وجهاز جولجي مختزل. تشارك الخلايا النجمية الخلايا الحشوية في تنظيم أيض بعض المواد.

#### ٣-الخلايا البطانية الجيبية Sinusoidal endothelial cells

تترتب الخلايا البطانية الجيبية على شكل صفائح غربالية، وهي مسؤولة عن عمليات النقل بين الدم وخلايا الكبد. تُكون هذه الخلايا جدران الجيوب الكبدية ولذلك يطلق عليها بالطلائية الداخلية أو المبطنة. تستطيع هذه الخلايا تخليص Scavenging نسيج الكبد من الجزيئات الكبيرة، ولديها القدرة على تحسس المواد الخطرة والغريبة. تلعب الخلايا الجيبية كذلك دوراً مهماً في تجديد خلايا الكبد بعد التعرض للإصابة أو التلف. تعد الخلايا النجمية مصدراً لعامل النمو في خلايا الكبد الطبيعية، ولكن في حالة الكبد المصابة يزيد التعبير الجيني لعامل النمو في الخلايا الجيبية أثناء التكاثر، ومع ذلك فإن خلايا نخاع العظم الغنية بعامل النمو تعوض النقص الذي قد يحصل في الكبد عند أصابتها.

#### ٤-خلايا النقرة Pit cells

هي خلايا لمفاوية محببة كبيرة الحجم (Liver-associated natural killer (NK) cells، ترتبط بالخلايا القاتلة الطبيعية Liver-associated natural killer (NK) cells. تقع هذه الخلايا داخل الجيوب الكبدبة ملتصقة بالخلايا البطانية الداخلية وخلايا كوفر. نشأت خلايا النقرة من نخاع العظم Bone marrow ثم انتقلت لمجرى الدم حتى استقرت في الكبد ونمت وتحولت إلى شكلها النهائي المحبب.

#### ٥-خلايا الصفراء Cholangiocytes

خلايا الصفراء عبارة عن خلايا طلائية مبطنة للقناة الصفراوية تتطاول لتصبح خلايا طلائية عمودية ومفرزة للمخاط Mucus في القنوات الصفراوية الكبيرة والأوردة البابية الكبدية. تساهم هذه الخلايا في إفراز مادة الصفراء في الكبد الطبيعية، بالإضافة إلى دورها في نقل الماء والأيونات والمواد المذابة. يوجد نوعان من الخلايا الصفراوية هما: الخلايا الصفراوية الكبيرة والخلايا الصفراوية الصغيرة، ولكل منهما أهميتة الفسيولوجية، فكلاهما يستجيب للأضرار التي تصيب الكبد. عند اضطراب عمل خلايا الصفراء تظهر اختلالات هرمونية وأمراض مختلفة.

# إشارة الموت الخلوي المبرمج في خلايا الكبد Apoptotic signalling in liver cells

تتعرض خلايا الكبد للموت الخلوي المبرمج بصورة عامة عبر ثلاثة مسارات هي: مسار خارجي، مسار داخلي من خلال الميتوكندريا، مسارات مستقبلات الموت. يتم تنظيم هذه المسارات عبر العديد من المؤثرات التي ترتبط مع مستقبلات الموت الموجودة على الغشاء الخلوي مثل Fasl، عامل النخر الورمي  $\tau$  TNF، عامل النخرالورمي المرتبط بالموت الخلوي المبرمج عامل النمو التحولي  $\tau$  TGF. تقوم تلك المحفزات أو العوامل بتنشيط المسار الخارجي من خلال تصدير إشارات داخل خلوية تشترك مع الآليات المنفذة للموت الخلوي المبرمج.

ارتباط عامل FasL أو TNF-α مع مستقبلات الموت المماثلة يحث الكاسبيس-١٠٠٨ الأولية لتكوين ما يسمى جمعقد الإشارة المحفز للموت الخلوي المبرمج. كما أن عامل TRAIL التحميل و complex (DISC) وهذا يؤدي إلى حدوث الموت الخلوي المبرمج. كما أن عامل TRAIL وTRAIL-R1 وTRAIL-R2 وTRAIL-R1 و TRAIL-R2 و TRAIL-R1 و TRAIL-R2 و TRAIL-R2 و التحفيز حدوث موت الخلايا المبرمج في النسيج المصاب أو التالف فقط ولا يحفز موت الخلايا في النسيج الطبيعي. يتم تحفيز المسار الداخلي عبر العديد من الإشارات الخلوية الخلايا في النسيج الطبيعي. يتم تحفيز المسار الداخلي عبر العديد من الإشارات الخلايا الكبدية مما يؤدي لتحرر بعض بروتينات الميتوكندريا مثل سيتوكروم-سي و DIABLO الكبدية مما يؤدي لتحرر بعض بروتينات المبرمج AIF، بالإضافة للعديد من البروتينات الداخلية وخاصة بروتينات عائلة 2-18 التي تعتبر عوامل منظمة مهمة للمسار الداخلي وتتداخل مع الإشارات الخاصة بموت أو حياة الخلايا. تشمل بروتينات عائلة 2-Bcl كلا من محفزات الموت الخلوي المبرمج Pro-apoptotic مثل Bcl-ع و الحواد و منظم الخلوي المبرمج عامل منظمة موت الوتينات كما أن للخلايا الخلوي المبرمج المناعي الموت الخلوي المبرمج المناعي المناعي المناعي المناعي مضادة الموت الخلوي المبرمج المناعي المناعي المناعي المناعي كما أن للخلايا كوفر دور منظم الخلوي المبرمج الخلايا تحت سيطرة التنظيم المناعي (Immunoregulation) كما أن للخلايا المناعي (Immunoregulation) كما أن للخلايا

الطلائية المبطنة دور في إفراز عامل Fas الذي يحث على الموت المبرمج لخلايا البطانة الداخلية داخل الجيوب الكبدية.

### آليات الموت الخلوي المبرمج في خلايا الكبد

#### Mechanisms of apoptosis in the liver cells

يكون الموت الخلوي المبرمج بشكل عام تحت سيطرة عدد من الجينات القادرة على تنشيطه أو تثبيطه، كما يتأثر بعدد من العوامل الخارجية، وقد لوحظ حدوثه في حالات مرضية متعددة. يحدث الموت الخلوي المبرمج في أي خلية من خلايا الجسم ومنها خلايا الكبد، كما يحدث في الخلايا الطبيعية أثناء نمو الكبد وتكوينه Organogenesis، ويحدث أيضاً في خلايا الكبد المتحددة وخلايا الكبد مكتملة النمو والهرّمة والتالفة أو التي تعاني من الإصابة بالفيروسات والسرطان أو حتى عند تعاطى المخدرات والأدوية السامة.

رغم قلة المعلومات حول موت خلايا الكبد المبرمج مقارنة بالخلايا الأخرى، إلا أنه تم إثبات وجود نوعين من البروتينات هما: بروتين Fas/apo-1 المتواجد على سطوح الخلايا الكبدية وبروتين Biliary cells المتمركز في الخلايا المرارية Biliary cells. تحليل الجينات المنتجة للبروتينات المذكورة دعم المعلومات القليلة المتوفرة حول آليات الموت الخلوي لخلايا الكبد والدور الذي تؤديه من خلال التحكم في مستوى التعبير الجيني لهما. يعتبر تحديد النسبة بين معدل حدوث الموت الخلوي المبرمج ومعدل نمو وانقسام خلايا الكبد أمراً بالغ الصعوبة، ولا يمكن التحقق من ذلك بسهولة، حيث يمكن فقط معرفة حوالي أمراً بالغ الصعوبة، ولا يمكن التحقق من ذلك بسهولة، حيث يمكن فقط معرفة حوالي تختلف باختلاف عملية التغذية. فقد أثبتت الدراسات التي أجريت على بعض فصائل الفئران التي تم فيها تعطيل الجين Fas أن هناك إنتاجاً هائلاً من الخلايا اللمفاوية يصاحبه تضخم كبير في الكبد ومن جانب الخلايا الكبدية ومن جانب تصخم كبير في الكبد في الكبد تشير بعض الدلائل أن عدد الخلايا التي تتعرض للموت الخلوي المبرمج في الكبد

قد تكون هي المسؤولة ولو بشكل جزئي عن الوظيفة المناعية للكبد.

تمثل خلايا كوفر حوالي ٨٠٪ من الخلايا الأكولة Macrophages داخل جسم الكائن الحي، وعليه فمن المنطقي أن يكون الكبد هو العضو المتخصص لتحفيز وتنشيط أو التخلص من الخلايا التي خضعت للموت الخلوي المبرمج ومن المحتمل أن تكون خلايا كوفر هي المسؤولة عن التحمل المناعي للكبد Immune tolerance. أظهرت الدراسات التي أجريت على أكباد بعض الفئران أن هناك تغيرات في آليات الموت الخلوي المبرمج ترافق حالات الشيخوخة، ومنها وجود بعض التغيرات الإنزيمية التي تطرأ على نشاط إنزيم كاسبيس-٣ وتحرر إنزيم سايتوكروم-سي. بالإضافة إلى وجود تغيرات شكلية في عضيات ومكونات الخلايا التي تخضع للموت الخلوي المبرمج، وعلى المستوى الجيني هناك زيادة في التعبير الجيني لله Bax والـ BcI-2، مع عدم وجود تغيرات في اله Bax وكاسبيس-. لقد وجد أن المعاملة بالميلاتونين Melatonin وهو هرمون تفرزه الغدة الصنوبرية ويوجد في جميع خلايا الكائن الحي، يساعد على تخفيف التغيرات السابقة، مما يؤكد أن موت خلايا الكبد المبرمج يزداد وينشط في وجود أنواع الأكسجين النشطة ROS، التي تنشط في وجود العوامل المؤكسدة. ومع ذلك، ما زال الباحثون يرون أن الموت الخلوي المبرمج يمارس دوراً مزدوجاً فهو أداة مهمة لتخليص النسيج من أعداد الخلايا الزائدة أو التي فقدت وظيفتها كلياً أو جزئياً بتقدم العمر، كما أن له دوراً تدميرياً عندما يزيد عن المعدل الطبيعي، مما يقلل وظيفة العضو الذي تقدمت خلاياه بالعمر.

## الموت الخلوي المبرمج والتليف: Apoptosis and fibrosis

يبدأ تليف الكبد بتكون ندبات Scars، وفي هذه المرحلة يسمى تليفاً كبدياً جزئياً المنات على Fibrosis يصاحبه تغيرات نسيجية والتهابات، ولكن عندما تنتشر هذه الندبات على كامل أجزاء الكبد وتتليف بالكامل فيسمى تليفاً كاملاً Cirrhosis. النسيج المصاب بالندبات لا يستطيع أن يقوم بعمله مثل النسيج الطبيعي، وبالتالي فإن الشخص

المصاب بالتليف يبدأ يعاني من الأعراض تدريجياً.

تنشط الخلايا النجمية عند تلف الكبد نشاطاً عالياً وتحفز زيادة بناء الحشوة خارج الخلية (Extra cellular matrix (ECM) وزيادة ألياف الكولاجين في الفراغات التي نشأت بين خلايا الكبد، مما يسبب نقصاناً في ضخ الدم للخلايا، مما يسبب تصلبها. لقد تم تصنيف مستويات تليف الكبد إلى عدة مراحل Stages تبدأ من الصفر حتى المستوى الرابع حاك - SO. مستوى صفر يعني عدم وجود تليف، والمستوى الأخير يعني وجود تليف كامل. الجدير بالذكر أن للجسم قدرة عالية على التشافي تلقائياً من كثير من الأمراض، وتعتبر خلايا الكبد واحدة من أكثر الخلايا القادرة على التجدد Re-generable.

للموت الخلوي دور في تليف الكبد، ولكن التفاصيل الدقيقة لهذا الدور غير مفهومة بشكل كامل. تليف الكبد أو تشمع الكبد، هو مصطلح للتعبير عن الكبد الذي استبدل نسيجه السليم بنسيج ليفي أو ندبات Scars عما يجعل الكبد يفقد وظيفته. يحدث تليف الكبد إثر الإصابة بمرض كبدي مزمن، يُلحق الضرر المستمر بالكبد ويسبب فشله في نهاية المطاف. إن أكثر الأسباب شيوعاً للإصابة بتليف الكبد هو التهاب الكبد الوبائي من نوع بي أو سي، وتناول المشروبات الكحولية، بالإضافة إلى العديد من الأسباب الأخرى. تظهر أعراض ومضاعفات عديدة عند تليف الكبد ومن أبرزها حالات الاستسقاء واليرقان (لون الجلد الأصفر). يركز العلاج على منع تفاقم المرض ومضاعفاته. التليف البسيط قد يتطور ويؤدي إلى مرحلة التليف التام مع حدوث ضمور في الكبد، مما يتوجب معه زرع كبد في كثير من الحالات المتقدمة.

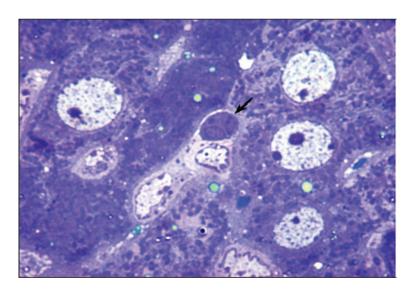
العلاقة بين حدوث تليف الكبد والموت الخلوي المبرمج مبهمة في بعض جوانبها إلا أنه يوجد عوامل محفزة لحدوث الموت الخلوي المبرمج في خلايا الكبد. يتم التهام بقايا الخلايا التي خضعت للموت الخلوي من قبل خلايا كوفر والخلايا النجمية، ويصاحب ذلك نشاط للجينات التي تساعد على حدوث التليف والتي يطلق عليها Genes فذلك نشاط للجينات التي تساعد على حدوث التليف والتي يطلق عليها Profibrogenic

يحدث تحفيز أكثر لموت خلايا الكبد وخروج الكيموكينز Chemokines مع استمرار نشاط الخلايا النجمية. يلعب تنشيط الخلايا النجمية دوراً مهماً في تلك العملية من خلال التحول إلى خلايا متليفة تشبة الخلايا العضلية الملساء.

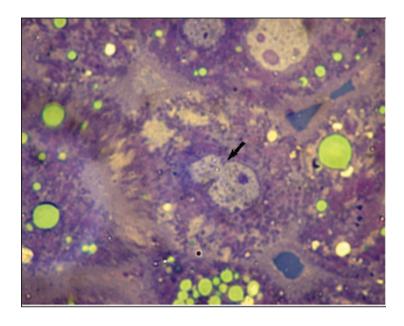
## التغيرات الخلوية والنووية المصاحبة للموت الخلوي المبرمج

#### Cellular and nuclear changes associated with apoptosis

أظهرت الفحوصات التي أجريت على أكباد الفئران المعاملة بثالث أكسيد الزرنيخ أظهرت الفحوصات التي أجريت على أكباد الفئران المعاملة بثالث أكسيد الزرنيخ Arsenic trioxide  $(As_2O_3)$  الحلوي المبرمج في قطاعات شبه رقيقة في الكبد، من أهم تلك التغيرات ظهور أجسام الحوت الحلوي المبرمج بعد ابتلاعها من قبل خلايا كوفر، الأنوية المتجزئة Fragmented الموت الحلوي المبرمج بعد ابتلاعها من قبل خلايا كوفر، الأنوية المتحزئة nuclei والغير منتظمة الشكل المتحود الشكلان رقم 1 ك و 2 ك).



الشكل رقم (٤١). يوضح أجسام الموت الخلوي المبرمج بعد ابتلاعها من قبل خلايا كوفر في خلايا كبد الفأر كما يشير السهم (المرزوق ٢٠٠٥).



الشكل رقم (٤٢). يوضح حدوث تخصر عميق مع تجزؤ لغلاف أنوية الخلايا الكبدية استعداداً للانفصال التام في خلايا كبد الفأر كما يشير السهم (المرزوق ٢٠٠٥).

# اللفصل اللثاني عشر

# الموت الخلوي المبرمج في خلايا الدم Apoptosis in the blood cells

قبل الخوض في كيفية حدوث الموت الخلوي المبرمج لخلايا الدم لا بد من التطرق وبشكل موجز لمكونات الدم وبعض الخصائص العامة لخلايا الدم. تسبح حلايا الدم في الثدييات في وسط سائل، تمثل الخلايا حوالي ٤٠-٥٤٪ من الحجم الكلي للدم، كما يحتوي حسم الإنسان البالغ على حوالي ٥-٦ لترات من الدم.

## مكونات الدم Blood components

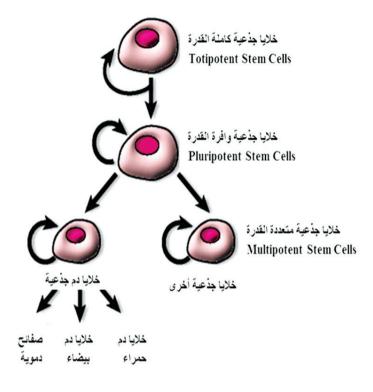
يتكون الدم من أربعة أجزاء هي: البلازما، خلايا (كريات) الدم الحمراء، خلايا (كريات) الدم البيضاء، الصفائح الدموية. وفيما يلى نبذة مختصرة عن كل منها:

أولاً: البلازما Plasma: البلازما مادة سائلة لزجة شفافة حداً تميل للاصفرار، تنقل الماء والأملاح، والمواد الغذائية المختلفة. تتكون البلازما من حوالي ٩٠٪ ماء و٠١٪ مواد ذائبة.

ثانياً: خلايا الدم الحمراء Erythrocytes : تكون كريات الدم الحمراء على هيئة أقراص مقعرة الجانبين وقطرها يتراوح ما بين  $\Lambda-\Lambda$  ميكرومتر وسمكها حوالي  $\Lambda-\Lambda$ 0 ميكرومتر، وعددها حوالي  $\Lambda-\Lambda$ 0 مليون لكل مللتر مكعب. تحتوي خلايا الدم الحمراء على الهيموجلوبين ذي اللون الأحمر المكون من بروتين الجلوبين الملتربط مع أربع

ذرات حديد Heme. ترتبط مجموعة الحديد الموجودة في الهيموجلوبين Hemoglobin مع عنصر الأكسجين  $\mathbf{0}_2$  في الرئة وتحرره بعد ذلك في الشعيرات الدموية للحسم حيث يكون تركيز أو ضغط الأكسجين منخفضاً. وبالمقابل ينتقل ثاني أكسيد الكربون  $\mathbf{0}_2$  من الخلايا إلى الدم حيث يتحد مع الهيموجلوبين وينتقل إلى الرئة حيث يتحرر هناك ويخرج مع هواء الزفير.

تنشأ خلايا الدم الحمراء البالغة في الثدييات بما فيها الإنسان من خلايا الدم الجذعية Stem cells (الشكل رقم ٤٣) وتتحول إلى الخلايا الناضجة خلال أسبوع تقريباً، وتعيش حوالي أربعة أشهر فقط ولا تنقسم لعدم احتوائها على نواة. عندما تكون خلايا الدم الحمراء يافعة يكون غشاؤها البلازمي أملس ناعماً، لكن عندما تمرم أو تتقدم في العمر تظهر عليها بعض التغيرات خصوصاً في الغشاء البلازمي الذي يصبح خشناً وبه نتوءات، هذه الخشونة هي مفتاح التعرف على تلك الخلايا من قبل خلايا الطحال والكبد التي تقوم بفحص خلايا الدم الحمراء للتأكد من صلاحيتها وقدرتها على العمل بالوجه المطلوب، فإذا اجتازت تلك الخلايا الفحص سمح لها بالعبور Passing لتعود مرة أخرى لجحرى الدم، وهكذا كل مرة يمر بها الدم على الطحال. يتم التخلص من خلايا الدم الحمراء الهَرمة Aged عن طريق ابتلاعها Phagocytosis في الطحال والكبد. في الفقاريات الأخرى بما فيها الطيور، الزواحف، الأسماك والبرمائيات تحتوى خلايا الدم الحمراء على نواة وتنقسم. بالإضافة إلى عدم وجود نواة في كريات الدم الحمراء البالغة في الثدييات لا يوجد ميتوكوندريا ويتم إنتاج الطاقة عبر عملية تحلل الجلوكوز Glycolysis، وهو مسار لا يعتمد على الأكسجين ويتم فيه تحويل الجلوكوز إلى حمض البروفيك Pyruvate مع انطلاق كمية قليلة من الطاقة على شكل مركب ثلاثي أدينوسين الفوسفات ATP.



الشكل رقم (٤٣). يوضح تكون خلايا الدم الحمراء والبيضاء والصفائح الدموية من خلايا الدم الجذعية.

## الموت الخلوي المبرمج لخلايا الدم الحمراء (Eryptosis) الموت الخلوي المبرمج

يُطلق مصطلح Eryptosis على موت خلايا الدم الحمراء المبرمج وهو صورة خاصة من الموت الخلوي المبرمج Apoptosis. تمارس خلايا الدم الحمراء الطبيعية نشاطها لمدة أربعة أشهر، بعد ذلك تغادر مجرى الدم وتموت. يشترك موت خلايا الدم الحمراء في بعض خصائصه الشكلية مع خصائص الموت المبرمج لخلايا الجسم الأخرى مثل انكماش الخلية وظهور فقاعات تشبه فقاعات غليان الماء على أسطح الخلايا. تفقد خلايا الدم الحمراء البروتينات المحيطة بأغشيتها Peripheral membrane proteins التوزيع الطبيعي لبعض الدهون الفوسفاتية مثل PS، هذا التوزيع غير الطبيعي يحفز الخلايا الأكولة لالتهام خلايا الدم الحمراء الميتة والتخلص منها.

ونظراً لعدم احتواء خلايا الدم الحمراء البالغة في الثدييات على نواة وميتوكوندريا، فقد اعتبرت الخلايا الوحيدة في الثدييات التي تفتقد لآلية الموت الخلوي الذاتية، ولهذا فقد خضعت هذه الخلايا لدراسات مكثفة لتفسير حدوث الموت الخلوي المبرمج في وجود إنزيمات الكاسبيس وبعض عوامل الموت الخلوي الأحرى.

لقد توصل العلماء إلى إثبات وجود إنزيم كاسبيس ٣٠ في خلايا الدم الحمراء كعامل محفز للموت الخلوي وكاسبيس ٨٠ كعامل منفذ للموت الخلوي وعند مستويات مشابحة لما هو موجود في بعض الخلايا اللمفاوية مثل الخلايا التائية كخلايا جوركات Jurkat الاهو موجود في معظم خلايا الجسم فإن خلايا الدم الحمراء لا تحتوي على عوامل الموت الخلوي المبرمج ١-Apaf وسيتوكروم سي الموت الخلوي الأخرى مثل عوامل تنشيط الموت الخلوي المبرمج الكاسبيس في خلايا الدم وأنواع الكابيس ٢-٣-٧-٩. كما لا يمكن تنشيط إنزيمات الكاسبيس في خلايا الدم الحمراء السليمة بواسطة محفزات الموت الخلوي المبرمج. من الأدلة المؤيدة للمعلومات السابقة عدم وجود مثبطات إنزيمات الكاسبيس في خلايا الدم الحمراء ولو عند مستويات منخفضة. إن عدم قدرة خلايا الدم الحمراء على تحفيز إنزيمات الكاسبيس قد يكون بسبب وجود مثبطات أخرى ما زالت غير معروفة أو لعدم وجود عوامل تنشيط الموت الخلوي المبرمج Apaf-1 وسيتوكروم سي، وبالتالي لن تتكون أحسام الموت الخلوي المبرمج Apoptosome.

يشبه حدوث حالات تلف خلايا الدم الحمراء مثيله في حالات الإجهاد التأكسدي يشبه حدوث حالات تلف خلايا الدم الحمراء مثيله في حالات الإجهاد التأكسدي أو نفاذ الطاقة أو حدوث تغيرات أسموزية مفاجئة تُحفز نشاط إنزيم عفز القناة الخاصة الذي بدوره يزيد إفراز مادة البروستاجلاندين Prostaglandin- $E_2$  بنفاذ الكالسيوم مما يزيد من تركيز الكالسيوم وزيادة تنشيط عدد من العمليات التي تعتمد على الكالسيوم على الكالسيوم على الكالسيوم الخاصة بالبوتاسيوم  $K^+$  والتي تعتمد على الكالسيوم  $Ca^{+2}$  مما يؤدي إلى حدوث زيادة في الاستقطاب وضمور الخلايا. تحفز زيادة الكالسيوم نقل الدهون الفوسفاتية بين طبقات الغشاء الخلوي. بينت العديد من الدراسات أن

لخلايا الدم الحمراء القدرة على الموت التلقائي في ظل وجود محفزات بيئية معينة أو أمراض دون أن يكون لإنزيمات الكاسبيس دور في ذلك.

لقد أصبح معروفاً أن هرمون الإرثروبيتين Erythropoietin، الذي يفرز من الكلية يزيد من معدل إنتاج كريات الدم الحمراء Erythropoiesis ويمنع الموت الخلوي المبرمج للخلايا المولدة لها Erythroblasts من خلال زيادة التعبير الجيني للبروتين المضاد للموت الخلوي المبرمج Bel- $X_L$  يؤدي تثبيط  $Bel-X_L$  يؤدي تثبيط تكون كريات الدم الحمراء في المرحلة الأحيرة من تكوفا مما يسبب حالة من فقر الدم (الأنيميا) Hemolytic anemia.

ثالثاً: خلايا الدم البيضاء Leucocytes: تعد وظيفة كريات الدم البيضاء مهمة جداً لجسم الإنسان حيث تقوم بالدفاع عن الجسم وهمايته من الأمراض. يوجد بداخل خلايا الدم البيضاء نواة بأحجام وأشكال متعددة. تقاجم خلايا الدم البيضاء الميكروبات وتكافح الالتهابات وبعض المواد المؤذية للجسم. خلايا الدم البيضاء تنتمي لجهاز المناعة ومسؤولة عن الدفاع عن الجسم ضد الميكروبات والمواد الغريبة التي تدخل الجسم متوسط عدد خلايا الدم البيضاء في الدم حوالي ٢٠٠٠ خلية لكل مللتر مكعب من الدم، وتمثل حوالي ١٨٠٠ خلية لكل مللتر مكعب من الدم، وتمثل حوالي ١٨٠ من الدم عند الإنسان السليم. يعتبر عدد خلايا الدم البيضاء مؤسراً مهماً للاستدلال على الإصابات الحادة Acute الإصابة بالفطريات والطفيليات، وغير نتيجة لحالات العدوى بالبكتيريا أو الفيروسات أو الإصابة بالفطريات والطفيليات، وغير خلك من الحالات التي تستوجب استجابة مناعية. قد يزيد عدد خلايا الدم البيضاء في حالات الأورام المتعلقة بخلايا الدم البيضاء مثل سرطانات الدم (اللوكيميا) Leukemia وبالمقابل فإن انخفاض عدد كريات الدم البيضاء عن المعدل الطبيعي يقلل من مستوى المناعة في الجسم سواء كان النقص مقتصراً على نوع واحد من أنواع خلايا الدم البيضاء أم يشمل كل الأنواع.

تولد خلايا الدم الجذعية في نخاع العظم جميع أنواع خلايا الدم البيضاء، كما تنشأ خلايا الدم البيضاء من الخلايا اللمفاوية Lymphocytes (الشكل رقم ٤٤). هناك عدة

أنواع مختلفة من خلايا الدم البيضاء، التي صنفت على أساس وجود الحبيبات إلى خلايا دم بيضاء محببة Agranulocytes.

أ) خلايا الدم البيضاء المحببة: تتكون في نخاع العظام الأحمر، وتتميز بوجود حبيبات مختلفة يمكن ملاحظتها تحت المجهر الضوئي، وهذه الحبيبات عبارة عن إنزيمات مرتبطة بالغشاء الخلوي وتقوم بتحليل الحسيمات المبتلعة، ويوجد ثلاثة أنواع من خلايا الدم البيضاء المحببة وهي:

الإصابة بالجراثيم أو الميكروبات. تعتبر خلايا الدم البيضاء المتعادلة أكثر أنواع الخلايا الإصابة بالجراثيم أو الميكروبات. تعتبر خلايا الدم البيضاء المتعادلة أكثر أنواع الخلايا البيضاء انتشاراً، وتمثل حوالي ٣٣-٧٠٪ من خلايا الدم البيضاء، وهي خلايا صغيرة الحجم قطرها حوالي ٩-١٠ ميكرومتر وعالية الحركة وتعتبر خلايا ملتهمة Phagocytes تمثل خط الدفاع الأول لجهاز المناعة الطبيعي. تعمل تلك الخلايا على التهام وتكسير البكتريا من خلال خروج المحتويات السيتوبلازمية للخلية التي تحتوي على الجسم الغريب أو مسبب المرض Phagocytes vacuole إلى الحويصلة الملتهمة Phagocytes vacuole. تقوم خلية الدم البيضاء المتعادلة الواحدة بالتخلص من مسببات المرض التي تغزو الجسم، وتلتهم الخلية الواحدة ما بين ٣-٢٠ بكتيريا قبل أن يتوقف نشاطها وتموت.

٧-خلية دم بيضاء قاعدية العمه البيضاء القاعدية أو ثلاثية التفصص، تنشط في حالات الحساسية. تلعب خلايا الدم البيضاء القاعدية دوراً رئيسياً في استجابة الجسم لمسببات الحساسية. ففي حالة وجود التهاب ناتج عن الحساسية تنشط الخلايا القاعدية وتفرز الهستامين Histamine كوسيط رئيسي في حالة الحساسية وما ينتج عنها من التهابات. تتخصص خلايا الدم البيضاء في إفراز مضاد التجلط الهيبارين Heparin. تعتبر خلايا الدم القاعدية من الخلايا قليلة الانتشار مقارنة بالأنواع الأخرى من خلايا الدم البيضاء، يتراوح عددها حوالي ٥٠٠٪ فقط، وهي خلايا ترافق عمليات الالتهاب الناتج بسبب الحساسية.

٣-خلية دم بيضاء حمضية Eosinophil: نواقعا ثنائية التفصص تنشط في حالات

الحساسية أو الإصابة بالطفيليات. يتم إنتاج خلايا الدم البيضاء الحمضية في نخاع العظم قبل إطلاقها إلى الدورة الدموية وتمثل حوالي ١-٦٪ من خلايا الدم البيضاء، وهي مختصة بأمراض الحساسية والدفاع المناعي ضد العدوى بالطفيليات. لقد لوحظ تراكم الخلايا الحمضية في الأنسجة التي يحدث بها تفاعلات الحساسية مثل الأنسجة الحيطة بالشعب الهوائية عند مرضى الربو. تفرز هذه الخلايا عدداً من الإنزيمات المحللة وعوامل أكسجين نشطة مثل فوق الأكسيد Superoxide ذات النشاط المضاد للعدوى الطفيلية كالديدان أو الميكروبات كالبكتيريا.

ب) خلايا الدم البيضاء غير المحببة: تكونت في الأنسجة الليمفاوية كالطحال والغدد الليمفاوية وتتميز بغياب الحبيبات. وهذه الخلايا البيضاء تشمل الخلايا اللمفاوية Lymphocytes صغيرة الحجم والمسؤولة عن الدفاع المناعي للحسم، وهناك نوعان من الخلايا اللمفاوية هما: الخلايا اللمفاوية البائية B-lymphocytes و الخلايا اللمفاوية التائية T-lymphocytes.

النوع الأول: الخلايا التائية T-cells: يندرج تحت هذا النوع خلايا CD4 والخلايا المساعدة Helper cells، التي تلعب دوراً مهماً في تنسيق الاستجابة المناعية ومحاربة الجراثيم داخل الخلية، وكذلك الخلايا السمية القادرة على قتل الخلايا المصابة بالفيروسات والخلايا الورمية. الخلايا التائية مسؤولة عن المناعة الخلوية وتماجم خلايا الجسم نفسها عند إصابتها بالفيروسات. يتم إنتاج الخلايا التائية في نخاع العضم، والخلايا غير الناضحة تماجر إلى الغدة الثيموسية Thymosin حيث تتميز إلى العديد من الخلايا التائية الناضحة وتصبح نشطة في وجود هرمون الثيموسين Thymosin

النوع الثاني: الخلايا البائية B-cells: يتم إنتاج ونضج الخلايا البائية عند الثدييات في نخاع العظم، تعمل الخلايا البائية على إنتاج الأجسام المضادة التي تماجم البكتيريا والسموم التي تفرزها، ولذا فهذه الخلايا مسؤولة عما يسمى بالمناعة الخلطية المسامن وأغلب هذه الخلايا تتمايز إلى خلايا بلازمية Plasma cells تنتج كميات

كبيرة من خلايا الذاكرة، التي تتعرف على الجسم الغريب الذي دخل الجسم من قبل. كما أن لبعض الخلايا البائية القدرة على إنتاج الأحسام المضادة النوعية لمسبب المرض لتكون بمثابة الذاكرة لجهاز المناعة وتسمى خلايا الذاكرة.

النوع الثالث: الخلايا القاتلة الطبيعية (NK) Natural killer cells (NK: خلايا قادرة على قتل خلايا الجسم التي ترسل إشارات عند إصابتها بالفيروسات أو تحولها لخلايا سرطانية. يوجد أنواع من الخلايا الجذعية النخاعية Myeloid stem cells المولدة لخلايا الدم

يوجد انواع من الخلايا الجدعية النخاعية Myeloid stem cells المولدة لخلايا الدم المناعية مثل:

#### ۱ – الخلايا وحيدة النوى Monocytes

تنتج هذه الخلايا من خلايا نخاع العظم الجذعية، وهي مختصة بإنشاء خلايا الدم وتمثل حوال ٥-١٠٪ من خلايا الدم البيضاء. تقوم الخلايا وحيدة النواة بتخليص الجسم من الميكروبات كما تدفع بمسببات الأمراض إلى الخلايا التائية ليتم تكوين الجسم المضاد لها أو حتى يتم تذكر مسببات الأمراض إذا تعرض لها الجسم مرة أخرى. يمكن للخلايا وحيدة النواة مغادرة مجرى الدم إلى الأنسجة لتتحول إلى خلية بالعة تزيل بقايا الخلايا الميتة فضلا عن مهاجمة الممرضات.

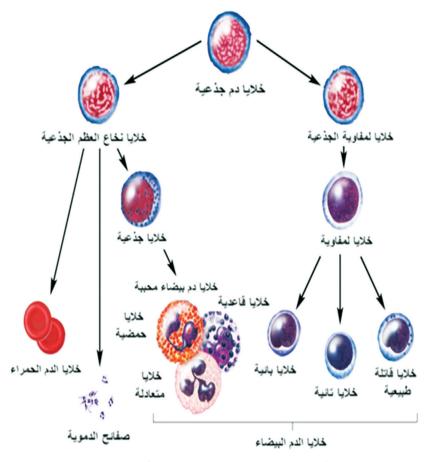
#### Macrophages الخلايا البلعمية

وهي نوع من الخلايا وحيدة النواة التي تمايزت إلى خلية بالعة بعد هجرتها من مجرى الدم إلى الأنسجة.

## الموت الخلوي المبرمج لخلايا الدم البيضاء Apoptosis in Leucocytes

كل الخلايا في الجهاز المكون للدم Hematopoietic system لها عمر أو فترة حياة كل الخلايا في الجهاز المكون للدم سنحلال الكائن ذاته. تنهي خلايا الدم حياتها من خلال أحدى طرق الموت الخلوي، ومن أبرزها الموت الخلوي المبرمج، الذي يمتاز بخصائص شكلية وكيميائية وجزيئية محددة تميزه عن غيره من طرق الموت الخلوي الأخرى. معظم الخلايا لديها محفزات موت خلوي مبرمج محددة. فعلى سبيل المثال للخلايا التائية القدرة على تحفيز

الموت الخلوي المبرمج في أي خلايا تتعرف عليها وبمساعدة مركبات السيتوكين.



الشكل رقم (٤٤). يوضح تكون الخلايا اللمفاوية وخلايا الدم البيضاء بأنواعها المختلفة وكذلك الخلايا الحمراء والصفائح الدموية من خلايا الدم الجذعية (Terese, 2008).

أثناء مراحل موت خلايا الدم البيضاء تبعث إشارات معينة لمثيلاتها الجاورة لها، ربما في محاولة لتحذير تلك الخلايا من خطر ممرضات معينة Pathogens. لقد استطاع العلماء تتبع مراحل الموت الخلوي المبرمج لخلايا الدم البيضاء وبصورة مباشرة وعند أوقات زمنية متتابعة من خلال لقطات فيديو سجلت بواسطة نوع متطور من المجاهر يسمى

السابق مستقاة من مشاهدة خلايا الدم البيضاء التي قد ماتت، أما الآن فقد عرف السابق مستقاة من مشاهدة خلايا الدم البيضاء التي قد ماتت، أما الآن فقد عرف العلماء المراحل المختلفة التي تقود خلايا الدم البيضاء نحو الموت. قسمت مراحل الموت الخلوي المبرمج لخلايا الدم البيضاء حسب المعلومات السابقة إلى ثلاث مراحل هي:

١-التغير في شكل الخلايا وظهور تكتلات خارجية.

٢-التفكك التي يتم فيها قذف تلك الكتل بعيداً عن حسم الخلية.

٣-التجزؤ التي تصبح فيها كل كتلة مستقلة بذاتها.

كما استطاع العلماء من هذه المعلومات والمشاهدات الحية المتوفرة استنتاج الكثير حول مسببات المرض، وكيف تقضى على الخلايا وينتشر المرض.

رابعاً: الصفائح الدموية Platelets: الصفائح الدموية أحسام سيتوبلازمية دائرية الشكل ليس لها نواة تتكون وتتشكل في نخاع العظام، ثم تنتقل للدم، يبقى الدم داخل الأوعية الدموية في حالة سائلة بفعل مادة الهيبارين المانعة للتجلط، ولكن إذا خرج الدم خارج الأوعية الدموية فإن الصفائح الدموية تتكسر عند تعرضها للهواء أو ملامسة سطحاً ما غير بطانة الأوعية الدموية. فإذا ما خرجت الصفائح الدموية للخارج بدأت سلسلة من التفاعلات الإنزيمية التي تنتهي بتجلط الدم وتوقف النزيف.

للموت الخلوي المبرمج دور في تنظيم حالة التوازن في جسم الكائن الحي بما في ذلك تنظيم حياة وموت خلايا الصفائح الدموية. فهناك بعض الخصائص المشتركة بين ظاهرة الموت الخلوي العامة التي تحدث في معظم الخلايا وبين ما يحدث لخلايا الصفائح الدموية. تخضع عملية الموت الخلوي المبرمج في الصفائح الدموية لأحداث تشبه أحداث الموت في الخلايا الأحرى، وتسمى الأحداث الشبيهة بالموت الخلوي المبرمج المبرمج للموت الخلوي المبرمج للصفائح الدموية وزيادة أكسدتها دلائل حيوية الزيادة في حدوث الموت الخلوي المبرمج للصفائح الدموية وزيادة أكسدتها دلائل حيوية الزيادة في حدوث الموت الخلوي المبرمج للصفائح الدموية وزيادة أكسدتها دلائل حيوية

## الفصل الثالث عشر

# الموت الخلوي المبرمج وأمراض الانحلال العصبي Apoptosis and neurodegenerative diseases

منذ ملاحظة ظاهرة الموت الخلوي المبرمج وحتى وقتنا الحاضر تم وصف العديد من الآليات المختلفة، التي توضح بعض تفاصيل هذه الظاهرة وعلاقتها بظهور العديد من الأمراض ومنها أمراض الانحلال العصبي. زيادة أو نقصان معدل الموت الخلوي المبرمج سيؤديان إلى خلل فسيولوجي. تم خلال العقود الماضية تطوير بعض الطرق العلاجية المعتمدة على تنظيم عملية الموت الخلوي المبرمج، وبعض تلك الطرق دخل حيز التطبيق الطبي.

لقد ثبت بما لا يدع مجالاً للشك أن التراكم غير الطبيعي للبروتينات سواء ببسب عدم حدوث عملية الانثناء الطبيعي أو بسبب تلف البروتين أو تفاعله مع بروتينات أخرى أو غير ذلك من الأسباب، كان أحد السمات المشتركة الرئيسية لكل أمراض الانحلال (التنكس) العصبي. تراكم البروتينات غير الطبيعية وترسبها كأحسام مرئية بالمجهر أو كلويحات داخل الخلايا أو خارجها يؤدي إلى تفاعلها مع أهداف خلوية معينة، وبالتالي قد تسبب العديد من الآثار المحتملة مثل تثبيط فعالية منطقة التشابك العصبي Synapse وعزل الخلايا العصبية واختلال توازن الكالسيوم وخلخلة نظام التحلل البروتيني وتحفيز عوامل الموت الخلوي. كما أن الموت الخلوي المبرمج الناجم عن الجهد الذي تتعرض له الشبكة الإندوبلازمية أو النشاط العالي لإنزيمات الكاسبيس أو التغيرات

التي تطرأ على الميتوكوندريا أو زيادة نشاط العوامل المحفزة للموت الخلوي في الخلايا العصبية أو غير ذلك من التغيرات التي تحدث داخل الخلايا العصبية، هو إحدى الطرق التي تسلكها الخلايا العصبية في ظل وجود العوامل السابقة. الجدير بالذكر أن الشبكة الإندوبلازمية هي المسؤولة بالدرجة الأولى عن حماية الخلايا ضد تراكم تجمعات البروتينات السامة أو غير الطبيعية والتي تحدد في نهاية المطاف مسارات الانتحار الخلوي. يسبب موت الخلايا العصبية العديد من الاضطرابات العصبية عند الإنسان مثل مرض الخرف (الزهايمر) Alzheimer's، مرض باركنسون Parkinson's، مرض هنتنقتون Huntington's الجلطات الدماغية Stroke ضمور العضلات Amyotrophic وغير ذلك من أمراض الانحلال العصبي. لقد أثبتت الدراسات أن العوامل الوراثية والبيئية المسؤولة عن هذه الأمراض ترتبط بمسارات الموت الخلوي المبرمج وتحفزها. هذه العوامل المحفزة للموت الخلوي المبرمج تتم مقاومتها أو التصدي لها من قبل إشارات الحياة أو البقاء على قيد الحياة كتثبيط تكون الجذور الحرة وثبات مستوى الكالسيوم وفعالية الميتوكوندريا. إن تحديد الآليات التي تحفز أو تثبط موت الخلايا العصبية المبرمج يساعد كثيراً في تجنب الاضطرابات العصبية. من الناحية الفسيولوجية يؤدي الموت الخلوي المبرمج دوراً مهماً في نمو وتطور الجهاز العصبي، بينما يؤدي في خلايا الدماغ البالغ دوراً في ظهور بعض أمراض الانحلال العصبي ومن أشهرها وأكثرها انتشاراً ما يلي:

#### مرض الزهايمر (Alzheimer's disease (AD)

يصيب مرض الزهايمر خلايا المخ ويدمرها، وسمي بمذا الاسم نسبة للعالم الألماني الويسيوس الزهايمر Aloysius Alzheimer، الذي وصفه لأول مرة، وأصبح مرضاً شائعاً ومثيراً للقلق عند كثير من العوائل. لا يوجد للأسف حتى الآن علاج لهذا المرض، الذي يسبب مع مرور الوقت فقدان الذاكرة والتركيز المؤقت أو الدائم، يفقد المصابون القدرة على التعرف على الأماكن، والأشخاص، ولا يستطيعون الاهتمام بأنفسهم. ارتبط ظهور مرض الزهايمر بتقدم عمر المصاب، حيث إن غالبية المرضى يصابون به بعد سن الخامسة والستين،

مع زيادة نسبة المرض عند العوائل التي تربطهم علاقة وراثية.

يسبق ظهور مرض الزهايمر عملية موت خلوي مبرمج مكثفة وعملية تحلل طويلة قد تكون امتدت لسنوات لخلايا الذاكرة المسؤولة عن حفظ المعلومات واسترجاعها. يُعد تراكم بروتينات تُعرف بصفيحات بيتا المطوية Amyloid precursor، السبب الأكثر احتمالاً لمرض الزهايمر. فهناك آلية إنزيمية تؤدي إلى تحلل بروتين protein (APP) وتحوله لقطع صغيرة، إحدى هذه القطع تثير تجمع كتل من الألياف البروتينية وترسبها خارج الخلايا العصبية لتتكون نتيجة لذلك صفائح الزهايمر plaques مما يؤخر سريان الإشارات العصبية أو تعطلها. لموت الخلايا العصبية المبرمج دور رئيسي في تطور مرض الزهايمر، كما أن لنشاط إنزيمات الكاسبيس دوراً في أحداث موت الخلايا العصبية.

#### مرض بارکنسون (PD) مرض بارکنسون

مرض باركنسون أو الشلل الرعاش هو مجموعة من الأعراض المتلازمة العصبية المرتبطة بالحركة. يظهر المرض بسبب موت الخلايا الدماغية المنتجة لمادة الدوبامين James Par- معي هذا المرض باسم الطبيب الإنجليزي جيمس باركنسون «Rinson» الذي وصفه عام ١٨١٧م. من الأعراض الشائعة للمصاب بهذا النوع من الأمراض: اهتزاز أو رعشة اليد أو الذراع أو الفك وبطء الحركة وفقدان التوازن أثناء الوقوف، وهو من الأمراض المزمنة وربما يحتل المرتبة الثانية بعد مرض الزهايمر.

ظهرت الكثير من الفرضيات التي تفسر ظهور مرض باركنسون، وأحد هذه الآراء المقترحة حظي بأدلة داعمة، كظهور ألياف وشوائب سيتوبلازمية تعرف بأجسام ليوي للقترحة حظي المسارات الموت الخلوي المبرمج الداخلية والخارجية دور بارز في ظهور وتطور مرض باركنسون، فلقد ثبت دور إنزيمي كاسبيس-١ وكاسبيس-٣ أثناء الموت الخلوي المبرمج للخلايا العصبية المسؤولة عن مرض باركنسون في حيوانات التحارب. ارتبط هذا المرض ببعض الطفرات الوراثية مثل الطفرة التي تحدث في جين

PARK2 المسؤول عن إنتاج بروتين باركن Parkin، الذي يدخل في تركيب المعقد الإنزيمي الرابط للأبكوتين Ubiquitin ligase complex، وهو أحد مكونات مسار التحلل البروتيني. هناك بعض الشكوك فيما إذا كان تعطيل وظيفة بروتين الباركن قد يحفز الموت الخلوي في الخلايا المنتجة للدوبامين. لقد أثبتت دراسات التعبير الجيني لمرضى باركنسون حدوث انخفاض في تعبير الجينات المضادة للموت الخلوي المبرمج مثل Bcl-2 وارتفاع في نشاط بعض المستقبلات مثل Fas في الخلايا العصبية لمرضى باركنسون.

#### مرض هنتنقتون (Huntington's disease (HD)

يعتبر مرض هنتنقتون من الأمراض العقلية الوراثية ويسبب تلف وموت خلايا المخ، ونتيجة لذلك تظهر على المريض حركات وتعابير سريعة ولا إرادية واضطرابات عاطفية وخرف وفقدان للذاكرة. وصف المرض لأول مرة عام ١٨٧٢م على يد الطبيب جورج هنتنقتون، ولذا سمي المرض باسمه. يظهر المرض بسبب طفرة جينية في جين موجود على الكروموسوم الرابع، هذه الطفرة مسؤولة عن تمدد تكراري لثلاث نيوكليوتيدات على الكروموسوم الرابع، هذه الطفرة مسؤولة عن تمدد تكراري لثلاث نيوكليوتيدات يتكرر في البروتين الناتج ما بين ٢٧-١٢١ مرة. تمدد هذا الحمض الأميني يؤثر سلباً على عملية الإنتناء الطبيعي للبروتين، مما يترتب عليه تراكمه داخل الخلايا العصبية، وبالتالي تفاعله مع البروتينات الأخرى. يؤثر هذا التفاعل أيضاً، على التوزيع الطبيعي للكوليسترول وتراكمه في الدماغ مما يعزز موت الخلايا وحدوث عملية الانحلال العصبي .

تمارس إنزيمات الكاسبيس دوراً أساسياً أثناء مراحل ظهور المرض، حيث بحُزء البروتين الطافر. فلقد أثبتت التجارب المعملية على الفئران أن تجزؤ البروتين الطافر بفعل إنزيم كاسبيس-٦ أحد المتطلبات الأولية لظهور وتطور أعراض المرض عند الماصبين، كما لوحظ نشاط إنزيم كاسبيس-٦ في خلايا الدماغ قبل ظهور بقية الأعراض.

وراثة نسخة واحدة أو أليل واحد من الجين الطافر من أحد الأبوين يسبب ظهور المرض، فإذا كان لأحد الأبوين أليل واحد يحمل المرض فإن نسبة النسل المصاب هي ٥٠٪. في النهاية سوف يظهر المرض لدى كل شخص يحمل المورثة إذا عاش لفترة طويلة.

## المراجع

## أولاً:المراجع العربية

القحطاني، سعد بن حسين. (٢٠١٢م). علم الخلية والوراثة. جامعة الملك سعود، النشر العلمي والمطابع، الرياض.

القحطاني، سعد بن حسين. (٢٠٠٨م). تأثير حالة ميثلة الدنا على السمية الوراثية والموت الخلوي المبرمج المستحثة في الفئران بواسطة الزرنيخ. جامعة الملك سعود، رسالة دكتوراه، الرياض.

المرزوق، محمد حسن. (٢٠٠٥م). التأثير المضاد للأكسدة والخافض للميثلة على السمية الوراثية والخلوية لثلاثي أكسيد الزرنيخ في الخلايا الجسدية للفأر الحي. جامعة الملك سعود، رسالة ماجستير، الرياض.

عبد الخالق، علاء الدين بيومي. (٢٠٠٠). الملوثات البيئية والتسمم الخلوي. الطبعة الأولى. دار هبة النيل للنشر والتوزيع. الجيزة.

# الموت الخلوي المبرمج ثانياً: المراجع الأجنبية

- Alevizopoulos, K. Dimas, K. Papadopoulou, N. Schmidt, E. Tsapara, A. Alkahtani, S. Honisch, S. Prousis, K. Alarifi, S. Calogeropoulou, T. Lang, F. Stournaras, C. (2016). Functional characterization and anti-cancer action of the clinical phase II cardiac Na+/K+ ATPase inhibitor istaroxime: in vitro and in vivo properties and cross talk with the membrane androgen receptor. Oncotarget. 26;7(17):24415-28.
- Allison E. Thomas. (2010). DNA Repair: Damage Repair Mechanisms and Aging. Nova Science Publisher's. 288p.
- Alkahtani S. (2009A). Antioxidation and hypomethylation effect on genotoxicity and programmed cell death induced in mice somatic cells by arsenic trioxide. J. Biol.Sci 9 (7): 721-729.
- Alkahtani S. (2011). Apoptotic genes expression in mice hepatocytes during malaria infection. King Saud University Journal – Science. 23: 63-68.
- Alkahtani S. (2010). Different apoptotic responses to Plasmodium chabaudi malaria in spleen and liver. African Journal of Biotechnology. 9(45): 7611-7616.
- Alkahtani S. (2009B). Hepatitis C infection and apoptosis in hepatocellular carcinoma. Pak J of Biological sciences 12(10):804-808.
- Alkahtani S. (2012). Malaria-Induced Apoptosis in the Cells of Interlukine-6R" knockout Mice. Current Research Journal of Biological Sciences 4(4): 500-506.
- Alkahtani S. (2013). Testosterone induced apoptosis in colon cancer cells is regulated by PI3K/Rac1 signaling. Asian Journal of Andrology. 15(6): 831-834.
- Alarifi Saud Daoud Ali Saad Alkahtani S (2015). Nanoalumina induces apoptosis by impairing antioxidant enzyme systems in human hepatocarcinoma cells. International Journal of Nanomedicine 2015:10 3751–3760.
- Alkahtani S. Alarifi S. and Al-Doaiss A. (2009). Detection of apoptosis induced by gentamicin in rat hepatocytes. Int. J. Zool. Res. 5(4):161-170.
- Al-Qahtani A. Alkahtani S. Kolli B. Tripathi P. Dutta S. Al-Kahtane A. Jiang X. Ng D. Chang, K. (2016). Aminophthalocyanine-Mediated Photodynamic Inactivation of Leishmania tropica. Antimicrob Agents Chemother. 25;60(4):2003-2011.

- Anagnostopoulou V. Pediaditakis I. Alkahtani S. Alarifi A. Schmidt E. Lang F. Gravanis A. Charalampopoulos I. Stournaras C. (2013). Differential effects of dehydroepiandrosterone and testosterone in prostate and colon cancer cell apoptosis: the role of nerve growth factor (NGF) receptors. Endocrinology 54(7):2446-56.
- Boulares A. Yakovlev A. Ivanova V. Stoica B. Wang G. Iyer S. Smulson M. (1999). Role of poly(ADP-ribose) polymerase (PARP) cleavage in apoptosis. Caspase 3-resistant PARP mutant increases rates of apoptosis in transfected cells. J Biol Chem. 13;274(33):22932-40.
- Brona McVittie. (2010). On the TRAIL of Suicidal Cells. National Library of Medicine. US.
- Chen M. Wei J. Xu Y. Peng Y. Chai H. Li Q. Liu X. Huang D. (2012). Biotinstreptavidin cross-bridging: a novel and feasible approach for targeting transplanted cells to damaged tissue. Journal of Drug Target. 20(10):850-5.
- Cruz L. Guecheva T. Bonato D. Henriques J. (2012). Relationships between chromatin remodeling and DNA damage repair induced by 8-methoxypsoralen and UVA in yeast Saccharomyces cerevisiae. Genet. Mol. Biol.35 (4). 1052-1059.
- Dan I. Andersson and Diarmaid Hughes. (2014). Microbiological effects of sublethal levels of antibiotics. Nature Reviews Microbiology 12 465–478. doi:10.1038/nrmicro3270.
- Dianne W. and martin L. (1999). Signallig Pathways in Apoptosis. Oversees Publisher Association Netherland 317p.
- Gines: M. Salido and Juan: A. Rosado. (2009). Apoptosis: Involvement of Oxidative Stress and Intracellular Ca<sup>2+</sup> Homeostasis. Springer: Caceres: Spain: 232p.
- Grimm S. (2003). Genetics of Apoptosis. Cromwel Press Trowbridge UK 309p.
- Guicciardi ME Malhi H Mott JL Gores GJ.(2013). Apoptosis and Necrosis in the Liver. Compr Physiol. 3(2): 977-1010.
- Guido K. Lorenzo G. Catherine B. (2007). Mitochondrial Membrane Permeabilization in Cell Death. Physiol Rev 87: 99–163.
- Guilai Liu Sabina Honisch Guoxing Liu Sebastian Schmidt Stavros Pantelakos Saad Alkahtani Mahmoud Toulany Florian Lang and Christos Stournaras. (2015). Inhibition of SGK-1 enhances mAR-induced apoptosis in MCF-7

- breast cancer cells. Cancer Biology & Therapy 16:1. 52-59.
- Hengartner M.O. (1997). Programmed Cell Death In C. elegans. (Cold Spring Harbor Laboratory Press Plainview N.Y.) 496p.
- John C. Reed and Douglas R. Green. (2011). Apoptosis Physiology and Pathology. Cambridge University Press New York USA 421p.
- Johnstone R. W. Frew A. J. & Smyth M. J. (2008). The TRAIL apoptotic pathway in cancer onset progression and therapy. Nature Reviews Cancer. 8(10): 782-798. http://www.cubocube.com/dashboard. php?a=1642&b=1697&c=1
- Julio Cesar. (2014). Radicals livres e o control da apoptosis. http://biobio-radicaislivres.blogspot.com/2011/07/radicais-livres-e-aterosclerose.html
- Jones and Batlett. (2013). Learing LLC an Ascend learing company. www.jblearning.com.
- Kroemer G· Galluzzi L· Brenner C (2007) Mitochondrial membrane permeabilization in cell death. Physiol Rev 87: 99–163.
- Lei F. Albert N. Stephanie T. Josef F. Maneli M. (2015). Comet Assay as an Indirect Measure of Systemic Oxidative Stress. J Vis Exp. 2015; (99).: 52763. doi: 10.3791/52763.
- Lindahl T. (1993). Instability and decay of the primary structure of DNA. Imperial Cancer Research Fund Clare Hall Laboratories South Mimms. Hertfordshire EN6 3LD. UK. Nature 362 709 715.
- Manon V. Luc J. Frans C. Bert S. Chris P. (1998). Annexin V-Affinity Assay: A Review on an Apoptosis Detection System Based on Phosphatidylserine Exposure. Cytometry 31:1–9. Wiley-Liss Inc.
- Mintzer R: Ramaswamy S: Shah K: Hannoush RN: Pozniak CD: Cohen F (2012) A Whole Cell Assay to Measure Caspase-6 Activity by Detecting Cleavage of Lamin A/C. PLoS ONE 7(1): e30376. doi:10.1371/journal.pone.0030376.
- Mohammed A. Al Gurabi Daoud Ali Saad Alkahtani and Saud Alarifi (2015). In vivo DNAdamaging and apoptotic potential of silver nanoparticles in Swiss albino mice. OncoTargets and Therapy 2015:8 295–302.
- Mortelmans K · Zeiger E. (2000). "The Ames Salmonella / microsome mutagenicity assay". Mutat. Res. 455 (1–2): 29–60.
- Pearson education Inc. (2004). publishing as Benjamin cumin.

المراجع المراجع

- Ralph S. (1998). Signal transduction pathways in Fas-mediated apoptosis of microglia and glioma cells. Ph.D dissertation. Swiss federal institute of technology. Berlin.
- R&D Systems: Inc. (2016) All Rights Reserved.
  - https://www.rndsystems.com/resources/technical/tunel-assay-principle
- Sperandio S; de Belle I; Bredesen DE (2000). "An alternative nonapoptotic form of programmed cell death.". Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 97 (26): 14376–81.
- Stewart H. Alfred L. William E. (2006). Protein Degradation by the Ubiquitin–Proteasome Pathway in Normal and Disease States. J Am Soc Nephrol 17: 1807–1819. doi: 10.1681/ASN.2006010083
- Terese Winslow 2008 U.S. Govt. has certain rights
- http://www.cirm.ca.gov/files/files/about stemcells/Unit 4 Appendix B 0.pdf
- Vasileia Anagnostopoulou: Ioseph Pediaditakis: Saad Alkahtani: Eva-Maria Schmidt: Florian Lang: Achille Gravanis: Ioannis Charalampopoulos: Christos Stournaras. (2013). Differential effects of Dehydroepiandrosterone and Testosterone in prostate and coloncancer cell apoptosis: the role of Nerve Growth Factor (NGF) receptors. Journal of Endocrinology. 154(7):2446–2456.
- Xiao-Ming Yin and Zheng Dong. (2009). Essentials of Apoptosis. 2nd ed. Humana Press. USA 728p.

#### ثبت المصطلحات

# أولاً: عربي - إنجليزي



أبكوتين (تكون معقد الأبكوتين) Ubiquitination إثيل ميثان سلفونيت Ethyl MethaneSulfonate (EMS) أجسام التهابية Inflammasomes أجسام الموت الخلوي المبرمج Apoptotic bodies (Apoptosoms) أجسام بيروكسية Peroxisomes أجسام ليوي Lewy bodies أجسام محللة Lysosomes أجسام مضادة Antibodies أجسام ملتهمة ذاتية Autophagolysosoms أجسام نووية Nucleosomes أحماض أمينية Amino acids أحماض دهنية حرة Free fatty acids إدخال خلوي Endocytosis ارتباطات عبورية Cross-links إزالة السمية Detoxify

إعادة تنظيم الهيكل السيتوبلازمي

DNA damage response	استجابة لتلف الدنا
In vitro cell culture	استزراع خلايا خارج الجسم
In vivo cell culture	استزراع خلايا داخل الجسم
Complete media	استزراع كامل
Minimal culture media	بيئة استزراع منتقصة
Acetylation	أستلة
Survival signals	إشارات البقاء
Immunosuppressive signals	اشارات التثبيط المناعي
Death signals	إشارات الموت
X-rays	أشعة إكس
UV light	أشعة فوق بنفسجية
Ionizing radiation	أشعة مؤينة
Three dimensional conformation	أشكال ثلاثية الأبعاد
Global genomic repair (GGR)	إصلاح جينومي العام
Homologous recombination repair (HRR)	إصلاح بإعادة الاتحاد المتماثل
Transcription-coupled - nucleotide excision repair (TC-NER)	إصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي المقترن بالنسخ
Non-homologous end joining repair (NHEJR)	رو. ويا النهايتين المكسورتين غير المتماثلتين
Error-prone repair	إصلاح معرض للخطأ
DNA recombination	إعادة إتحادات الدنا
Chromatin remodeling	إعادة تشكل الكروماتين

Cytoskeleton reorganization

Pseudopods أقدام كاذبة

Oxidase

Rheumatoid arthritis التهاب المفاصل الرثياني

Inflammations التهابات

Autophagy التهام ذاتي

Micro-autophagy التهام ذاتي للجزيئات الصغيرة

Macro-autophagy التهام ذاتي للجزيئات الكبيرة

DNA repair mechanisms آلیات إصلاح الدنا

Spindle fibres ألياف المغزل

Allele أليل

أمراض المناعة الذاتية أمراض المناعة الذاتية

Erythropoiesis إنتاج كريات الدم الحمراء

Apoptosis antigen-1 (APO-1) جماير المبرمج

Translocation انتقال

Protein folding انثناء البروتين

Slippage

DNA ligase إنزيم الدنا اللاصق

DNA polymerase إنزيم بلمرة الدنا

Caspase-Activated DNase (CAD) إنزيم الكاسبيس المنشط لتحلل الدنا

Acetyl transferases (HATs) إنزيم ناقل لمجموعة الأستيل

Caspases إنزيمات الكاسبيس

Alkyltransferases الألكيل الكيل

إنزيمات ناقلة لمجموعات الميثيل Methyltransferase

Glycosylases إنزيم محلل للجلايكوجين

Macrophages

Phagocytosis

Polymerization

Native configuration

بلاعم كبيرة

بلع خلوي

الأساسية بنية البروتين

Biomedical systems	أنظمة الطب الحيوي
Mitotic (M)	انقسام ميتوزي
Inversion	انقلاب
Oxygen reactive species (ROS)	أنواع الأكسجين الحرة
Prokaryotic	بدائية النواة
Growth arrest-specific Protein	بروتين إيقاف النمو
	بروتينات السيكلين المعتمدة على
Cyclin dependent kinases (Cdks)	الكاينيز
Lipoproteins	بروتينات دهنية
Integral proteins	بروتينات متداخلة
Structural Maintenance of Chromosomes (SMC1)	بروتينات محافظة على تركيب الكروموسومات
Microtubule-associated proteins (MAPs)	بروتينات مرتبطة بالأنيببات الدقيقة
Single-strand DNA-binding protein (SSP)	بروتينات مرتبطة بالسلاسل الفردية للدنا
Histone proteins	بروتينات هستونية
Functional proteins	بروتينات وظيفية
Wild	بري (طبيعي)
Peritoneal	بريتوني
Salmonella	بكتيريا السالمونيلا

ثبت المصطلحات

Butylated hydroxytoluene (BHT) تيوتيلاتيد هيدروكسي تولوين

ت

تأثيرات مظهرية Phenotypic effects

Microglia تجمع صغير للخلايا العصبية

Recruitment (تطویع)

Immunization تحصين مناعي

Proteolysis تحلل بروتيني

Acidification تُحَمُّض

Immune tolerance تحمل مناعى

Metamorphosis کول

Permeability Transition (PT) تحويل النفاذية

تدمير ذاتي Self-destruction

Translation ترجمة

Synapse تشابك عصبي

Trimming تشذیب

Macro-pinocytosis تشرب الجزيئات الكبيرة

Trans lesion DNA synthesis تصنيع الدنا المتحاهل للضرر

تضاعف الدنا DNA Replication

Overexpression تعبير جيني عالِ

Organogenesis تعضى

Morphological features تغيرات شكلية

تقارب مُحَفَّز Induced proximity

تقنية تعطيل وظيفية الجين technology Gene knocked out

جسم نووي

جلطة دماغية جلوتاثيون

جلوتاثيون بيروكسيديز

DNA damage	تلف الدنا
Fibrosis	تليف جزئي
Cirrhosis	تليف كامل
Cystic fibrosis	تليف كيسي
Homology	تماثل
Expanded trinucleotides repeats	تمدد تكراري نيوكليوتيدي ثلاثي
localization	تمركز
Photoreactivation	تنشيط ضوئي
Homeostasis	توازن
Thymine (T)	ثايمين
Pores	ثغور
Bidirectional	ثنائي الاتجاه
Dimers	ثنائيات (دايمر)
\$	
Peroxyl radical	جذور البيروكسيل
Hydroxyl radical	جذور الهيدروكسيل
Corpus luteum	جسم أصفر
Autophagosome	جسم مبتلع ذاتي

Nucleosome

Glutathione

Glutathione Peroxidase

Stroke

ثبت المصطلحات

جهد تأكسدي Oxidative stress جوانين Guanine (G) جىنات مسرطنة Oncogenes جىنات ممىتة Lethal genes جينات منظمة Regulatory genes عامل سرطان أولى Pro-oncogene Genome جينوم Sinusoid جيوب

حركة النقل الخلوية Cellular trafficking حساسات Sensors حساسات التلف Damage sensors حقول أصابع الزنك Zinc-Fingers Domains حقول الموت Death domains (DD) حقيقة النواة Eukaryotic حمض الأسكوربك Ascorbic acid حمض النيتروز Nitrous acid حمض نووی رایبوزی (الرنا) Ribonucleic acid (RNA) حمض نووي منزوع الأكسجين (الدنا) Deoxyribonucleic acid (DNA) حويصلات الأجسام المحللة Lysosome vesicles

خے

Phagocytes vacuole

حويصلة ملتهمة

خارجي المنشأ خارجي المنشأ

داخلي المنشأ

Epidermis	حلايا البشرة
Phagocytes	خلايا بلعمية
Sinusoidal endothelial cells	خلايا بطانية جيبية
Phagocytes	خلايا بلعمية
T-cells	خلايا تائية
Thymocytes	خلايا ثيموسية
Cholangiocytes	خلايا صفراء
Endothelial	خلايا طلائية داخلية
Smooth muscle	خلايا عضلية ملساء
Agranulocytes	خلايا غير محببة
Natural killer cells (NK)	خلايا قاتلة طبيعية
Kupffer cells	خلايا كوفر
Fibroblast	خلايا ليفية
Embryonic fibroblast	خلايا ليفية جنينية
Granulocytes	خلايا محببة
Helper cells	خلايا مساعدة
Macrophages	خلايا ملتهمة كبيرة
Stellate cells	خلايا نجمية
Monocytes	خلايا وحيدة
Actin	خيوط الأكتين
Myosin	خيوط الميوسين

Endogenous

199

Endotoxins

دراسات قبل سريرية Preclinical studies دلائل (مؤشرات) حيوية Biomarkers دنا رابط Linker DNA دهون فوسفاتية Phospholipids دورة الخلية Cell cycle ذيول الكولاجين Collagenous tails Ligands ربيطات ركيزة إنزيمية Substrate سجلات النسب Genetic records سرطانات الدم (اللوكيميا) Leukemia سفنجوسين Sphingosine

Cytotoxicityعمية خلويةCentromereسنتروميرCytokinesحسيتوكيناتCeramideمسيراميد

سموم داخلية

Selenium ميلينيوم

Chaperones شبرونات

Numerical chromosomal aberration	شذوذ الكرموسومات العددي
Free radicals	شوارد حرة
Replication fork	شوكة التضاعف
Aging	شيخوخة
Psoriasis	صدفية
Morphological features	صفات شكلية
Lamina	صفيحة نووية (لامينا)
DNA packing	ضغط أو تعليب الدنا
Amyotrophic	ضمور عضلي
Double mutant	طافرات مزدوجة
Mutations	طفرات وراثية
Nutritional mutation	طفرات تغذوية
<b>E</b>	
Tumor necrosis factor	عامل النخر الورمي

TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)

Mitosis -promoting factor (MPF)

Apoptosis inducing factor (AIF)

Apoptotic protease activation factor (APAF)

Crossing over عروات متحركة Mobile loops عصارة (سائل) خلوي Cytosol علم الأمراض Pathology عوامل النسخ Transcription factors عيوب كروموسومية تركيبية Structural chromosomal aberrations عيوب وظيفية Dysfunctions غاز الخردل Mustard gas Phosphorylation فسفرة فقر الدم التحللي (الأنيميا) Hemolytic anemia فك الشفرة Decipher فلافو نويدات Flavonoids فو توليز Photolyase فوسفوتيديل سيرين Phosphotidylserine فوق أكسيد الديسميوتاز Superoxide dismutase(SOD) فوق أكسيد الهيدروجين Hydrogen peroxide فوق الأكسجين Superoxide

ق

Verotoxin

فيرو توكسين

Re-generable قابل للتحدد

#### الموت الخلوي المبرمج

7.7

Complementary base	قاعدة متممة
Template	قالب
Chargaff's rules	قواعد شراجاف
Contractile force	قوة قابضة

Catechines كاتشينات كاره للماء Hydrophobic كارو تينويدات Carotenoids كاسبيس المنفذة Executioner caspases كاسبيس أولية Procaspase كاسبيس مبدئة Initiator caspases كاسح الجذور Radicals Scavenger كتاليز Catalase كروماتيدات شقيقة Sister chromatids كروماتين Chromatin كروماتين المتغاير (المتباين) Heterochromatin كسور شريط الدنا المزدوج Double-strand DNA breaks (DSBs)

مبيدات الحشائش Herbicides مبيدات الحشرات Pesticides متكثف Condensed مثبطات Inhibitors

Death-inducing signaling complex (DISC)

Tumor suppressors	مثبطات الأورام السرطانية
Hydrophilic	محب للماء
Promoter	محرث (محث)
Inducers	محفزات
Mucus	مخاط
Co-enzymes	مرافقات إنزيمية
Alzheimer disease	مرض الزهايمر
Parkinson disease	مرض باركنسون
Huntington's disease	مرض هنتنقتون
Alkylating agents	مركبات مؤلكلة
Cell cultures	مزارع خلوية
Cell death pathways	مسارات الموت الخلوي
The death receptors pathways	مسارات مستقبلات الموت
Pathogens	محرضات
Ingestion receptor	مستقبل الابتلاع (الاحتظان)
Death receptor (DR)	مستقبل الموت
Base analogs	مشابهات القواعد
Operator	مشغل
Anti-cancer	مضاد للسرطان
Antioxidants	مضادات للأكسدة
Sodium pumps	مضخات الصوديوم
Beaded appearance	مظهر محبب

معقد تحفيز إشارات الموت

نخر خلوي (تنكرز)

Protein complexes	معقدات بروتينية
Innate immune	مناعة أصيلة
Adaptive immune	مناعة تكيُّفية
Humoral immunity	مناعة خلطية
Platform	منصة
Negative regulators	منظمات سالبة
Mutagens	مواد المطفرة
Oxidants	مواد مؤكسدة
Eryptosis	موت خلايا الدم الحمراء المبرمج
Apoptosis	موت خلوي مبرمج
Labeled	موسوم
Pro-oxidants	مؤكسدات الأولية
Methylation	ميثلة
Methyl MethaneSulfonate (MMS)	ميثيل ميثان سلفونيت
Methemoglobin	ميثيموجلوبين

ن

Necrosis

Transcription نسخ

Connective tissue أسيح ضام

Maturation خضام

Recycling system أنظام إعادة التدوير الظلام

Dark repair system أنظام الإصلاح في الظلام ألإصلاح في الضوء

Auto-immunity spontaneous system	نظام المناعة الذاتية التلقائية
Permeabilization	نفاذية
Checkpoint	نقاط الفحص
Deletion	نقص
Hypoxia	نقص الأكسجين
Byproducts	نواتج ثانوية
Nitroosogaunidine (NG)	نيتروز جوانيدين
Halides	هاليدات
Hypoxanthine	هايبوزانثين
Catabolism	هدم أيضي
Steroid Hormones	هرمونات ستيرويدية
Histamine	هيستامين
Helicase	هيليكيز
Hemoglobin	هيموجلوبين
g	
Webs	وترات (أغشية)
Reverse genetics	وراثة عكسية
Malignant tumor	ورم خبيث
Proofreading function	وظيفة محررة

# ثانياً: إنجليزي – عربي



إنزيم ناقل لمجموعة الأستيل Acetyl transferases (HATs) Acetylation تَحَمُّض Acidification أكتين Actin مناعة تكيفية Adaptive immune شيخوخة Aging خلايا غير محببة Agranulocytes مواد مؤلكلة Alkylating agents إنزيم ناقل لجحموعة الألكيل Alkyltransferases أليل Allele مرض الزهايمر Alzheimer disease اختبار إيمز Ames test أحماض أمينية Amino acids ضمور عضلي Amyotrophic أجسام مضادة Antibodies مضاد للسرطان Anti-cancer مواد مؤكسدة Antioxidants موت خلوي مبرمج **Apoptosis** أنتجين الموت الخلوي المبرمج Apoptosis antigen-1 (APO-1) عامل محفز للموت الخلوي المبرمج Apoptosis inducing factor (AIF)

ثبت المصطلحات

Apoptotic bodies (Apoptosoms)

Apoptotic protease activation factor
(APAF)

Ascorbic acid

Autoimmune diseases

Auto-immunity spontaneous system

Autophagosome

Base analogs

Beaded appearance

Bidirectional

Biomarkers

Biomarkers

Biomedical systems

Biomedical systems

Butylated hydroxytoluene (BHT)

Byproducts

Byproducts

Carotenoids حاروتينويدات الادنا (Caspase-Activated DNase (CAD) انزيم كاسبيس منشط لتحلل الدنا (Caspases انزيمات الكاسبيس الكسبيس منشط لتحلل الدنا (Caspases انزيمات الكاسبيس هدم أيضي الاعلان الكاسبيس كاتاليز (Catalase الاعلان الكاسبيس كاتاليز الاعلان العلان العلى العلان ا

Catechines

كاتشنات

Cell cultures مزارع خلوية

دورة الخلية

مسارات موت الخلية Cell death pathways

حركة النقل الخلوى حركة النقل الخلوى

Centromere سنترومير

Ceramide ميراميد

Chaperones شبرونات

Chargaff's rules قواعد شراجاف

Checkpoint نقطة فحص

Cholangiocytes خلايا كبدية صفراء

Chromatin کروماتین

Tirrhosis تلیف کامل

Co-enzymes مرافقات إنزيمية

Collagenous tails

Complementary base قاعدة متممة

ربيئة استزراع كاملة Complete media

Condensed مكثف

Connective tissue نسيج ضام

Contractile force قوة قابضة

حسم أصفر

Crossing over عبور

Cross-links ارتباط عبوري

Cyclin dependent kinases (Cdks) بروتينات السيكلين المعتمدة على الكاينيز

ثبت المصطلحات

Cystic fibrosis تلیف کیسی

Cytokines

Cytoskeleton reorganization إعادة تنظيم الهيكل السيتوبلازمي

Sytosol عصارة (سائل) خلوي

Cytotoxicity سمية خلوية

D

حساسات التلف

Dark repair system

Death domains (DD)

Death receptor (DR)

Death signals

Death-inducing signaling complex معقد تحفيز إشارات الموت

(DISC)

Decipher فك الشفرة

Deletion نقص

Deoxyribonucleic acid (DNA) هض نووي منزوع الأكسجين (الدنا)

Detoxify إزالة السمية

Dimers ثنائيات (دايمر)

DNA damage

DNA damage response

DNA ligase إنزيم الدنا اللاصق

DNA packing تعبئة الدنا

DNA polymerase إنزيم بلمرة الدنا

DNA recombination	إعادة اتحادات الدنا
	اعاده الحادات الدن

DNA repair mechanisms آليات إصلاح الدنا

DNA Replication

Double mutant طفرة مزدوجة

Double-strand DNA breaks (DSBs)

Dysfunctions عيوب وظيفية



Embryonic fibroblast خلايا ليفية جنينية

Endocytosis إدخال خلوي

داخلي المنشأ داخلي المنشأ

Endothelial خلايا طلائية داخلية

Endotoxins سموم داخلية

Engulf ابتلاع

Epidermis خلايا البشرة

Error-prone repair إصلاح معرض للخطأ

Eryptosis موت خلايا الدم الحمراء المبرمج

Erythropoiesis

Ethyl MethaneSulfonate (EMS)

Eukaryotic حقيقة النواة

Executioner caspases إنزيمات الكاسبيس المنفذة

Exogenous خارجي المنشأ

 0

Fibroblast خلايا ليفية **Fibrosis** تلیف جزئی Flavonoids فلافو نويدات Free fatty acids أحماض دهنية حرة Free radicals جذور حرة Functional proteins بروتينات وظيفية Gene knocked out technology تقنية تعطيل وظيفة الجين Genetic records سجلات النسب Genome جينوم Global genomic repair (GGR) إصلاح جينومي عام Glutathione جلوتاثيون Glutathione Peroxidase جلوتاثيون بيروكسيديز إنزيمات تحلل الجلايكوجين Glycosylases Granulocytes خلايا محببة

بروتين إيقاف النمو

جوانين

Growth arrest-specific protein

Guanine (G)

Halides ماليدات Helicase هليكيز

Helper cells	خلايا مساعدة
--------------	--------------

Hemoglobin هيموجلوبين

Hemolytic anemia فقر الدم التحللي (أنيميا)

Herbicides مبيدات الحشائش

Heterochromatin كروماتين متباين

Histamine هستامين

Histone proteins بروتينات هستونية

Homeostasis اتزان

Homologous recombination repair إصلاح بإعادة الاتحاد المتماثل

(HRR)

متماثل Humoral immunity مناعة خلطية

Homology

Huntington's disease

مرض هنتنقتون

Hydrogen peroxide فوق أكسيد الهيدروجين

Hydrophilic محب للماء

Hydrophobic كارهه للماء

Hydroxyl radical جذور الهيدروكسيل

Hypoxanthine هايبوزانثين

Hypoxia نقص الأكسجين

Immune tolerance تحمل مناعي

Immunization

Immunosuppressive signals إشارات التثبيط المناعي

In vitro cell culture استزراع الخلايا خارج الجسم In vivo cell culture استزراع الخلايا داخل الجسم

Induced proximity يقارب محُفَز

Inducers عفزات

أجسام التهابية أجسام التهابية

Inflammations التهابات

Ingestion receptor (الاحتضان) مستقبل الابتلاع (الاحتضان)

Inhibitors مثبطات

Initiator caspases کاسبیس بادئة

مناعة أصيلة مناعة أصيلة

بروتينات متداخلة Integral proteins

Ionizing radiation أشعة مؤينة

K

خلایا کوفر Kupffer cells

Labeled

Lamina لامينا

Lethal genes جينات مميتة

Leukemia (لوكيميا)

أجسام لوى

Ligands تربطات

Light repair system

Linker DNA دنا رابط

Lipoproteins

Lysosome vesicles

Lysosomes

لا جسام المحللة

المحسام محلله

المحسام محلله

المحرت الكبيرة

التهام ذاتي للحزيئات الكبيرة

البلاعم الكبيرة

البلاعم الكبيرة

المحرت المحريئات الكبيرة

المحرح خبيث

نضج نضج Metamorphosis

Maturation

Methemoglobin میثوجلوبین

Methyl MethaneSulfonate (MMS) میثیل میثان سلفونیت

Methylation میثلة

Methyltransferase إنزيم ناقل الميثلة

Micro-autophagy

Microtubule-associated proteins (MAPs) بروتينات مرتبطة بالأنيببات الدقيقة

Minimal culture media بيئة استزراع منتقصة

Mitosis -promoting factor (MPF)

Mitotic (M) انقسام ميتوزي

Mobile loops عروات متحركة

Monocytes خلايا وحيدة

Morphological features خصائص شكلية

Mucus

المحتويات المحتويات

Mustard gas غاز الخردل

Mutagens مطفرات

طفرات وراثية طفرات

ميوسين Myosin

N

Native configuration بنية البروتين الساسية

Natural killer cells (NK) خلايا طبيعية قاتلة

Necrosis تنكرز (نخر خلوى)

Negative regulators منظمات سلبية

نيتروزجوانيدين Nitroosogaunidine (NG)

مض النيترك Nitrous acid

Non-homologous end joining repair عير المكسورتين غير

(NHEJR)

Rucleosome ووي

شذوذ کروموسومی عددي شدوذ کروموسومی عددي

طفرات تغذوية Nutritional mutation

Oncogenes جينات مسرطنة

Operator مشغل

Organogenesis تكون الأعضاء (تعضي)

Overexpression يعبير جيني عالٍ

مواد مؤكسدة Oxidants

Oxidase

Oxidative stress	جهد تأكسدي
Oxygen reactive species (ROS)	أنواع الأكسجين الحرة

P

Parkinson disease مرض باركنسون Pathogens علم الأمراض Pathology Peritoneal بريتوني تحويل النفاذية Permeability Transition (PT) نفاذية Permeabilization أجسام بيروكسية Peroxisomes جذور البيروكسيل Peroxyl radical مبيدات الحشرات Pesticides خلايا بلعمية Phagocytes حويصلة ملتهمة Phagocytes vacuole بلع خلوي Phagocytosis تأثيرات مظهرية Phenotypic effects دهون فوسفاتية Phospholipids Phosphorylation فسفرة فوسفوتيديل سيرين Phosphotidylserine Photolyase تنشيط ضوئي Photoreactivation Platform بلمرة Polymerization

Pores	ثغور
Preclinical studies	دراسات قبل سريرية
Procaspase	كاسبيس أولي
Prokaryotic	بدائية النواة
Promoter	محرض (محث)
Proofreading function	الوظيفة المحررة
Pro-oncogene	جين مسرطن أولي
Pro-oxidants	عوامل مؤكسدة أولية
Protein complexes	معقدات بروتينية
Protein folding	انثناء (التواء) البروتين
Proteins localization	تمركز البروتينات
Proteolysis pathways	مسارات التحلل البروتيني
Pseudopod	قدم كاذبة
Psoriasis	صدفية

R

 Radicals scavenger
 کاسح الجذور

 Recruitment
 بخنید (تطویع)

 Recycling system
 نظام إعادة التدوير

 Re-generable
 قابل للتحدد

 Regulatory genes
 جينات مُنَظِمَة

 Replication fork
 شوكة التضاعف

 Reverse genetics
 وراثة عكسية

 Rheumatoid arthritis
 التهاب المفاصل الرثياني

Ribonucleic acid (RNA)

حمض نووي رايبوزي (الرنا)

S

Selenium سيلينيوم

Self-destruction (انتحار)

Sensors حساسات

Single-strand DNA-binding protein بروتينات مرتبطة بالسلاسل الفردية للدنا

(SSP)

جيوب Sinusoid

Sinusoidal endothelial cells خلايا بطانية جيبية

Sister chromatids كروماتيدات شقيقة

Slippage

عضلات ملساء Smooth muscle

مضخات الصوديوم

Sphingosine سفنجوسين

Spindle fibres ألياف المغزل

Stellate cells خلايا نجمية

هرمونات ستبرویدیة Steroid Hormones

جلطة دماغية جلطة دماغية

شذوذ الكرموسومات التركيبي Structural chromosomal aberrations

Structural Maintenance of Chromosomes (SMC1)

Substrate Substrate

فوق أكسيد الهيدروجين

ثبت المصطلحات 719

Superoxide dismutase (SOD)	فوق أكسيد الدسميوتاز
	3
Survival signals	إشارات البقاء
Synapse	تشابك عصبي
Ū	
T-cells	خلايا تائية
Template	قالب
The death receptors pathways	مسارات مستقبلات الموت
Thymine (T)	ثايمين
Thymocytes	خلايا ثيموسية
TNF-related apoptosis-inducing ligand	عامل النخر الورمي المرتبط بالموت الخلوي
(TRAIL)	المبرمج
Trans lesion DNA synthesis	تصنيع الدنا المتجاهل للضرر
Transcription	نسخ
Transcription factors	عوامل النسخ
Transcription-coupled - nucleotide	إصلاح بالاستئصال النيوكليوتيدي المقترن
excision repair (TC-NER)	بالنسخ
Translation	ترجمة
Translocation	انتقال
Trimming	تشذيب
Tumor necrosis factor	عامل النخر الورمي
Tumor suppressors	مثبطات الورم
U	
Ubiquitination	أبكوتين (تكون معقد الأبكوتين)
UV light	أشعة فوف بنفسجية

## الموت الخلوي المبرمج

77.



فيرو توكسين Verotoxin

W

Webs وترات

بري Wild

X-rays أشعة إكس

Zinc-Fingers Domains حقول أصابع الزنك

## نبذة عن المؤلف:

## الاسم: سعد بن حسين سعد القحطاني.

- أستاذ الوراثة الخلوية، كلية العلوم، جامعة الملك سعود الرياض.
- حصل على درجة البكالوريوس من كلية العلوم، جامعة الملك سعود الرياض، عام عام ١٤١٢هـ.
- حصل على درجة الماجستير في تخصص بيولوجيا الخلية والوراثة من كلية العلوم، جامعة الملك سعود الرياض، عام ١٤٢١ه.
- حصل على درجة الدكتوراه في تخصص الوراثة الخلوية من كلية العلوم، جامعة الملك سعود الرياض، عام ١٤٢٨ه.
  - حضر العديد من الدورات التدريبية التخصصية داخل المملكة وخارجها.
    - شارك في العديد من المؤتمرات المحلية والدولية.
- أدار ونفذ العديد من المشاريع البحثية الممولة من مدينة الملك عبدالعزيز للعلوم والتقنية وعمادة البحث العلمي كباحث رئيس.
  - عمل مع العديد من الفرق البحثية داخل المملكة وخارجها.
    - عمل مستشاراً غير متفرغ في وزارة التعليم
    - شغل بعض المناصب الإدارية في جامعة الملك سعود.
  - نشر حتى تاريخ صدور هذا الكتاب أكثر من ٨٧ بحثاً في مجلات علمية متخصصة (ISI).
    - أشرف على طلاب دراسات عليا وناقش العديد من الرسائل العلمية.
    - حكم العديد من الخطط الدراسية والبرامج الأكاديمية والكتب المترجمة والمؤلفة.
      - نشر بعض المؤلفات المحكمة في مجال الخلية والوراثة.