جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية العلوم

قسم علوم الحياة

الموت المبرمج للخلايا أنواعه وطرق الكشف عنه

بحث مقدم إلى مجلس قسم علوم الحياة / كلية العلوم

وهو من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الحياة

اعداد الطالبة

دانية علي عزيز السعدي

بإشراف

أ . د . علي عبد الحسين غزاي

١٤٣٩ هـ   ٢٠١٨ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿يَرْفَعِ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ ۚ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة المجادلة الآية (١١)

" الاهـــــــــــــداء"

إلى من كلله الله بالهيبة والوقار ... الى من علمني العطاء بدون انتظار ...

إلى من أحمل اسمه بكل افتخار ....

أرجوا من الله ان يمد في عمرك لترى ثماراً قد حان قطافها بعد طول انتظار...

وستبقى كاماتك نجوم اهتدي بها اليوم وفي الغد وإلى الابد...

إلى من الذي لا تفيه الكلمات والشكر والعرفان ...

والدي الحبيب

إلى من ركع العطاء امام قدميها ، واعطتنا من دمها وروحها وعمرها حباً وتصميماً ودفعاً لغدٍ أجمل ...

إلى من كان دعاؤها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي ... إلى الغالية التي لا نرى الامل الا من عينيها...

أمي الحبيبة

إلى من شاركني حضن الأم ، وبهم استمد عزتي واصراي ...

أخوتي

إلى الأخوات اللواتي لم تلدهن أمي ... إلى من تحلو بالإخاء وتميزوا بالوفاء والعطاء...

إلى ينابيع الصدق الصافي ... إلى من عرفت كيف أجدهم وعلموني أن لا اضيعهم ...

صديقاتي

الى الذين لولاهم لما كنا نعيش بسلام الآن ...

شهدائنا

" الــشــكــر والـتــقــديــر"

الشكر لله على جميع نعمه أولاً واخراً وظاهراً وباطناً

أما بعد...

لابد لنا ونحن نخطو خطواتنا الاخيرة في الحياة الجامعية من وقفة نعود الى اعوام قضيناها في رحاب الجامعة مع اساتذتنا الكرام الذين قدموا لنا الكثير باذلين جهوداً كبيرة في بناء جيل الغد لتبعث الامة من جديد

وقبل أن نمضي نقدم أسمى آيات الشكر والامتنان والتقدير والمحبة الى الذين حملوا اقدس رسالة في الحياة . الى الذين مهدوا لنا طريق العلم والمعرفة إلى جميع اساتذتنا الأفاضل في كلية العلوم.

واخص بالشكر الدكتور " علي عبد الحسين غزاي " الذي ساعدني في اتمام هذا البحث.

كما لا انسى ان اتقدم بكل الشكر والعرفان لوالديَّ اللذان لولاهما لما كنت.

الخلاصة Abstract:

تعتبر عملية الموت الخلوي المبرمج هامة للاتزان النسيجي Tissue homeostasis وبقاء الجسم صحيحاً وسليماً على قيد الحياة. فهي عملية منظَمة ومنظِمة في الوقت ذاته وتعتبر هذه العملية من اهم عمليات التنظيم الفسيولوجي دون المستوى النسيجي، وهي في غاية الاهمية لنمو وحيوية الانسجة والاعضاء في الكائنات الحية عديدة الخلايا في الظروف الفسيولوجية والمرضية. فخلال التكوين الجنيني ، يتم انتاج العديد من الخلايا الزائدة التي تخضع في النهاية للموت الخلوي المبرمج من خلال العديد من الوظائف الحيوية الطبيعية خاصة أثناء فترة التشكل مثل تخلص الجنين من الوترات (الاغشية) Webs بين الاصابع وإزالة الذيل في طور أبي ذنيبة وعملية التحول Metamorphosis في الحشرات وسقوط طبقة الرحم الداخلية في الاناث خلال الدورة الشهرية. وعموماً ، فإن عملية الموت الخلوي المبرمج لها اهمية حيوية واسعة الانتشار. فهي تلعب دوراً هاماً في عمليات التكوين والتمايز والتكاثر والتنظيم البدني الداخلي و وظيفة الجهاز المناعي وإزالة الخلايا المصابة والضارة. ولذلك فإن الخلل في وظيفة أو تنظيم هذا الموت الخلوي المبرمج يسبب حالات مرضية متنوعة.

إن العيوب في عملية الموت الخلوي المبرمج التي تؤدي الى إختلالات في العوامل الجزيئية المحفزة لهذه العملية مؤدية إلى منع حدوثها تؤدي إلى نشوء بعض الأمراض الناتجة عن تراكم الخلايا الشاذة مثل السرطان والالتهابات الفيروسية وأمراض المناعة الذاتية Autoimmune diseasesleg مثل التهاب المفاصل الرثياني. وتحدث أو تزداد أمراض التحلل العصبي والايدز Aids وداء الزهايمر Alzheimer وداء باركنسون Parkinson وداء هنتنجون Huntington نتيجة للموت الخلوي المكثف.

الموت المبرمج للخلية Programmed cell death (Apoptosis)

المقدمة:

تبنى الباحثون الكلمة الاغريقية Apoptosis لتمييز الموت الخلوي المبرمج عن أنواع الموت الخلوي الاخرى، وهذا يؤكد أن موت المادة الحية هو جزء تكاملي وضروري لدورة حياة الكائنات الحية. وهذا النمط من موت الخلية هو عملية نشطة ومحدودة وتلعب دوراً مهماً في تكوين الكائنات الحية متعددة الخلايا وفي تنظيم والحفاظ على عشائر الخلايا في الانسجة تحت الظروف الفسيولوجية والمرضية. ولابد من التركيز على ان الموت الخلوي المبرمج هو عملية محددة المعالم وتتضمن سلسلة من الخطوات المنظمة التي تؤدي في النهاية الى تدمير ذاتي Self-destruction موضعي ومؤقت، ومن الممكن ان يكون أكثر أنواع الموت الخلوي حدوثاً وتميزاً في الخصائص. ولقد صيغ التعبير Apoptosis لوصف العمليات الشكلية التي تؤدي الى التحطيم الخلوي الذاتي المنظم، لكن الانواع الاخرى من موت الخلية قد يكون لها ايضاً أهمية حيوية.

ففي العام ١٩٧٢ لاحظ الاسترالي Kerr المختص بعلم الامراض ورفيقاه الاسكتلنديان Currie و Wyllieظاهرة غريبة تتعلق بالموت الخلوي في انسجة الكائنات الحية وخاصة الثدييات. فقد لاحظ هؤلاء الباحثون أن هناك عملية استبعاد وشطب لخلايا معينة مثل الخلايا المسنة أو المصابة أو المتساقطة خلال التكوين الطبيعي للحيوان أو تلك التي بها طفرت دون خلايا أخرى في نفس النسيج وذلك بطريقة منظمة وبدرجة عالية من الدقة.

كما أثارت ظاهرة الموت الخلوي المبرمج تساؤل العديد من العلماء المهتمين بمجال بيولوجيا الخلية من حيث ماهية الاسباب التي أدت الى إلى حدوث ذلك الموت المفاجئ للخلية. ثم بدأت ملاحظات العلماء بأن ذلك

الموت الخلوي المبرمج قد يحدث بسبب العديد من العوامل فقد يحدث نتيجة افتقاد الخلية لأحد العناصر الهامة واللازمة لاستمرار حياتها او نتيجة لتلف الدنا DNA او المعاملة بعقاقير ذات سمية خلوية أو بالتعرض للأشعة أو فقد اشارات البقاء أو الجهد التأكسدي....الخ. كل هذه العوامل قد تؤدي الى موت الخلايا المبرمج الذي يحدث كنتيجة لاستجابة الخلايا لاشارات داخلية وخارجية المنشأ.

ان تكاثر الخلايا وحدوث الموت المبرمج الخلوي هما عمليتان اساسيتان وضروريتان لصيانة الانسجة وثباتها في جسم الانسان وغيره من الحيوانات. وكلتا العمليتين تتضمنان سلسلة من الاحداث الجزيئية المعقدة واثناء نمو الكائن تكون عملية إنتاج الخلايا أكثر من عمليات الموت الخلوي المبرمج.

*** مراحل تدمير الخلية التي تعاني الموت الخلوي المبرمج هي :**

١. مرحلة التحرر من النسيج Release stage

تنفصل الخلية خلال هذه المرحلة من الحشوة الخارج خلوية وتصبح مستديرة وتبتعد عن الخلايا المجاورة.

٢. مرحلة الحوصل وظهور الفقاعات Blebbing stage

تنكمش خلال هذه المرحلة خيوط الاكتين والميوسين Actin – myosin وتقترن بمحاورها مع الهيكل السيتوبلازمي وغشاء الخلية لتتكون الحويصلات والفقاعات.

٣. مرحلة التكثف Condensation stage

تتكثف الخلايا خلال هذه المرحلة وتتجزأ الى تراكيب محاطة بأغشية محكمة تسمى بأجسام الموت الخلوي المبرمج Apoptotic bodies التي تحتوي على السيتوسول والكروماتين المتكثف او المتغلظ والعضيات. أما النواة التي تبدلت قليلاً اثناء عملية الموت الخلوي بالتنكرز ، فتخضع لتغيرات درامية ثابتة اثناء عملية الموت الخلوي المبرمج ابرزها تكثف كروماتين النواة مشكلا كتلة واحدة او اكثر بالقرب من غلاف النواة وكذلك انكماش الخلية والسايتوبلازم تحت تأثير قوة قابضة ناشئة من الياف الهيكل الخلوي . كما يتبع ذلك تحطيم البروتينات التركيبية للنواة كانشقاق الصفيحة النووية Lamina وخيوط اللاكتين كما ان هناك تغيرات شكلية اخرى تتمثل في فقدان الزغبات الدقيقة الارتباط بين الخلايا . يتم التهام اجسام الموت الخلوي المبرمج بوساطة الخلايا الملتهمة الكبيرة وبذلك يتم ازالتها من النسيج دون ان تستثير اي استجابة التهابية.

لا تدخل الخلية مباشرة في الموت الخلوي المبرمج، بل إن هناك تقدير أولي لنسبة الضرر بواسطة حساسات التلف Damage sensors التي تتمثل في عدة جينات أشهرها جين *P53* الذي يكون تأثيره معتمداً على موقع الضرر ونوعه واتساع دائرته. فإذا كان الضغط الخلوي كبيراً ، فإن الخلية تموت بالتنكرز

(Necrosis)، أما اذا كان الضغط دون مستوى موت الخلية بالتنكرز واستطاعت بروتينات الخلية ان تحميها وتقاوم الأذى حتى يزول فالخلية تعود لطبيعتها. أما إذا كان مستوى الاذى متوسطاً ولم تستطع بروتينات الخلية حمايتها، ينشط حينذاك برنامج الموت الخلوي المبرمج. تصنع معظم الخلايا مجموعات بروتينية كاسحلة للتدمير الذاتي، فإذا كانت الخلية مفيدة للجسم، فإنها تقيد تلك الاسلحة ، أما اذا اصيبت الخلية بأذى واصبحت تشكل خطراً على جسم الكائن الحي فإن تلك البروتينات المميتة تتحرر وتبدأ عملها.

التمييز بين الموت الخلوي المبرمج (Apoptosis) والموت الخلوي التنكرز (Necrosis):

يحدث الموت الخلوي بالتنكرز عندما تصاب الخلية بصورة بالغة أو عندما يتوقف الدم عنها ومن ثم حرمانها من الاوكسجين على سبيل المثال. ويمثل الانتفاخ سمة واضحة ، فالعضيات الداخلية – واشدها وضوحاً المايتوكوندريا– والخلية بكاملها تنتفخ وتتمزق وتحدث هذه التأثيرات لأن الاصابة تمنع الخلية من ضبط التوازن الخاص بسائلها وايوناتها، أي الماء والجزيئات المشحونة (لاسيما أيونات الكالسيوم والصوديوم) التي تُضخ عادة خارج الخلية لكنها في حالة الاصابة تتدفق إلى داخل الخلية مما يؤدي إلى انفجار الخلية مطلقة محتوياتها إلى الفراغات بين الخلوية المجاورة، مما يعرض الخلايا المجاورة للأذى أو الموت إذ أن الاجسام المحللة Lysosomes قد تسبب قتل الخلايا المجاورة وقد تكون النتائج جسيمة. ويمثل الالتهاب سمة مميزة أخرى، فالبلعميات الكبيرة الجوالة والخلايا الدموية البيضاء الاخرى للجهاز المناعي تتجمع حول الخلايا المتنخرة وتلتهمها. ويساعد الالتهام على الحد من الخمج (infection) وعلى ازالة الحطام ، إلا أن فاعلية خلايا الدم البيض وافرازاتها ربما تؤذي أيضاً النسيج السليم المجاور في بعض الاحيان يكون ذلك الأذى واسعاً. أما عند مراقبة الخلية التي تعاني الموت الخلوي المبرمج، فيلاحظ أنها تمر بعدة خطوات ، وكان اول من قام بتوضيح تلك الخطوات الباحث Wyllie (1980) من خلال ما شاهده على خلايا الغدة الدرقية التي عوملت بهرمونات Glucocoticoids فلم يرى اي انتفاخ ولكن الخلية الميتة بهذه الطريقة انكمشت نتيجة لخروج الماء منها وانسحبت بعيداً عن جارتها وسرعان ما بدت وكأنها تغلي ، لتشكل فقاعات (حويصلات Blebs) على السطح.

الموت الخلوي المبرمج Apoptosis	الموت الخلوي بالتنكرز Necrosis
أ. الخصائص الشكلية Morphological features	
. تحوصل الغشاء البلازمي وعدم فقدان ماهيته. . تجمع الكروماتين عند الغلاف النووي. . يبدأ بانكماش السيتوبلازم وتغلظ النواة . . ينتهي بتجزؤ الخلايا الى اجسام صغيرة . . تكون حويصلات (أجسام Apoptotic).	. فقدان لسلامة الغشاء البلازمي. . يبدأ بانتفاخ السيتوبلازم والمايتوكوندريا. . ينتهي بتحلل كلي للخلية . . عدم تكون حويصلات. . انتفاخ العضيات وتحللها.

. الميتوكوندريا تصبح سربة نتيجة تكون ثقوب تتضمن بروتينات العائلة bcl-2.	
الخصائص الكيموحيوية Biochemical features	
. عملية شديدة التنظيم وتتضمن خطوات تنشيط وخطوات انزيمية. . يحتاج إلى طاقة (عملية نشطة ، لا تحدث عند ٤ مْ . تجزؤ غير عشوائي لـ DNA (سلم الدنا) ويحدث بعد التحلل. . تحرر عوامل متنوعة مثل Cytochrom –C و AIF من المايتوكوندريا إلى السيتوبلازم. . تنشيط لسلسلة Caspases	. عملية تفقد تنظيم الاتزان الداخلي للأيونات. . لا يحتاج إلى طاقة (عملية سلبية، تحدث أيضاً عند ٤ مْ). . تجزء عشوائي لـ DNA ويحدث قبل التحلل.
الاهمية الفسيولوجية Physiological significance	
. يؤثر على خلايا فردية . . يستحث بوساطة محفزات فسيولوجية (فقدان عوامل النمو، تغير في البيئة الهرمونية وغيرها). . الالتهام بوساطة الخلايا المجاورة او الملتهمة. . لا تحدث استجابة مناعية.	. يؤثر على مجاميع خلوية . . يستحث بوساطة اضطرابات غير فسيولوجية (السموم ، الفيروسات المحللة، نقص الازوكسجين). . الالتهام بواسطة الخلايا الملتهمة. . تحدث استجابة مناعية.

جدول يوضح تمييز واهمية التنكرز والموت الخلوي المبرمج

مسارات الموت الخلوي المبرمج Apoptosis pathways:

١. مسارات داخلية Intrinsic pathways:

تتضمن الكاسبيس -٩ الذي يتم تنشيطه خلال أحداث موت أوليه Proapoptotic ميتوكوندرية عندما يسمى بجسم الموت الخلوي المبرمج Apopotosome وهو عبارة عن معقد إشارة موت بروتيني سيتوسولي يتم تكوينه بعد تحرر Cytochrome-C من الميتوكوندريا ، ويتألف من [ATP, Procaspases-9, ApaF-1, Cytochrome-C]، الذي يقوم بتنشيط الكاسبيسس المبدئة، والتي بدورها تنشط الكاسبيس المنفذة وذلك عن طريق التحلل البروتيني لكل Procospase 3, 6, 7 والتي تقوم بتجزئة مجموعة من الركائز البروتينية الخاصة بما فيها الكاسبيس الاولية نفسها لتعمل على تسهيل وتضخيم إشارة الموت ويحدث موت الخلية بمظاهره

الشكلية والكيموحيوية التي تشاهد عادة (Susin *et al.*, 1999; Stoica *et al.*, 2001; Acehan *et al.*, 2002; Green *et al.*,2002; Diaz *et al.*, 2003; Bello *et al.*,2004 Shi *et al.*, 2004).

٢. مسارات خارجية Extrinsic pathways:

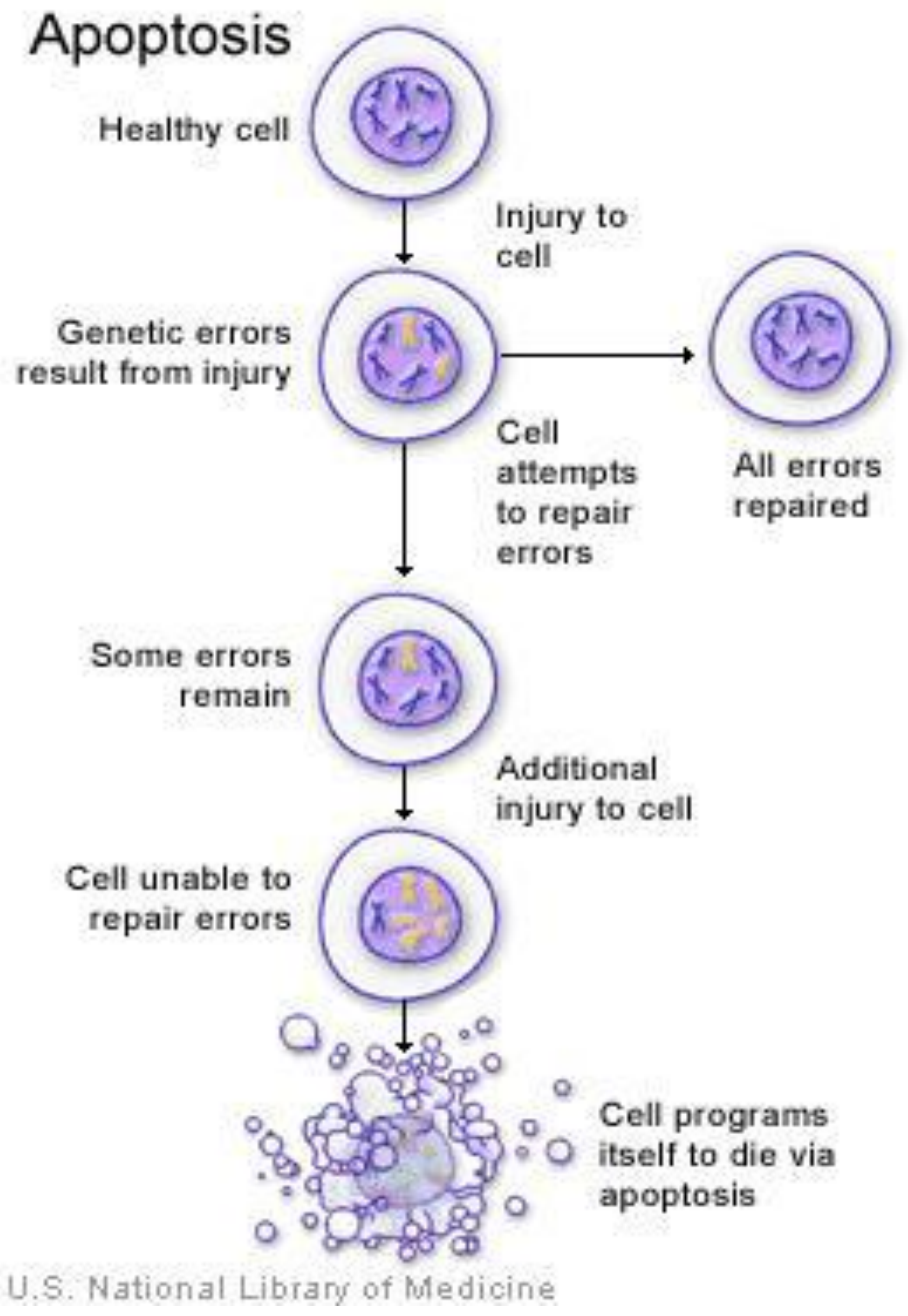
يتم تسهيل اشارة الموت الخلوي المبرمج الخارجية بواسطة تنشيط ما يدعى بمستقبلات الموت Death receptors وهي مستقبلات خلوية سطحية تقوم بنقل اشارات الموت بعد ارتباطها بربيطاتها الخاصة (Ligands) ومن هذه المستقبلات TNFR-1 و CD95 و Fas. اشارة الموت يتم تسهيلها بالجزء السيتوبلازمي لمستقبل الموت الذي يحتوي على تتابع يسمى حقل الموت Death domain (DD).

كما ان جزيئات الوصيلات (Adaptor) مثل FADD أو TRADD تمتلك ايضاً الـ DDs الخاص بها والتي بواسطتها يتم تطويعها للـ DDs لتكوين ما يسمى معقد اشارة حث الموت Death inducing signaling complex (DISC) .

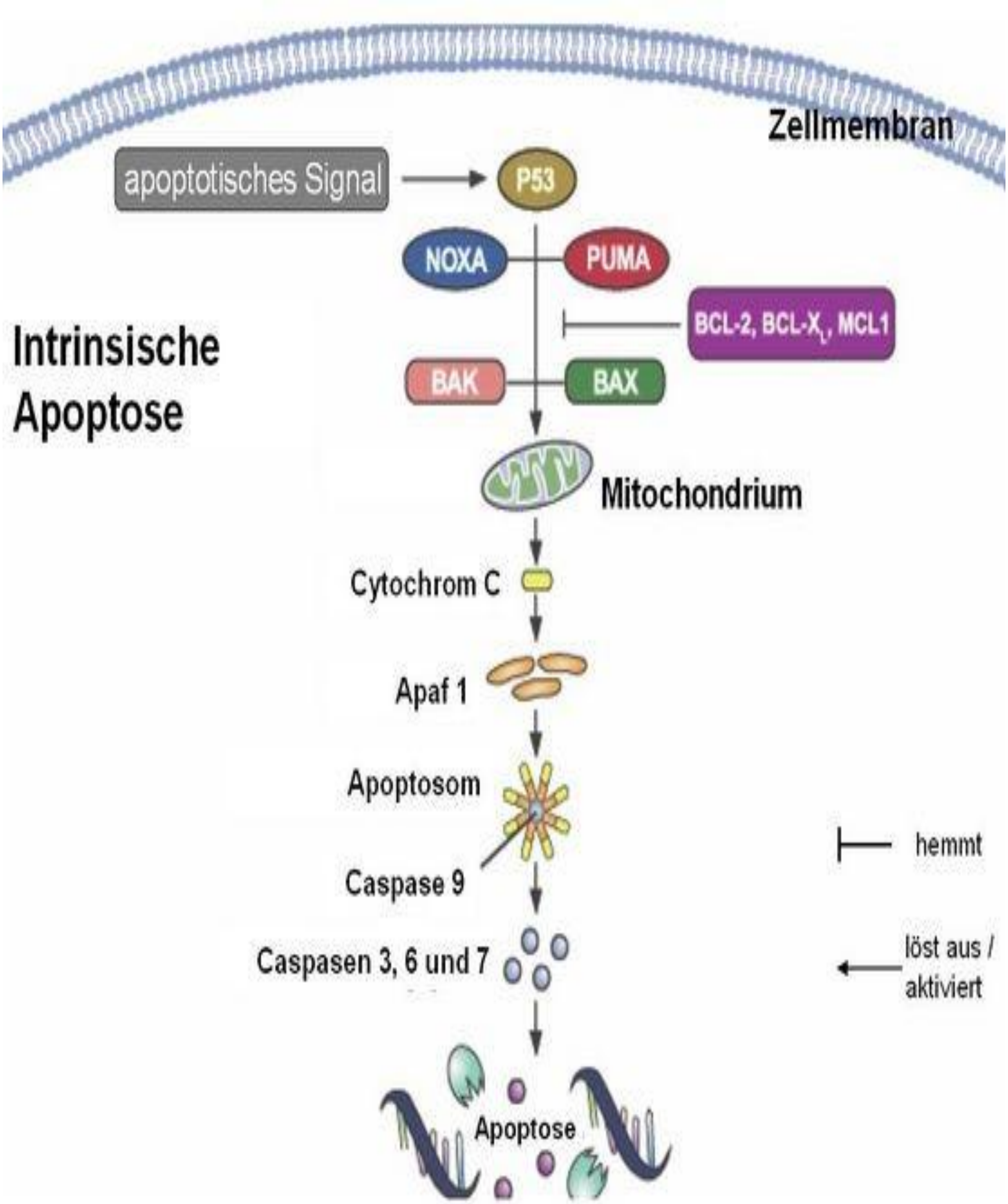
ان التركيز الموضعي لجزيئات الـ Procaspase-8 العديدة عند (DISC) يؤدي الى تحفيزها الذاتي وتحرير Caspase-8 النشط الذي يؤدي بعد معالجته لتجزئة ركائز خاصة لينتج عن ذلك موت الخلية. ان الخلايا التي تمتلك القدرة على حث الموت الخلوي المبرمج بطريقة مباشرة ومعتمدة على Caspase وبصورة رئيسية تسمى بالنوع – ١، بينما اذا كانت الاشارة الآتية من المستقبل المنشط لا تنتج سلسلة اشارات الـ Caspase وبقوة كافية لتنفيذ موت الخلية بنفسها فإن الاشارات تحتاج الى تضخيم عن طريق مسارات الموت الخلوي المعتمدة على المايتوكوندريا وتسمى في هذه الحالة بالنوع– ٢ .

الارتباط بين سلسلة اشارة Caspase والميتوكوندريا يتم تزويده بعضو العائلة Bcl_{-2} المسمى Bid الذي يتم قطعه بالـ Caspase-8 حيث ينتقل بشكله المبتور () الى المايتوكوندريا ويعمل بانسجام مع Bax و Bak التابعة للعائلة نفسها لحث تحرير Cytochrom C وعوامل ميتوكوندرية اخرى مرتبطة بموت الخلية الى

السيتوسول ليتكون في هذه الحالة المعقد Apoptosome الذي يحث تنشيط سلسلة من الاحداث تؤدي الى تنشيط Caspase 3, 6, 7 وفي النهاية يؤدي الى موت الخلية (Rathmell and Thompson, 2002; Miller et al., 2006 ; Vondracek et al., 2006).



صورة (١) توضح عملية Apoptosis



صورة (٢) توضح مسارات الموت الخلوي

الكشف عن الموت الخلوي المبرمج Apoptosis :

يمكن الكشف عن الموت الخلوي المبرمج بالعديد من الطرق التي منها الفحص بالمجهر الضوئي ، حيث تتميزالخلايا اثناء المراحل المختلفة للموت الخلوي المبرمج بتغيرات خلوية ونووية على هيئة تكثيف خلوي ونووي وظهور نوى غير منتظمة الشكل ومتجزئة وما يعرف باجسام الموت الخلوي المبرمج وهي مبتلعة داخل الخلايا المجاورة (Kawasaki *et al.*, 2000).

اما المجهر الالكتروني فانه يتيح التعرف على طبيعة التراكيب الدقيقة للخلية وعضياتها وبالتلي التعرف من قرب لطبيعة التغيرات الحادثة بالشكل الخارجي للخلايا المتأثرة (مثل ما يحدث بالغشاء البلازمي من افتقاد للزوائد الزغبية الدقيقة والتغيرات التي تطرأ على المايتوكوندريا).

حيث اتجه الكثير من الباحثين الى محاولة تصميم العديد من الاختبارات التي تستهدف الكشف عن الموت الخلوي المبرمج مثل اختبار التعليم الانزيمي تنل TUNEL enzyme واختبار (ADP) واختبار Lamina –A واختبار تجزئة الدنا DNA fraqmentation (Rao et al., 1996; Shao et al., 1998; Green et al., 2002; Miller et al., 2006).

*** اختبار تجزئة الدنا DNA fragmentation test:**

لا زالت المعلومات غير كاملة حول الية السمية الخلوية والوراثية لبعض المواد الكيميائية في الانظمة الخلوية ، الا ان تلك المعلومات لا غنى عنها في المستقبل لتحسين وتطوير وسلامة نظم الطب الحيوي Biomedical systems.

يحدث للخلايا التي تتعرض للمواد السامة تغيرات شكلية كسمات لحدوث الموت الخلوي المبرمج منها تكثف الكروماتين وتكون سلم الدنا (DNA Ladder) في الدنا المستخلص من الخلايا المعاملة (Kuo et al., 2005, Lee et al., 2005).

ان حدوث تجزئة الدنا هي نتيجة لموت الخلايا بوساطة الموت الخلوي المبرمج حيث يتجزأ الدنا الى قطع منتظمة بطول ٥٠ – ٢٠٠ كيلو زوج قاعدي تقريبا ثم يتبع ذلك تحلل هذه القطع الى وحدات نيوكليوسية ، تو تجزئة الدنا نتيجة للموت الخلوي بالتنكرز الى اجزاء غير منتظمة (Iwamoto et al. 2005; Mizutani et al., 2005; Shashi et al., 2006; Wang and Yadav, 2006).

ان انزيم Cytochrome – C من الميتوكوندريا ينشط مجموعة من انزيمات الكاسبيسس والتي بدورها تحفز تجزئة الدنا . كما اثبتت التجارب خارج جسم الكائن الحي ان مثبطات انزيم اصلاح الدنا المعروف بـ PARP تحفز تجزئة الدنا وهذا من الادلة التي تؤكد حدوث الموت الخلوي المبرمج (Chen et al., 2005; Fujikawa, 2005; Mizutani et al ., 2005). ولقد اتجه العديد من العلماء الى محاولة تصميم العديد من الاختبارات التأكيدية لنتائج الموت الخلوي المبرمج الذيم تم الحصول عليه من الفحص الميكروسكوبي بعد تعريض الخلايا للمواد الكيميائية المختبرة. ومن امثلة الاختبارت هو اختبار تجزئة الدنا باستخدام طريقة الفصل الكهربي بجل الاكاروز Agarose gel electrophoresis (AGE) للحمض النووي المستخلص من الخلايا المتأثرة.

*** اختبار Poly (ADP-ribose) Polymerase (PARP):**

إن تعرض الخلايا للمركبات الكيميائية السامة يجعلها تتأثر وعند مستويات مختلفة، ومن الاهداف التي تتأثر نتيجة التعرض لمثل تلك المركبات السامة أحد انزيمات اصلاح الدنا والذي يطلق عليه اسم Poly (ADP-ribose) Polymerase (PARP).

وهذا الانزيم هو عبارة عن بروتين نووي يبلغ وزنه الجزيئي ١١٦ ك د ، وعند حدوث كسور في الدنا تنشط عملية تميؤ PARP وبروتينات نووية أخرى استجابة للتلف البسيط الذي اصاب الدنا ويتعرف PARP على مواقع كسور الدنا المفردة او المزدوجة ويرتبط بها. وتنشيط PARP هو اول خطوة تتم كاستجابة لاعاقات الدنا. إن دور PARP ليس مفهوماً بشكل جيد في الوقت الحالي ، ولكنه متورط في العديد من الاستجابات الخلوية ذات العلاقة بالضرر الناتج عن السمية الوراثية والتي ترتبط بحياة او موت الخلية وتحولاتها واصلاح الدنا (Bursztajn et al., 2000; Virag et al., 2003; Wijk and Hageman, 2005; Kang et al., 2006).

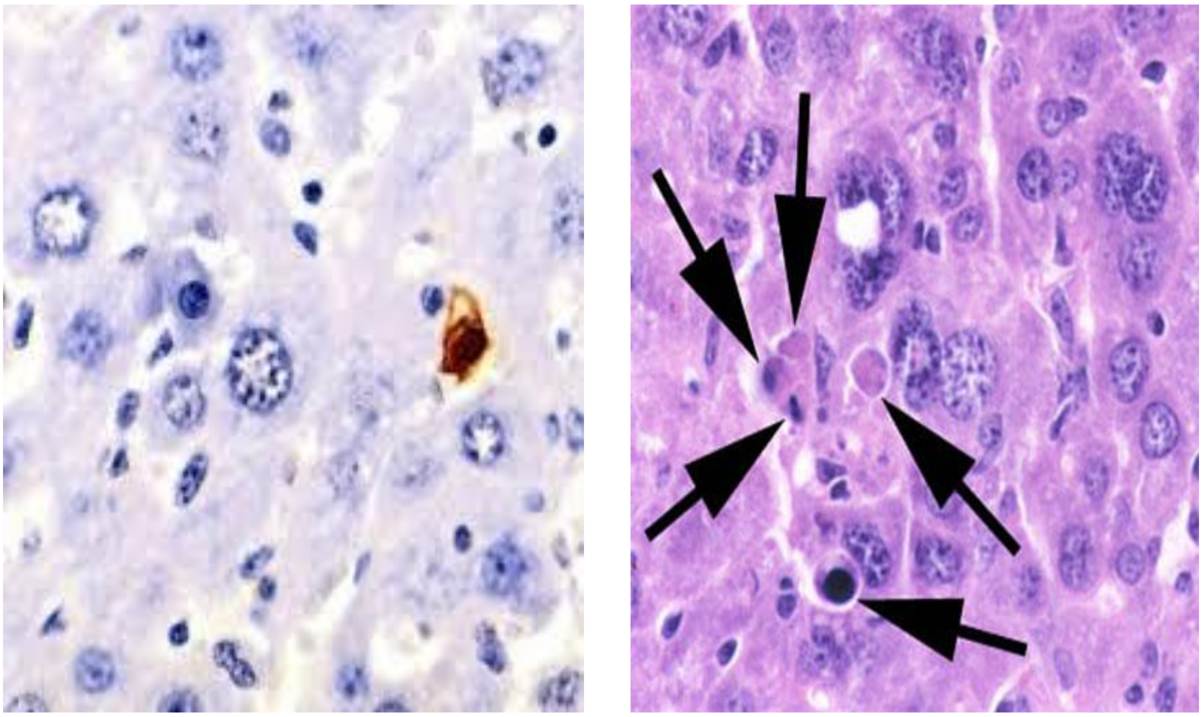
التغيرات الجوهرية التي تحدد مسار الموت الخلوي المبرمج تتضمن PARP والعامل المحفز للموت الخلوي المبرمج (Apoptosis Inducing factor (AIF ، فتنشيط PARP يحفز نقل (AIF) من المايتوكوندريا الى النواة مسبباً تكثف وتجزؤ الدنا وبالتالي موت الخلية.

ولقد اثبتت التجارب التي اجريت لإعاقة تنشيط PARP عن طريق استخدام مثبطات PARP ان نشاط هذا الانزيم ضروري لانعاش الخلايا بعد تعريضها لأضرار بسيطة في مادتها الوراثية . لكن عند تعرض تلك الخلايا لعمليات تلف كبيرة وكسور في الدنا ، فإن نشاط PARP يؤدي الى استهلاك الطاقة وتلف الدنا الكبير وانتحار الخلايا المتأثرة عن طريق الموت الخلوي قبل ان تتمكن تلك الخلايا من اصلاح الدنا، وهذا الانتحار مفيد للكائنات قبل ان تتعرض لمعدلات طفور عالية(Wijk and Hageman, 2005).

*** اختبار لامينا : Lamina test**

اللامينا Lamina النووية: هي عبارة عن شبكة ليفية تبطن الغشاء النووي الداخلي . ويعتبر اللامينا احد التراكيب الجزيئية الكبيرة ولهذا البروتين اهمية بالغة من الناحية التركيبية والوظيفية فله دور في تنظيم الياف المغزل اثناء الانقسام الخلوي كما يساهم في تركيب وتدعيم غلاف النواة حيث يعطي النواة شكلها وقوامها الطبيعي ، كما ان لبروتين اللامينا دوراً في التحكم بدورة الخلية وتضاعف الدنا وتنظيم الكروماتين والنواة ونسخ الرنا RNA ومعالجة mRNA ونمو وتمايز الخلايا والموت الخلوي المبرمج. وتطفر جينات اللامينا يؤدي الى حدوث مجموعة كبيرة من الامراض الوراثية في الانسان (Gruenbaum et al., 2000; Pentikaninen , 2002; Diaz et al., 2003; Gruenbaum et al., 2003) وتتكون اللامينا من اربع سلاسل بروتينية مختلفة هي Lamina A, B1, B2, C (Taimen and Kallajoki, 2003; Taimen et al., 2004 ; Bjerke and Roller, 2006).

وبروتين اللامينا-أ هوكغيره من البروتينات التي تتأثر نتيجة لتأثير المركبات الكيميائية السامة والمحفزة للموت الخلوي المبرمج. ان اللامينا -أ الذي يعتبر ركيزة لإنزيم الكاسبيس-٦ الذي ينشط أثناء المراحل الاخيرة للموت الخلوي المبرمج ويشطر بروتين اللامينا-أ ذو الوزن الجزيئي ٧٠ ك د الى قطعتين احدهما كبيرة و وزنها الجزيئي حوالي ٤٥ ك د واخرى صغيرة و وزنها الجزيئي ٢٨ ك د. وباستخدام الاجسام المضادة ، يتم تحديد تلك القطع في حالة وجود الموت الخلوي المبرمج الناتج عن تأثير المركبات الكيميائية السامة او عدم وجوده في حالة عدم ظهور تلك القطع البروتينية. إن انشطار اللامينا يؤدي الى حدوث تغيرات شكلية وكيموحيوية في الخلايا منها تكثف النواة وتمزق غلافها وتفسخها كدليل على موت الخلية موتاً خلوياً مبرمجاً (Rao *et al.*, 1996; Croft *et al.*, 2005; Kivinen *et al.*, 2005; Tanel and Bates, 2005; Kang *et al.*, 2006).



صورة (٣) مقاطع نسيجيه توضح الموت المبرمج في كبد فأر

الاستنتاج:

ان عملية الموت المبرمج الخلوي Apoptosis هي عملية شديدة التنظيم وتتضمن خطوات تنشيط وخطوات انزيمية ، وتحتاج الى طاقة، وتنتهي بتجزؤ الخلايا الى اجسام صغيرة . لذلك يعتبر الموت الخلوي المبرمج ظاهرة منظمة ذات اهمية لنمو وحيوية الانسجة والاعضاء في الكائنات الحية عديدة الخلايا في الظروف الفسيولوجية.

واخيراً تلعب عملية الموت المبرمج الخلوي دوراً هاماً في عمليات التكوين والتمايز والتكاثر والتنظيم البدني الداخلي و وظيفة الجهاز المناعي وازالة الخلايا المصابة والضارة.

المصادر

1. Acchan et al, 2002, Green et al., 2002; Diaz et al., 2003; Bello et al., 2004.

2. Corconan et al., Hamada et al.; Nagata et al.; Kang et al., Worfesberger et al., 2006.

3. Duke et al., 1996; Canova et al., 1998, Zuzarteluis.

4. Dibartolomeis and mone, 2003, nagata et al. , 2003.

5. Leist and Daattela, Zool, Rathmell and Thompson, 2002.

6. Lopus, M., D. Panda. 2006. The enzophenanthridine alkaloid sanguinarine perturbs microtubule assembly dynamic through tubulin binding. A possible mechanisms for its antiproliferative activity . J . FEBS. 273 (10): 2139-50.

7. Iwamoto et al., 2005, Mizutani et al., 2005, Shashi et al., 2006; Wang and Vadav, 2006.

8. Meng, X. L. , N. H. Riordan, J. J. Casciari, Y. Zhu, Zhong, J. Gonzalez, M. J. Miranda-Massari, J.R.and H.D. Riordan, 2002. Effect of a high molecular Mass *Convolvulus arvensis* extract on tumor growth and angiogenesis, PRHS. J., 21: 323-328.

9. Mukherjee, A.B. Sourar, .Nabainta, S. and C. Anil , 2001. Advance in cancer therapy with plant based natural product. Current medical chem. 1467 – 1486.

10. Okamura, H.S.Kashiwamura, Tsutsui , H. T. Yoshimoto, and K. Nakanishi 1998. Regulation of interferon – γ production by IL-12 and IL-18. Curr. Opin. Immunol., 10: 259-64.

11. Pathake, S., A. S. Multani, S. Narayan, V. Kumar, R.A. Newman. 2000. Anvirzel ™ ,an extract of Nerium oleander, induced cell death in human and mouse cancer cells. Anticancer drag, 11:455-463.

12. Pentikanien, 2002, Schatte et al. , regulated and regulator rondracck et al.m 2002.

13. Rathmell and Thampson, 2002, Croft et al., 2005.

14.Ran cruchten and randen, 2002, gioragio et al., 2005.

15. Rao et al., 1006; Shao et al., 1998, Green et al., 2002.

16. Susin et al., 1999, Stoica et al., 2001.

17. Schmidt, M. and H. Bastians. 2007. Mitotic drug target and development of novel anti-mitotic anticancer drugs. Drugs Resistance Updates. 10: 162 – 181.

18. Thompson, 2002, Miller et al., 2006, Vendracek et al., 2006.

19. Todd, F. G., F.F. Stermitz , P. Schultheis, A.P.Knight, and T. Dargatz. 1995. Tropane alkaloids and toxicity of Convolvulus arvensis; Phytochem., 39: 301-3.

20. Toshio, N., K. Akiko, M. Yuasa, and O. David. 2008. Mechanism of growthof inhibitory effect of blume. Biochem. 772 (5) 1183-1189.