هيثم طلعت إدريس[1]*
حوليات القدس الطبية-مكتب رئيس التحرير.

ثلاث خطوات نحو السرطان: كيف يمكن لفسفتة التوبولين، وليجاز التوبولين والتيروزين والبروتين السكري- پ أن يسبب السرطان ويديمه[1]
(فرضية طولكرم عن السرطان).

الملخص
تترقى الخلايا المتحولة إلى السرطان لأنها لا تُزَال بفعل عملية الاستماتة (apoptosis) . وفي هذه المراجعة المختصرة القصيرة، أقترح – بناء على البيانات المنشورة – أن الخلايا تمتلك "نقطة تفتيش أخيرة " كخطوة للاستماتة في صورة تجمّع من التوبولين المضمّن بالنتروتيروزين (nitrotyrosinated tubulin) إلى الأنيبيبات (microtubules)– ويؤدي ذلك إلى اختلال وظيفة الأنيبيبات، والاستماتة في النهاية. وأقترح أيضاً أن الخلايا التي تنجو من تلك الخطوة الاستماتية الأخيرة تتحول إلى خلايا سرطانية. وقد افترض أن فسفتة *ليجاز التوبولين و التيروزين* (Tubulin Tyrosine Ligase) تسبب النجاة من عملية الاستماتة، كما تتضمن الفسفتة أيضاً أن خلايا السرطان يمكن بقائها وسط بنية معادية (مثل المعالجة الكيميائية).
* **الكلمات الدليلة:** تعديل التوبولين. ليجاز التوبولين والتيروزين. المقاومة لأدوية متعددة. الاستماتة. الفسفتة. الخلايا السرطانية.

بسم الله الرحمان الرحيم

إن التوبولين، الوحدة البنائية للأنيبيبات، هو مثنوي مغاير ، يتكون من وحدات فرعية ألفا وبيتا، تبلغ كل منها نحو 50 كيلودالتون. وقد تم أيضاً وصف نوع ثالث من التوبولين (هو التوبولين جاما) ويكتنف في عملية التنوي . ويميّز النمطان ألفا وبيتا من التوبولين إلى عدد من الأنماط الإسوية (يوجد منها 20 متفاوتاً مختلفاً على الأقل في دماغ الدجاج)، والتي تنشأ بصورة جزئية بسبب التعبير الجيني للتوبولين، كذلك بفعل عدد من التعديلات التالية للترجمة (مثل نزع التيروزين وأستلة التوبولين ألفا، والفسفتة، والمعالجة عديدة الجلوتاميل، والمعالجة عديدة الجليسيل لكل من الوحدات الفرعية ألفا وبيتا). وتحدث أغلب التعديلات في منطقة المطراف الكربوني الفائقة التباين. وبعض هذه التعديلات (مثل نزع التيروزين) فريدة للتوبولين وتكتنف الإضافة و/أو الإزالة التالية للترجمة لحمض أميني (أو أحماض أمينية) إلى البروتين[1] . وتظل الوظيفة المحددة التعديلات التوبولين، غير معروفة على وجه الدقة. وبعضها مثبط بمجموعات ثابتة من الأنيبيبات، بينما يبدو أن أخرى تؤثر على ربط البروتينات المحركة. وتشير الأدلة التي ظهرت حديثا إلى أن تعديلات التوبولين قد تلعب دوراً في عملية الاستماتة وفي المقاومة لأدوية متعددة في المعالجة الكيميائية. تتعرض الخلايا عادة للاستماتة من خلال تفعيل السبل البيوكيميائية المكتنفة للكاسبازات[2] ، بينما قد تكتنف سبل أخرى غير معتمدة على الكاسبازات[3]. ومن بين الآليات الجديدة المحتملة، قد نجد انفتاح شبكة الأنيبيبات بواسطة إدخال التوبولين ألفا المضمّن بالنتروتيروزين. يرتفع النتروتيروزين في الخلايا الشاذة (مثل الخلايا السرطانية و/أو المصابة بالعدوى) وهو نتاج التفاعل الكيميائي – الحيوي بين أكسيد النتريك والتيروزين الخلوي[4]. ويمكن للإنزيم المعدّل ***ليجاز التوبولين والتيروزين*** **(ل. ت. ت)** أن يضمّن النتروزين بصورة غير عكوسة في التوبولين ألفا وعند دمجه في الأنيبيبات، يؤدي إلى انفتاح شبكة الأنيبيبات مما يؤدي إلى الاستماتة[5] في النهاية وتثبيط التمايز الـمكوّن للعضل[6]. ويمكن أن تؤثر الـتعديلات على الاستماتة بواسطة آلية معتمدة أو غير معتمدة على الكاسباز. ومن بين الآليات الممكنة، قد نجد آلية شبيهة بتلك التي اقترحت لعديدات الجلوتامين المتوسطة والتي تتعرض لتقليل القسيمات وتسبب تفعيل الكاسباز–8 في الاضطرابات التنكسية العصبية[7]. قد يكون من الممكن أيضاً أن الاستماتة المحرضّة " بتسمم " الأنيبيبات بالتيروزين قد ينتج بواسطة تفعيل الإنزيم **(ل.ت.ت)** ، والذي يضمّن النتيروتيروزين في التوبولين – ألفا. وقد يمثل هذا آلية مزيدة لإزالة الخلايا الشاذة (مثل الخلايا السرطانية). تستخدم المستويات المرتفعة من أكسيد النتريك في الخلايا الشاذة والتوليد التالي للتوبولين

المضمّن بالنتروتيروزين،الى موت الخلايا عند اندماج التوبولين المعدل بالنتروتيروزين بالأنيبيبات . ومن الممكن أن ُتنجد الخلايا من سبيل الاستماتة " بنقطة التفتيش الأخيرة" عبر التفعيل المحرضّ بالفسفتة للإنزيم **(ل.ت.ت)**، والذي اقترحت أنه تتم فسفتته ببروتين الكيناز س **(ب.ك.س)** في ثمالة للسيرين قريبة من موقعه للارتباط بـــالأدينوزين أحادي الفسفات ، مما يمنع ربط الأدينوزين أحادي الفسفات ويثبط الإنزيم[8-9]، مما يؤدي بدوره لحدوث السرطان. ويفترض أن الخلايا التي تنجو من الاستماتة المتواسطة بالتوبولين ألفا، تبقى قادرة على النمو والتكاثرعلى مجموعة من الأنيبيبات المكونة من التوبولين المنزوع التيروزين . ولذلك فإن دورة ترزنة التوبولين قد تكون واقعة تحت السيطرة التراتبية للفسفتة وقد تحرّض الاستماتة عند اضطراب هذا النظام التراتبي (مثال: عبر التفعيل بالكيناز أو التثبيط بالفسفاتاز حسبما ينطبق على الإنزيم **ل.ت.ت**).

ومن الممكن للفسفتة الإبقاء على السرطان كذلك بتفعيل المقاومة لأدوية متعددة في خلايا الورم. وتمثل المقاومةMDR لأدوية المعالجة الكيميائية عائقاً رئيسياً أمام علاج مرضى السرطان. والنشاط التدفقي للبروتين السكري-پ(ب. س. پ) مسؤول بصورة رئيسية عن تلك الظاهرة، لكنها قد تنتج أيضاً عن آليات أخرى جديدة. والـــتعديلات، مثل الفسفتة ، تبزغ كمشاركين محتملين، في تنظيم الـــمقاومة MDR في الخلايا. وقد تم الربط بين الفسفتة وبين النشاط المحسّن للـــ ب.س.پ[10]. وقد يؤدي التعديل المباشر للبروتينات الخلوية الأخرى، بدوره، إلى ظاهرة المقاومة لأدوية متعددة. ومن بين المرشحين المثيرين للانتباه، نجد التوبولين، وهو موضع مستهدف لعدد من الأدوية المقاومة للسرطان (مثل قلوانيات العناقية). وبرغم وجود العديد من تعديلات التوبولين في المطراف الكربوني للتوبولين، فقد تؤثر على هيئة البروتين قريباً من مقار ربط الأدوية، مما يمنع ربط الأدوية. وبالتالي فإن التركيز الفعال للأدوية داخل الخلية قد ينخفض من خلال نشاط الـــ ب.س.پ المفسفت.

أما التعديلات الأخرى، مثل فسفتة أو أستلة التوبولين، فقد تلعب دوراً أكثر مباشرة في منع الأدوية باستقصاء ربط الأدوية، باعتبار أنها تقع أقرب إلى المطراف الآميني . ولسوء الحظ، فلم يقم أحد حتى الآن باستقصاء ربط الأدوية كدالة على التعديلات التالية لترجمة التوبولين أو حتى بتحديد أي الأدوية المضادة للتوبولين تحرّض تعبير أي من الإنزيمات المعدّلة للتوبولين. وعلى أية حال، فالأدلة المبدئية المتوفرة تربط بين التعديلات التالية لترجمة التوبولين ، وبين المقاومة لأدوية متعددة. وقد ذكرت تقارير وجود علاقة بين التوبولين وبين سرطان الثدي، كما تم الربط بينه وبين عدوانية الورم[11] .

وعلى أية حال، فإن خلايا سرطان الثدي MDA- MB- 231 لا تحتوي سوى على توبولين مضمّن بالتيروزن وعلى تضمين بأحادي الجلوتامات ذي مستوى منخفض في بعض الأنماط الإسوية [12] . وبالإضافة إلى ذلك، فقد تم اكتشاف اختلافات في معدلات التجميع خارج الجسم الحي بين الأنماط الإسوية للتوبولين ألفا المضمّنة وغير المضمّنة بالتيروزين في وجود التاكسول[13] ، كما أظهرت إحدى الدراسات الحديثة أن مستويات التوبولين المضمّن بالتيروزين ترتفع في خلايا سرطان الثدي المقاومة للتاكسول من نوع MCF-7[14]. وقد تعمل الترزنة بصورة تآزرية مع تعديلات أخرى للتأثير على ربط الأدوية، مثل التاكسول، بالتوبولين. وقد تم مؤخراً وصف بنية التوبولين المعقدّ بالتاكسول[15]، لكن هذا التركيب يفتقر للقسم الخاص بالمطراف الكربوني، أو للتعديلات التالية للترجمة المعروفة ، للتأكد مما إن كان أي منها مكتنفاً في تنظيم ربط الأدوية. ولهذه الاكتشافات أهمية إكلينيكية محتملة إذا تداخلت الـــتعديلات الموجودة في المطراف الكربوني للتوبولين مع ارتباط الأدوية بالتوبولين.

وفي الختام ، إن فكرة كون التعديلات التالية للترجمة للتوبولين تسبب مقاومة للأدوية المعالجة الكيميائية (مثل قلوانيات العناقية) تبدو مقبولة ، وبدأت الأدبيات الطبية تحتوي على أدلة متزايدة لدعم هذه النظرية. وسيؤدي فهم الأسباب الكاملة للـــمقاومة لأدوية متعددة MDR إلى مزيد من الفعالية في علاج السرطان في المستقبل.

وقد تلعب الفسفتة المحرضة بكيناز البروتين سي ثلاثة أدوار حيوية في تسبيب السرطان ومداومته (الشكل 1) . وتتضمن هذه تثبيط الاستماتة المحرضة بالتوبولين المضمّن بالنتروتيروزين من خلال تثبيط نشاط الإنزيم **(ل.ت.ت)** ، تفعيل الـــ ب.س.پ من خلال الفسفتة مما يقلل التركيز داخل الخلوي الفعال للأدوية المضادة للسرطان ، و(ربما)

منع ربط الأدوية بالتوبولين بفعل إضافة الفسفات عند موقع يؤثر على ربط الأدوية بالتوبولين (مثال: عند موضع ربط قلوانيات العناقية). لم يتم وصف الفسفتة بكيناز البروتين سي للتوبولين كثيراً، لكن كيناز البروتين سي – دلتا معروف بأنه يعمل على فسفتة التوبولين بيتا خارج الخلايا[16] . وقد تمت مؤخراً خرطنة التوبولين بيتا مع مستقبلة الكيناز 2 المقترنة بالبروتين ج ، إلى سيرين 420 و ثريونين 409 ، في الباحة المتوسطة لجزيء البروتين[17]. ومن المعروف أن النمط الإسوي– التوبولين بيتا3 – تتم فسفتته في خلايا الدماغ، كما يتم نزع الفسفات منه مع فسفاتاز البروتين**2** أ [18]. وقد ظهر أن التوبولين بيتا3 أقل حساسية لتثبيط البلمرة المحرّض بالفينبلاستين عن نظائر التوبولين ألفا بيتا، برغم أن الدراسة لم تربط بين تلك الملاحظة وبين حالة الفسفتة للتوبولين بيتا3[19] . وبالإضافة إلى ذلك، فقد تمت ملاحظة ارتفاع مستويات الفا–بيتا3 في الأورام المضمّنة بالتاكسول[20] ويرتفع تعبير الإنزيم **ب.ك.س** في الخلايا السرطانية ،كما أن الاستهداف الانتقائي لأنماط إسوية نوعية قد تتحكم في المقاومة لأدوية متعددة[21] و/ أو الاستماتة ، على سبيل المثال بواسطة تنظيم انشطة **ل.ت.ت** و الـ **ب.س.پ** [8،10،22].

* شكر وتقدير: أتقدم بالشكر لوالدتي الحاجة السيدة زهية إدريس لدعمها (المالي والمعنوي) في إعداد هذه الدراسة. هذه الورقة مهداة لذكرى صديقي السيد/ عماد جمعة، الذي توفي بالسرطان في سن صغيرة.

المراجع

[1] Idriss HT (2000a) Man to trypanosome: the a-tubulin tyrosination/ detyrosination cycle revisited. Cell Motil Cytoskeleton 45:173–184.

[2] Alnemri ES (1997) Mammalian cell death proteases: a family of highly conserved aspartate specific cysteine proteases. J Cell Biochem 64:33–42.

[3]Nicotera P (2002) Apoptosis and age-related disorders: role of caspase-dependent and caspase-independent pathways. Toxicol Lett 127:189–195.

[4] Ischiropoulos H (1998) Biological tyrosine nitration: a pathophysiological function of nitric oxide and reactive oxygen species. Arch Biochem Biophys 356:1–11.

[5] Eiserich JP, Estevez AG, Bamberg TV, Ye YZ, Chumley PH, Beckman JS, Freeman BA (1999) Microtubule dysfunction by posttranslational nitrotyrosination of alpha-tubulin: a nitric oxide-dependent mechanism of cellular injury. Proc Natl Acad Sci U S A 96:6365–6370.

[6] Chang W, Webster DR, Salam AA, Gruber D, Prasad A, Eiserich JP, Bulinski JC (2002) Alteration of the C-terminal amino acid of tubulin specifically inhibits myogenic differentiation. J Biol Chem 277:30690–30698.

[7] Sanchez I, Mahlke C, Yuan J (2003) Pivotal role of oligomerization in expanded polyglutamine neurodegenerative disorders. Nature 421:373–379.

[8] Idriss HT (2000b) Phosphorylation of tubulin tyrosine ligase: a potential mechanism for regulation of a-tubulin tyrosination. Cell Motil Cytoskeleton 46:1–5.

[9] Idriss HT (2000c) Do TNF a insensitive cancer cells escape a-tubulin nitro-tyrosination? Nitric Oxide 4:1–3.

[10] Idriss H, Urquidi V, Basavappa S (2000a) Selective regulation of Pglycoprotein's ATPase and anion efflux activities with PKC α and PKC ε in Sf9 cells. Cancer Chemother Pharmacol46:287–292.

[11] Mialhe A, Lafanechere L, Treilleux I, Peloux N, Dumontet C, Bremond A, Panh MH, Payan R, Wehland J, Margolis RL, Job D (2001) Tubulin detyrosination is a frequent occurrence in breast cancers of poor prognosis. Cancer Res 61:5024–5027.

[12] Rao S, Aberg F, Nieves E, Band Horwitz S, Orr GA (2001) Identification by mass spectrometry of a new alpha-tubulin isotype expressed in human breast and lung carcinoma cell lines. Biochemistry 40:2096–2103.

[13] Banerjee A, Kasmala LT (1998) Differential assembly kinetics of alpha-tubulin isoforms in the presence of paclitaxel. Biochem Biophys Res Commun 245:349–351.

[14] Banerjee A (2002) Increased levels of tyrosinated alpha-, beta(III)-, and beta(IV)-tubulin isotypes in paclitaxel-resistant MCF-7 breast cancer cells. Biochem Biophys Res Commun 293:598–601.

[15] Snyder JP, Nettles JH, Cornett B, Downing KH, Nogales E (2001) The binding conformation of Taxol in beta-tubulin: a model based on electron crystallographic density. Proc Natl Acad Sci U S A 98:5312–5316.

[16] Chen WY, Yang YM, Chuang NN (2002) Selective enhanced phosphorylation of shrimp beta-tubulin by PKC-delta with PEP (taxol), a synthetic peptide encoding the taxol binding region. J Exp Zool 292:376–383.

[17] Yoshida N, Haga K, Haga T (2003) Identification of sites of phosphorylation by G-protein-coupled receptor kinase 2 in beta-tubulin. Eur J Biochem 270:1154–1163.

[18] Khan IA, Luduena RF (1996) Phosphorylation of betaIII-tubulin. Biochemistry 35:3704–3711.

[19] Khan IA, Luduena RF (2003) Different effects of vinblastine on the polymerization of isotypically purified tubulins from bovine brain. Invest New Drugs 21:3–13.

[20] Ranganathan S, Dexter DW, Benetatos CA, Chapman AE, Tew KD, Hudes GR (1996) Increase of beta(III)- and beta(IVa)-tubulin isotopes in human prostate carcinoma cells as a result of estramustine resistance. Cancer Res 56:2584–2589.

[21]O'Brian CA, Ward NE, Stewart JR, Chu F (2001) Prospects for targeting protein kinase C isozymes in the therapy of drugresistant cancer—an evolving story. Cancer Metastasis Rev 20:95–100.

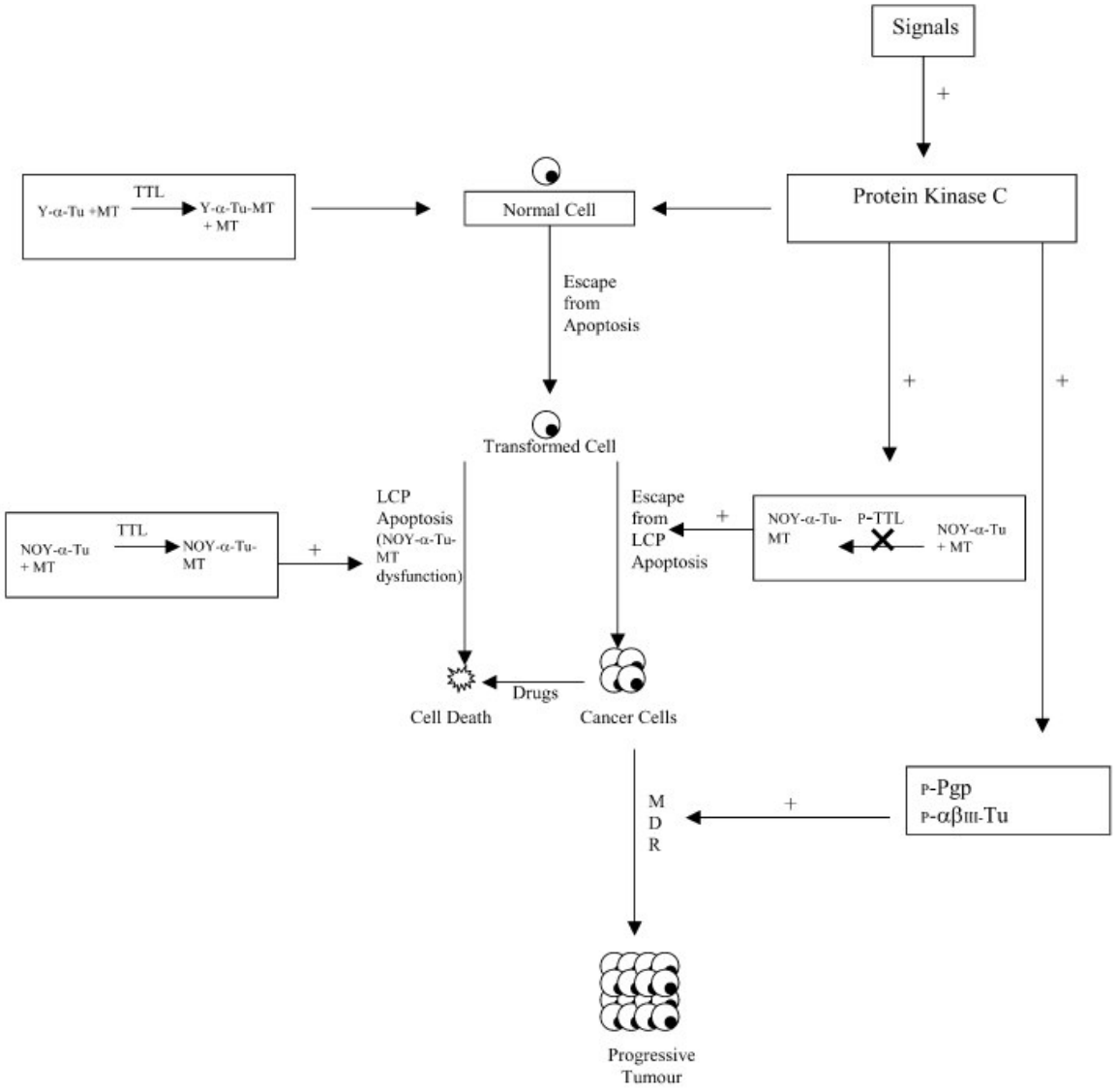
[22]Idriss H, Hannun YA, Boulpaep E, Basavappa S (2000b) P-glycoprotein regulation of volume activated Cl) channels. J Physiol 524:629–636.

***المراسلة:**
د. هيثم ادريس
حوليات القدس الطبية
aqmeditor@najah.edu

[1]هذه المقالة نشرت مسبقا للكاتب نفسه بالأنكليزية تحت عنوان:

Idriss, H.T.
Three Steps to Cancer:
How Phosphorylation of Tubulin, Tubulin Tyrosine Ligase and Pglycoprotein may Generate and Sustain Cancer.
Cancer Chemotherapy and Pharmacology (2004), **54:**101-104.

ولكنها بعد الترجمة الى العربية خضعت للتحكيم بالطريقة المعتادة.



شكل (1): ثلاث خطوات نحو السرطان: كيف يمكن أن تسبب فسفتة البروتينات الرئيسية وتديم السرطان . الخلايا المتحولة التي تنجو من الاستماتة، يفترض أنها تترقي إلى خلايا سرطانية حقيقية عندما تنجو من الاستماتة بآخر نقطة تفتيش " LCP" . ويفترض أن إحدى الخطوات الرئيسية في النجاة من الاستماتة الآخيرة LCP تكتنف فسفتة ليجاز التوبولين والتيروزين (ل.ت.ت) TTL .والإنزيم (ل.ت.ت) TTL المفسفت لا يمكنه تضمين التوبولين ألفا المترزن (Y-α- tu) إلى الأنيبيبات (MT). وبالإضافة إلى ذلك، فلا يمكنه ربط التوبولين ألفا المضمّن بالنتروتيروزين (NOY-α-tu) لتكوين الأنيبيبات المضمّنة بالنتروتيروزين (NOY-α- tu-MT) بحيث أن الخلايا المتحولة تعيش بصورة حصرية على الأنيبيبات المكونة من التوبولوين ألفا المنزوع التيروزين. وتستدام الخلايا السرطانية بواسطة أحداث فسفتة إضافية تتيح لها البقاء على قيد الحياة وسط بيئة معادية. تؤدي فسفتة الجليكيوبروتين P (ب.س.پ- Pgp) إلى زيادة (+) تدفق الأدوية المضادة للسرطان خارج الخلايا، بينما قد تتداخل فسفتة التوبولين مع ربط الأدوية. ومن المحتمل أن كلتا الظاهرتين تسهمان في المقاومة لأدوية متعددة (MDR). ويعد بروتين الكيناز س (ب.ك.س- PKC) من المرشحين المحتملين لمثل أحداث الفسفتة تلك تالياً للإشارات الاستثارية.