انتحار الخلايا أو موت الخلايا المبرمج

مدحت مجيد الساهوكي
قسم المحاصيل الحقلية
كلية الزراعة/جامعة بغداد

فدوى وليد عبد القهار
قسم الصناعات الغذائية
كلية الزراعة/جامعة الانبار

أيوب عبيد الفلاحي
قسم المحاصيل الحقلية
كلية الزراعة/جامعة الانبار

المستخلص

طورت جميع الكائنات الحقيقية النواة كالنبات والحيوان والإنسان والخمائر وبفعل جينات مايتوكوندريا الخلية، طرائق للانتحار الخلوي عرفت بموت الخلايا المبرمج (Programmed Cell Death=PCD). يعد تدمير الخلايا المنظم في الكائنات المتعددة الخلايا ضرورياً للتطور والمناعة و لتشكل الجسم وتحديد الشكل الخاص بالعضو، فضلاً عن التخلص من الخلايا الزائدة وغير المرغوب فيها و المتضررة. من جهة أخرى، إن تعطل برنامج موت الخلايا المنظم قد يؤدي إلى إصابة الإنسان بالعديد من الأمراض ، منها السرطان وعدد من الأمراض الانحلالية . شُخِص نظامان لدراسة الموت المبرمج في الخلية النباتية، وهما استجابة فرط التحسس (Hypersensitive Response=HR) التي تلاحظ عادةً لدى حدوث تداخلات بين الكائنات المجهرية وأنسجة الكائن الحي، والآخر هو تطور العناصر الناقلة في خشب النباتات الوعائية. إن التصوير المبسط لتسلسل الأحداث الخلوية التي تحصل خلال تلك الأشكال من (PCD) في النبات تعد مغايرة لما يحدث في ظاهرة (Apoptosis)، وهي الشكل الحيواني النهائي لموت الخلايا المبرمج، التي أخضعت للعديد من الدراسات. يتم في عملية الابوبتوسس "النظيفة" احتواء مكونات الخلايا الميتة ليتم بعد ذلك إزالتها بواسطة خلايا أخرى، ولتجنب حدوث التهابات في الحيوان. أما في حالة موت الخلايا المتعلق باستجابة فرط التحسس (HR) والتمايز النهائي للعناصر الناقلة، فلا يتم فيهما الإحاطة بمحتويات الخلايا الميتة من قبل الخلايا الأخرى. فضلاً عن ذلك يتم الاحتفاظ "بحطام" الخلايا الميتة في مكان ما من قبل جدار الخلية، وبالنسبة لعناصر النقل الناضجة يتم تدعيم جدار الخلية في المرحلة الأولى من (PCD) فيؤدي وظيفته الأساسية في توفير الدعم الآلي والنقل بعد حدوث التحلل الذاتي. يسبق الانهيار الأخير للفجوة مباشرة تجزئة DNA النواة الذي يحدث في المرحلة الأخيرة من عملية موت الخلية وقبل التحلل الذاتي لها، لذا فان هذه الخصائص المفتاحية تُميّز (PCD) في النبات عن الابوبتوسس الموجود في الحيوان، كما تبين أن هناك سمات ومسالك خاصة قد طورت للسيطرة على تنفيذ برنامج موت الخلايا النباتية. يعتمد تصنيف جميع أشكال موت الخلايا المبرمج على كل من مثبطات ومحفزات تلك العملية، فضلا عن المسالك الكيموحيوية المشخصة ضمن كل شكل من تلك الأشكال، مما سيسلط المزيد من الضوء على موت الخلايا المرتبط بمختلف الحالات المرضية وبالتالي تقديم طرائق علاجية جديدة في الإنسان والحيوان، أما في النبات فيمكن بالسيطرة على آلية PCD زيادة ثابت مقدرة النظام فزيادة الجزء الاقتصادي المطلوب من ذلك النبات.

The Iraqi Journal of Agricultural Sciences 40 (3): 1-26 (2009) Elsahookie et al.

CELL SUICIDE OR PROGRAMMED CELL DEATH

M. M. Elsahookie
Dept. of Field Crop Sciences
College of Agric. /Univ. of Baghdad

F. W. Abdalqahar
Dept. of Food Sciences
College of Agric. /Univ. of Alanbar

A. O. Alfalahi
Dept. of Field Crop Sciences
College of Agric. /Univ. of Alanbar

Abstract

Via mitochondrial genes, eukaryotes: such as plants, animals, human and yeast have evolved ways of cellular suicide that are known as Programmed Cell Death (PCD). In multicellular organisms, the organized destruction of cells is important in development and immunity and for forming body and specific organ shapes, as well as for removing superfluous, unwanted, damaged or infected cells. Furthermore, disfunction of PCD could lead to various diseases in humans, including cancer and several degenerative diseases. Two characterized systems for the study of plant PCD are those of the Hypersensitive Response (HR), which is often observed during plant–microbe interactions, and the development of tracheary elements in the xylem of vascular plants. A simplified depiction of the sequence of cytological events that take place during these forms of plant PCD is contrasted with those of "apoptosis", the well studied form of animal PCD. The "clean" process of apoptosis effectively contains the contents of the dead cell for removal by other cells and avoids activating an inflammatory response in animals. In the case of HR-associated cell death and the terminal differentiation of tracheary elements, the contents of the dying cells are not engulfed by other cells. In addition, the "corpse" of the dead cell is held in place by the cell wall, and for mature tracheary elements, the cell wall is reinforced during the early phase of PCD and carries out the essential function of mechanical support and transport after autolysis. The final collapse of the vacuole immediately precedes nuclear DNA fragmentation, which occurs at late stages of the cell death process before the final autolysis of the cell. These "key" characteristics therefore distinguish plant PCD from that of classic apoptosis and indicate that specialized features and pathways have probably evolved to control and execute the death program in plant cells. Taxonomy of all forms of PCD based on inhibitors, activators, and identified biochemical pathways involved in each form of PCD, and that should offer new insight into cell death associated with various disease states, and ultimately introduce new therapeutic approaches in human and animals. In plants, and by controlling PCD mechanism, the system capacity constant could be increased, and ultimately, the economic yield.

المقدمة

إن انتحار الخلايا (Cell Suicide) أو موت الخلايا المبرمج (Programmed Cell Death) PCD هو ظاهرة من الظواهر الأساسية في كل من النبات والحيوان[43,41] .إن هذه الظاهرة التي تموت فيها ملايين الخلايا من نسيج معين في مرحلة معينة أساسية جداً لبقاء الخلايا الأخرى حية ونشطة. تشتد ظاهرة PCD في مراحل النمو النشطة مثل مرحلة الاستطالة في النبات، ونمو المرستيم ومراحل تكوين الأعضاء الذكرية والأنثوية (التزهير) في النبات والحيوان والإنسان، كما يعتقد أن هذه الظاهرة لها دور كبير في تنظيم عمليات الايض الخلوي، وان أي تشوه أو اضطراب في هذه العملية سيتسبب بالعديد من الأمراض، ومنها السرطان واضطرابات تشكل الجهاز العصبي. إن مقدرة الخلايا السرطانية على تجنب برنامج PCD تعد الصفة الأساسية لنموها اللامحدود، بل وان العلاج الكيمياوي للسرطان يعتمد بالدرجة الأساس على تحفيز قتل تلك الخلايا من خلال الابوبتوسس [84].

يحتل PCD دوراً محورياً في تطور الدماغ في الثدييات [39]، كما أن لظاهرة PCD دوراً مهماً في العديد من المسالك التطورية للنبات، مثل تشكل وتمايز الخشب الناقل وتكون الأنسجة الخشبية في الأشجار والنباتات المعمرة وتساقط الأوراق (شكل 1) وعدم التوافق الذاتي والاستجابة الدفاعية لطيف واسع من الاجهادات البيئية الحيوية مثل الأمراض وغير الحيوية مثل الجفاف.

شكل1. تنظيم عملية تساقط الأوراق في النباتات استجابة لظروف الشد البيئي المختلفة من خلال موت الخلايا المبرمج.

يستند حدوث هذه الظاهرة بفعل سيطرة جينية في المايتوكوندريا لتكوين مواد ذات فعل مؤكسد قوي تقتل بعض الخلايا دون الأخرى وتسمى (Reactive Oxygen Species=ROS). استناداً لذلك، فان المايتوكوندريا التي هي بيت الطاقة في الخلايا تطلق مواد معينة لقتل بعض الخلايا فيما تعطي الطاقة اللازمة لنشاط حيوية خلايا أخرى. إن خلايا الدم في الإنسان التي تعيش مابين 3- 4 أشهر تموت بفعل هذه الظاهرة، وخلال ذلك تكون قد تكونت خلايا أخرى بدلها، وتستمر العمليتان ما استمرت حياة الإنسان والحيوان. كذلك فان (PCD) تحمي الكائن الحي من أضرار الهرم أو وجود مؤثرات حيوية كالحشرات والأمراض أو مؤثرات غير حيوية كالجفاف والمواد السامة، وبذا ستموت بعض الخلايا في ذلك الجزء لتحمي الخلايا الأخرى مكونة في اغلب الأحيان تجمعات خلوية غير نشطة (خاملة أو ميتة) يطلق عليها (Apoptosis) [21].

يعرف الابوبتوسس على انه احد أهم مظاهر الموت المبرمج للخلايا في الحيوان والانسان، وهو عملية شديدة التنظيم وحظيت باهتمام المختصين، إذ نشرت أكثر من مائة ألف دراسة تناولت مختلف جوانب هذه العملية، التي يجمع المختصون أنها ليست الشكل الوحيد لموت الخلايا. إذ أن الابوبتوسس يختلف عما يعرف (Autophagy) الذي يشار به عادةً إلى التحلل اللايسوسومي "الجسيمات الحالّة" لعضيات الخلايا وأنواع معينة من البروتينات، كما ويختلف عن النخر (Necrosis) الذي ينجم عن الإصابة الشديدة للأنسجة النباتية والحيوانية وتسرب مكونات الخلية إلى الخارج مما يتسبب بحدوث استجابة مرضية التهابية في الأنظمة الحيوانية، فضلاً عن أشكال أخرى لموت الخلايا [10] . يتألف الأصل اللاتيني لمصطلح الابوبتوسس من مقطعين Apo وتعني باللاتينية "من" و ptosis وتعني "السقوط" وكانت توصف بها عملية تساقط الأوراق [60]. إن هناك العديد من أوجه التشابه بين ظاهرة الابوبتوسس في الحيوانات وموت الخلايا المبرمج في النباتات]43[وان عملية المقارنة بين المكونات الأساسية لهذه العملية بين كلتا المملكتين، يمكن أن تعطي فهما أوسع عن تنظيم PCD في كل منهما.

تحدث عملية انتحار الخلايا في الكائنات الحية نتيجة فعل ثلاثة عوامل، الأول الطبيعة الوراثية للكائن، والثاني طبيعة العوامل المحيطة بنمو الكائن وبما فيها من شد بيئي على نموه، والثالثة مرحلة النمو التي فيها ذلك الكائن. انه وعلى الرغم من إمكانية الحد من حدوث هذه الظاهرة، إلا انه لا يمكن منعها لأنها أساسية جداً في الحفاظ على حيوية ونشاط الكائن الحي في أية مرحلة من حياته. كما أن إبطال مفعول هذه العملية قد ينجم عنه حدوث طيف واسع من التشوهات والإصابة بالعديد من الأمراض [81] . إن موت ملايين حبوب اللقاح أثناء عملية تكوينها ما هي إلا ظاهرة (PCD) التي تتضمن بقاء حبوب اللقاح نشطة وفعالة خلال دورة حياة النبات، كما قدم عدد من الابحاث أدلة مقنعة حول أهمية المايتوكوندريا في ظاهرتي عدم التوافق الذاتي والعقم الذكري السايتوبلازمي [71] ، من خلال إطلاقها لسايتوكروم C، والتغير الذي يطرأ على كفاءة أغشية المايتوكوندريا.[100]. لقد وجد ان هناك علاقة وثيقة بين مستوى السمية للجين URF13 وحالة العقم، إذ لوحظ أن فرط التعبير في الجين المذكور يسبب ارتفاع مستوى السمية فحدوث فشل خلوي فموت الخلايا انتهاءً بالعقم (شكل 2) . إن فرط التعبير في الجين URF13 ينجم عنه زيادة ملحوظة في مستوى التشكل الحيوي للمايتوكوندريا في الأنسجة المحيطية في المتوك، وهذه الأخيرة ربما تكون أكثر الأنسجة حساسية لمستوى التعبير من URF13 بسبب دورها المميز في تشكل المتوك وإنتاج حبوب اللقاح [73] . أما درجة الموت التي تحدد فيها الخلية أنها دخلت لإكمال برنامج (PCD) فهي مرحلة الهرم. (Senescence) [75].

شكل 2. العقم الذكري السايتوبلازمي في الذرة الصفراء.

يعد موت الخلايا المبرمج من الآليات المهمة في كل من عمليتي التشكل والتوازن في الأنسجة البالغة لغرض التخلص من الخلايا الزائدة عن الحاجة أو المتضررة أوالمصابة أو المتحولة، وذلك من خلال تفعيل برنامج مقيد لانتحار الخلايا. يتضمن الابوبتوسس، الذي يعد احد أهم مظاهر PCD الإبقاء على خلايا الأغشية الملامسة خلال عملية الانتحار، وذلك للسماح للخلايا المجاورة للإحاطة وتغليف الخلايا الميتة لمنعها من إطلاق محتوياتها التي تسبب حدوث التهابات موضعية. تمتاز الخلايا التي تمر عبر الابوبتوسس بتغيرات مظهرية مميزة تتضمن تجزئة الخلية إلى أجسام (Apoptics) مرتبطة غشائياً وتكثيف نووي وسايتوبلازمي وتشقق شريط DNA وتجزئته إلى قطع صغيرة [111]، يتم بعدها الإحاطة بالخلايا أو القطع بواسطة بأجسام (Macrophages). هناك عدد من المؤشرات التي يمكن أن تتسبب بإطلاق عملية الابوبتوسس مثل الأضرار الناجمة عن التعرض للأشعة المؤينة أو الإصابات الفايروسية، كما قد يحفز الابوبتوسس نتيجة لإشارات خارج خلوية. يمكن للإشارات العرضية أن تكبح أو تحفز لحدوث هذه الظاهرة، كما أن نفس تلك الإشارات قد تحفز لبقاء نوع من الخلايا في حين تطلق برنامج انتحار في خلايا أخرى. تتضمن عملية PCD تصنيع جزيئات خاصة من mRNA وترجمتها، ولذا يمكن في بعض الحالات إعاقة برنامج PCD من خلال تثبيط أي من عمليتي الاستنساخ أو الترجمة [111]، وهذا يعزز الرأي القائل أن عملية موت الخلايا قد تتضمن آليات خلوية جوهرية ومحدودة. خضعت عملية موت الخلايا مؤخرا إلى العديد من الدراسات وذلك من اجل إيجاد فهم أفضل لجينات (ONCOGENESIS) المرتبطة بالتسرطن ومدى إمكانية استغلال هذه الظاهرة للإغراض العلاجية. فعلى سبيل المثال يساهم موت الخلايا في حالة (ONCOGENESIS) من خلال تحفيز بقاء الخلايا حية بدلا من موتها، فضلاً عن أن السيطرة على تحفيز موت الخلايا يمكن أن يوفر الأدوات الضرورية للتخلص من الخلايا غير المرغوبة " مثل الخلايا السرطانية "، وهذا ربما سيكون فعالا في تسخير"عامل النخر السرطاني" TNF (Tumor Necrosis Factor) الذي سيسبب الابوبتوسس في الخلايا المستهدفة.

لعل أهم هدف من أهداف دراسة ظاهرة موت الخلايا المبرمج هو التعرف على مكوناته الجزيئية والياته التنظيمية، إذ أن مثل هذه المعلومات يمكن أن تقود إلى إيجاد مواد علاجية يمكن من خلالها تطويع هذه الظاهرة في علاج حالات أو أمراض نقص التكوين، مثل اضطرابات نقص تكوين الجهاز العصبي وأمراض تكاثر الخلايا (Proliferative diseases) مثل السرطان.

نقاط الشروع في برنامج موت الخلايا:

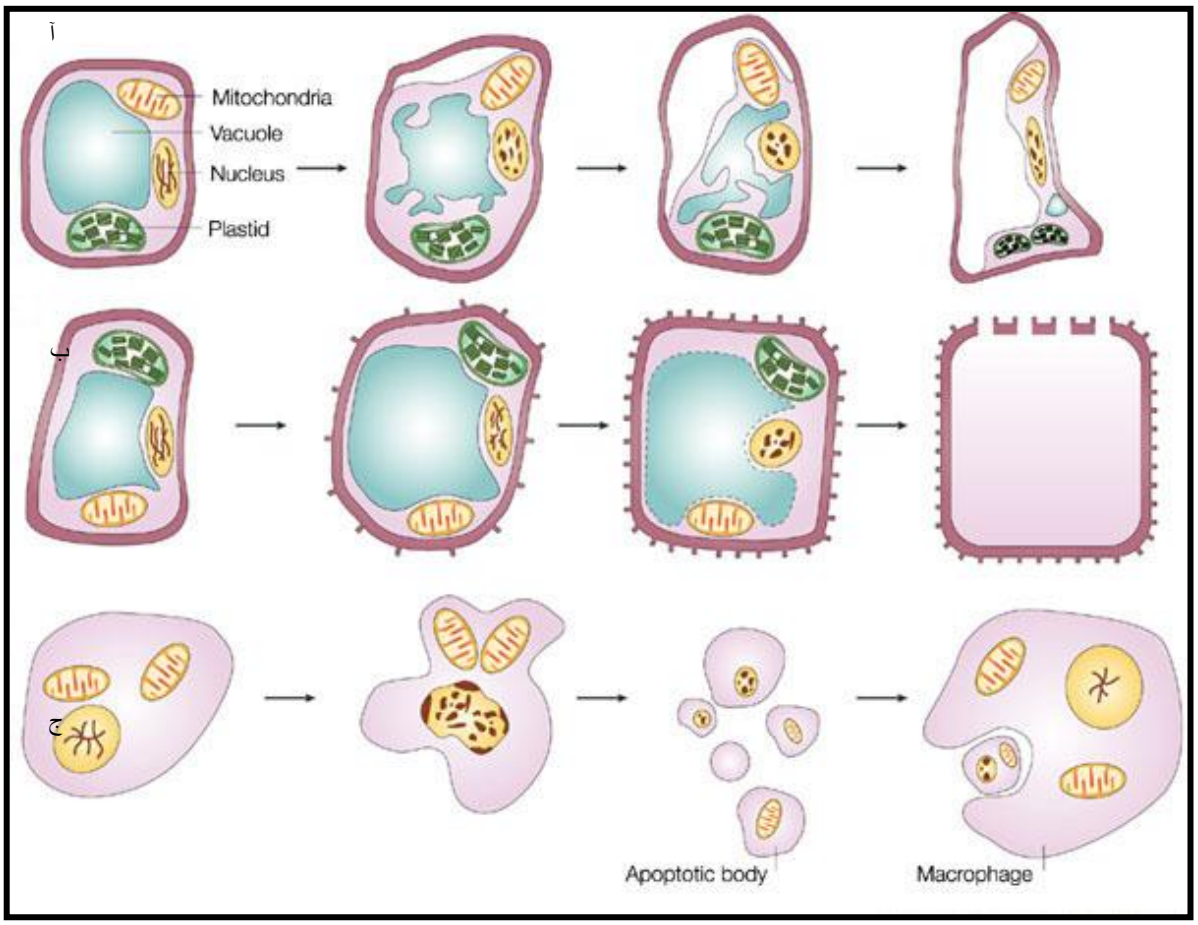
إن الانتشار الواسع لظاهرة PCD في جميع أنظمة الكائنات الحية تقريباً، يدعم الفكرة القائلة إن هذا يمكن إن يكون هو الطريق الأصلي للخلايا فيما لو غابت إشارة الحياة [95]، وقد دعمت هذه الفكرة في النبات بعدما وجد أن PCD في خلايا الجزر المزروعة في أوساط زرعية وبكثافات عالية ، يمكن أن يعكس من خلال العديد من العوامل الخلوية المعروفة والموجودة في الأوساط الزرعية [80]. لذا فان هناك العديد من الإشارات التي غالباً ما تعمل بصورة متكاملة في الخلية ويترتب على ذلك تفعيل PCD من عدمه. كذلك فان السيطرة على حدود PCD ستكون بمثابة الحد الفاصل في إمكانية استغلال وانتشار هذه الظاهرة. ففي حالة الهرم مثلاً، يؤثر PCD في جميع الأعضاء ويحدث في فترة طويلة نسبياً، بينما يحدث نقيض ذلك تماما في حالة موت الخلايا نتيجة HR، إذ يحدث موت سريع للخلايا ولكنه مقيد وضمن منطقة محدودة لاحتواء المسبب المرضي بشكل فعال عند منطقة دخوله، ثم يتم إعادة تدوير محتويات الخلايا الميتة لاحقاً. (شكل 3).

شكل 3. موت الخلايا المبرمج في ظاهرة فرط التحسس HR.

أظهرت عملية عزل وتشخيص طفرات (Lesion - mimic) أن موت الخلايا يمكن أن ينشط الخلايا الأخرى ذاتياً، وان أشارات البقاء ضرورية لتقليل وتقييد حجم الضرر (الطفرة) [51]. لقد تم عزل مجاميع كبيرة نسبياً من الجينات التي إذ ا ما أُحدثت فيها طفرات فسوف تنتج أشكال مظهرية من نوع (Lesion–mimic) خصوصاً في نبات إذ ن الفأر (Arabidopsis) [78]. إن جينات الهندسة الوراثية التي تسبب إرباك الفعاليات الوظيفية للخلية يمكن أن تسبب طفرات من هذا النوع أيضاً [85]. بالرغم من أن هذه الاكتشافات قد فسرت بعض جوانب السيطرة على موت الخلايا المبرمج في النبات، إلا أن التمييز بين الإشارات الابتدائية لموت الخلايا عن تلك التي تؤثر في وظائف الخلية فقط، وبالتالي موت الخلية يبقى أمراً بالغ الصعوبة، خصوصاً إذ ا لم يتم تحديد العوامل التي تنظم PCD في النبات بشكل لا لبس فيه.

الأحداث الخلوية المرافقة لموت الخلايا المبرمج:

تم توثيق العديد من الأحداث الخلوية المرافقة لمراحل (PCD) في العديد من الأنظمة النباتية، ففي PCD الذي يحدث خلال عملية تمايز خلايا النسيج الوسطي إلى خلايا خشب ناضجة في خلايا بعض الأنواع النباتية المزروعة نسيجياً [40]، تقوم الفجوات بتجميع إنزيمات محللة وتنتفخ ويعاد تشكل جدار الخلية بشكل محبوك جداً. تحدث تجزئة لمادة DNA النواة والعضيات الأخرى مباشرة بعد انهيار الفجوة، الذي يحدث في طور التحلل الذاتي (Autolytic phase) في نهاية هذه العملية [87,45]. إن تكثيف الكروماتين وبقية المظاهر المرافقة لعملية الابوبتوسس غير موجودة في هذا الشكل من موت الخلايا (شكل 4) ، ولكن هذا الموت بعد الانهيار المباشر للفجوات يمكن ملاحظته أثناء العديد من مراحل التشكل في النبات وتشكّل خلايا الجذر والهرم. ربما يعتقد البعض أن أية معاملة تسبب قتل الخلية ستؤدي إلى انهيار الفجوة أو تمزق DNA النواة، وهذا غير صحيح، إذ أمكن استخدام وسائل مختلفة لقتل الخلية دون تغيير ملحوظ في الفجوة أو شكل DNA [57].



شكل 4. آ. خطوات موت الخلية النباتية الاعتيادية. ب. مراحل موت الخلية النباتية في الأنسجة الناقلة. ج. خطوات موت الخلية الحيوانية.

لقد تم أيضا تشخيص الأحداث الخلوية المرافقة لموت الخلايا خلال تكوّن الأجنة باستخدام تجارب الزراعة لبيوض مخصبة خارج الجسم الحي في عدد من الأنواع النباتية، وقد كان انفصال الكروماتين واضحاً دون حدوث تكثيف له أو ظهور فقاعات في النواة، بينما تتكون فجوات في السايتوبلازم مبكراً. يحدث تمزق للفجوة في وقت متأخر جداً من التحلل الذاتي للخلايا الميتة عندما تكون اغلب المكونات الخلوية قد تفككت. تحدث هناك دورتان منفصلتان من موت الخلايا لدى التحول من مرحلة الكتلة الجنينية إلى مرحلة الجنين الجسمي [37] . إن الدورة الأخيرة من موت الخلايا "خلال مرحلة التشكل" ينتج عنها جنين مفرد في النباتات المتعددة الأجنة (Polyembryonic plants) [38, 36].

إن ظاهرة تكون عدد من الأجنة من زيجة مخصبة واحدة تدعى "تعدد الأجنة أحادي الزيجة" (Monozygotic polyembryony)، وهي ظاهرة منتشرة جدا في حالات التكاثر الجنسي في النباتات الراقية وخصوصاً مغطاة البذور. بالرغم من تعدد الأجنة هذا إلا أن جنيناً واحداً فقط سيكمل مراحل التشكل ليعطي نباتاً حيوياً، فيما يتم إنهاء وجود الأجنة المتبقية [107, 66, 38, 24, 8] . إن آلية هذه الظاهرة غير معلومة على وجه الدقة، إلا أن ظاهرة PCD تعد إحدى أهم الآليات المقترحة. تتسارع الأحداث الخلوية في المراحل المبكرة من تشكل الأجنة، وهذا قد يكون مهماً في إعادة تحديد مواقع المكونات الخلوية الرئيسية التي تشترك في عملية تمايز الخلايا [109]. ربما يكون احد أكثر أشكال PCD التقليدية هو استجابة فرط التحسس HR، إذ وجد أن تفكك كروموسومات النواة وحدوث التجزؤ الخلوي المبكر إلى أجسام (Apoptotics) الذي يحدث في بعض حالات موت الخلايا في حالة HR [118]، في حين تفتقر أنواع أخرى لذلك [84,70,68]. تحدث إعادة هيكلة خلوية سريعة للخلايا النباتية في مواقع الإصابة بالمسببات المرضية. كما أثبت عدد

من الاختبارات الصيدلانية أن هذا يمكن أن يكون ذا قيمة في مقاومة الإصابة ببعض الأمراض وموت الخلايا الناجم عن بعض حالات HR [108]. وجد إن هناك تغيرات مثيرة في الهيكل الخلوي للخلايا وهذا يعد ضرورياً ولكنه غير كافٍ لتفعيل PCD في حالة HR [114,59].

دور الهرمونات النباتية في تنظيم PCD:

هناك العديد من الفايتوهرمونات التي ثبت أن لها دوراً في انطلاق الموت المبرمج للخلايا ومنها:

حامض الساليسيلك وأوكسيد النتريك: هناك العديد من الفايتوهرمونات التي تلعب دوراً في نمذجة موت الخلايا في حالة HR في مختلف الظروف. يعرف حامض الساليسيلك كوسط مهم فيما يعرف بالمقاومة المكتسبة الشاملة (Systemic Acquired Resistance =SAR) في النبات [1]. لقد تم اختبار دور هذا الحامض في تنظيم PCD من خلال إجراء تضريب بين نباتات إذ ن الفأر المعدلة وراثيا لكبح إنتاج هذا الحامض مع عدد من الطفرات الأخرى. إن من الملفت للنظر انه وبالرغم من إمكانية إلغاء ظاهرة PCD آنياً في بعض تلك الطفرات، إلا أن تلك الطفرات لم تظهر إلا انخفاضاً في وتيرة PCD، أو أنها لم تتأثر بتاتاً عند إزالة حامض الساليسيلك بشكل نهائي. لذا فان حامض الساليسيلك يمكن أن يكون مفتاح تحفيز موت الخلايا في مسالك معينة، بينما يكون له دور صغير جداً في مسالك أخرى. إن احد أهم الآراء المتداولة حالياً عن دور حامض الساليسيلك تذهب إلى أن وجوده بتراكيز عالية كتلك التي تنتجها الخلايا النباتية في مواقع دخول المسببات المرضية، يمكن أن يكون محفزاً لموت الخلايا وهذا يكون بمساعدة إشارات أخرى. إن حامض الساليسيلك والعديد من المحفزات الأخرى، وأثناء تصديرها من مواقع التصنيع الابتدائية تلك ، يمكن أن تعمل في حالات التركيز الواطئ عملاً معاكساً، إذ يصبح محفزاً لنجاة الخلايا ويساهم في وضع حد لانتشار الضرر [1]. فضلاً عن ذلك يمكن أن يكون للسيطرة على عملية التغذية العكسية دوراً مهماً في السيطرة على تصنيع حامض الساليسيلك بواسطة أنواع الأوكسجين المتفاعلة (Reactive Oxygen Species=ROS) [69].

أما أوكسيد النتريك (NO) فيلعب دوراً مساندا لحامض الساليسيلك في تحفيز موت الخلايا خلال HR وتفعيل دفاعات الخلايا النباتية، وهذا مماثل للدور الذي يقوم به في الأنظمة الحيوانية. تبين أن زيادة تركيز أوكسيد النتريك كان كافياً لتحفيز موت الخلايا في نبات إذن الفأر المزروعة نسيجياً [20]. لقد افترض أن التوازن بين تركيز NO الخلوي وبيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2)، هو المفتاح الذي يحدد موت الخلايا نتيجة HR [27]. شخص مؤخرا اثنان من الجينات المسؤولة عن تصنيع NO ، و ثبت أن لهما دوراً صغيراً مقارنة بنظرائها الموجودة في الحيوانات [47,12]. إن هذا يبين أن هناك نماذج جديدة لتصنيع NO وان هذا يحدث في كل من النبات والحيوان لتكوين جزيئات مشابهة كإشارات انطلاق وذلك باستخدام إنزيمات متباينة التركيب. لذا فان حالات الطفور في مثل هذه الجينات يمكن أن توفر أدوات جديدة لفهم أفضل لدور NO في تنظيم الحالات المختلفة لموت الخلايا عند حالة HR والهرم.

حامض الجاسمونك والاثيلين: إضافة إلى حامض الساليسيلك وأوكسيد النتريك، هناك فايتوهرمونان آخران هما حامض الجاسمونك (Jasmonic acid) والاثيلين يتوليان تنظيم موت الخلايا تحت ظروف الاجهاد المختلفة والتشكل. يفرز حامض الجاسمونك عادة بعد حدوث الجروح، كما انه ينظم موت الخلايا سلبياً (زيادة موت الخلايا) في نبات إذ ن الفأر تحت ظروف الاجهاد ألتأكسدي لدى معاملتها بالأوزون [97]. إلا انه يمكن أن يكون كعامل ايجابي في تحفيز موت الخلايا الناجم عن التعرض للسموم الفطرية [3]. إن للاثيلين دوراً فعالاً في تنظيم ظاهرة الهرم [92]، فضلاً عن العديد من أشكال موت الخلايا التمايزي كما يحدث لدى تمايز الخشب في الجذور [26]، وموت خلايا الاندوسبيرم في الحبوب [127]، كما يحفز الاثيلين موت الخلايا نتيجة الفعل ألتأكسدي لبعض مواد ROS، كما انه يساهم في حدوث الطفرات من نوع (Lesion–mimic) [44].

حامض الجبريلك وحامض الابسيسك: يقوم كلا الحامضين بدور مهم في ظاهرة PCD، وخصوصاً في المراحل الأخيرة من تمايز أنسجة الخشب التي تتضمن برامج للتحلل الذاتي في عدد من الأنواع النباتية [126,40]. كما لوحظ تأثير متضاد

لهذين الحامضين في تنظيم موت خلايا طبقة الاليرون خلال مراحل تمايز الاندوسبيرم في حبوب بعض أنواع العائلة النجيلية. إذ ينظم حامض الجبريلك موت الخلايا في هذا الجزء بمساعدة ROS، في حين يعيق حامض الابسيسك التأثير المحفز لموت الخلايا الذي يقوم به حامض الجبريلك. إن آلية التداخل في عمل هذين الهرمونين يمكن إرجاعها إلى تأثيرهما المعاكس على عمل إنزيمات ROS [34]. إن دور حامض الابسيسك المنظم لموت الخلايا لا يقتصر على خلايا الاليرون، وإنما يظهر جليا في تنظيم PCD خلال تمايز المتوك [119] وهذا يبين أن هذا التنظيم الهرموني للحامض المذكور ليس مقتصراً على طبقة الاليرون فقط.

القنوات الغشائية وايض الدهون: شخص الانسياب السريع للايونات كأحد أشكال الاستجابات المبكرة لموت الخلايا في حالة HR، بعد التعرض للسموم الفطرية. كما وجد أن المستلمات الواقعة على أغشية البلازما والإنزيمات التي تشترك في أيض ROS، لها أهمية كبيرة في توليد وانتشار وترجمة إشارات نجاة وموت الخلايا في كل من النبات والحيوان. لذا فليس من المستغرب أن يشترك العديد من البروتينات المحفزة لموت الخلايا مع القنوات الغشائية أو مع وظائف الدهون في برنامج PCD.

ROS ومؤكسدات NADPH كإشارات لانطلاق PCD:

إن أهمية ROS في تفعيل ظاهرة PCD معروفة جداً في النباتات والحيوانات والخميرة [68,2]. لقد تم توثيق ما يسمى بالانفجار ألتأكسدي (Oxidative burst) خلال المراحل المبكرة والمتأخرة من التداخل بين النبات والمسبب المرضي [6]، كما أثبت العديد من الدراسات أهمية ROS في تنظيم ظاهرة PCD [126,58,17]، ففي الحيوانات تشترك الأغشية مع مؤكسدات NADPH ومواد بروتينية أخرى لإنتاج ROS [53]. وجد أن هناك طفرتين من طفرات فقد الوظيفة هما *rbohF* و *rbohD* تسببان خفض إنتاج ROS عند حدوث HR في بعض الأنواع النباتية الذي سيؤدي بدوره إلى خفض وتيرة موت الخلايا [117]. إن هذا يعد الدليل الوراثي الأول والمباشر على دور NADPH في تكوين ROS وتأثيرها في موت الخلايا. بالرغم من أهمية *rbohD* في تحديد كمية ROS المصنعة، إلا أن *rbohF* ذو أهمية اكبر في تفعيل HR، كما أن الموقع الخلوي لتصنيع ROS ربما يكون هو الآخر عاملا مهما في تحديد فعالية PCD المحفز بهذه الطريقة.

إن أهمية المواد البروتينية في تحديد كمية ROS المصنعة، قد أثبتت مؤخرا من خلال العديد من الدراسات التي أجريت على عدد من المحاصيل، فقد وجد أن ما يعرف ببروتين G ضروري في تنظيم PCD خلال HR الذي يحدث كاستجابة للمسببات المرضية البكتيرية والفطرية التي تصيب الرز [91]. كما وجد أن هذا البروتين ضروري لإنجاح الإصابة الفطرية في تراكيب وراثية معينة [105]، وربما يكون للاختلاف في تراكم المواد المؤكسدة بدلا من **H2O2** دور كبير في تحديد المقاومة وبالتالي HR في تنظيم PCD. كما أن للعديد من المواد القلوية أثراً واضحاً في تنظيم PCD من خلال عدد المتغيرات وأهمها إعاقة تصنيع البروتين الحيوي و إقحام DNA واضطراب نفاذية الأغشية وخاصة المايتوكوندريا، فضلاً عن إعاقة تشكل الأنابيب الشعرية [102].

عضيات الخلية وتنظيم PCD:

بما أن لطاقة الخلية دوراً مهماً وأساسياً في تحديد موت الخلية في الأنظمة الحيوانية والخميرة، فليس من المستغرب أن تكون كل من المايتوكوندريا والبلاستيدة عوامل محددة لتحفيز وتنظيم PCD في الخلايا النباتية، فبالإضافة إلى مقدرة هذه العضيات على تصنيع ROS من خلال أنظمة نقل الالكترونات التي تشترك فيها تلك العضيات لأداء وظائف معينة، وجد أن هناك عددا آخر من المسالك الخلوية لموت الخلايا تعتمد بدرجة ما على مكونات تلك العضيات، كما أن العديد من المحفزات المعروفة تتحرك إلى خارج المايتوكوندريا لتحفيز الفعاليات الضرورية لعملية PCD في كلٍ من الأنظمة النباتية والحيوانية، مثال ذلك سايتوكروم C الذي لدى انطلاقه يقوم بالتحفيز المبكر لبرنامج PCD في ظاهرة الكاسبيسس (Caspases) [74,7]، و AIF أو عامل تحفيز الابوبتوسس، وهذا يؤدي وظيفة مستقلة في تحفيز تجزئة DNA النواة [112]، فضلا عن اندونيوكليز G الذي اكتشف مؤخراً [72]، وهذه بعض البروتينات الحيوانية التي يعتقد أن لها نظراء في النبات. ففي النبات، وبالرغم من إثبات انتقال

سايتوكروم C إلى السايتوبلازم [68]، فهناك إمكانية لان تكون وظيفته هي تحفيز PCD، فضلا عن كونه نتيجة لتدمير المايتوكوندريا وبقاياها. فقد تبين من خلال عدد من الاختبارات أن فقد أغشية المايتوكوندريا لمقدرتها على تنظيم النفاذية يرتبط بشكل ما بموت الخلايا التي تتضمن تلك العضيات في بعض الأنظمة النباتية [128,116,63,15]. إلا أن مثل هذه الاختبارات الصيدلانية لا زالت بحاجة إلى المزيد من الدراسات الجزيئية والوراثية لتوضيح الآليات التي تنظم موت الخلايا.

أما الإنزيمات التي توجد في البلاستيدات فان لها دورا رئيسيا في تفعيل PCD في طفرات (Lesion - mimic)، مثال ذلك طفرات *lin2* و *acd2* في نبات إذ ن الفأر وعدد آخر من الطفرات المماثلة في الذرة الصفراء [76,52]. بالرغم من أن تأثير هذا النوع من الطفرات لم يشخص بشكل جيد، إلا أن هناك احتمال أن يكون ضرر الأكسدة الضوئية الذي يهيأ له من خلال تراكم المواد السامة سبباً لذلك. يبدو أن مستوى التماثل بين إنزيم البروتيز البلاستيدي ونظيره البكتيري *FtsH* الذي يعمل على التخلص من البروتينات المتضررة يرتبط سلبا بتحفيز موت الخلايا الناتج عن HR. كما وجد أن الجين *Ds9* في التبغ (*Nicotiana tabacum*) يؤثر ايجابيا في تدفق الالكترونات في عملية التمثيل الكاربوني، بحيث أن فرط التعبير فيه يؤدي إلى إعاقة واضحة لتفعيل PCD في حالة HR [106].

الجينات المنظمة لموت الخلايا في النبات:

برز في الآونة الأخيرة جينان مهمان جداً في عملية PCD في حالة HR هما *LSD1* في نبات أذن الفأر و *MLO* في الشعير، وكلاهما موجود في النباتات الأحادية والثنائية الفلقة، إلا أن من الواضح أن فعاليتهما ترتبط بنوع النبات بشكل أو بآخر.

***LSD1*:** شخص هذا الجين في الأصل على انه طفرة من نوع (Lesion-mimic) وهي إحدى أنواع طفرات فقد الوظيفة (Loose function mutation) التي ينتج عنها تراكيب وراثية تدعى RCD (Runaway Cell Death)، حيث لا يمكن إيقاف موت الخلايا في تراكيب *lsd1* الوراثية بعد حدوث التحفيز الابتدائي [55]. إن هذا النوع من موت الخلايا يستجيب بشكل خاص للأوكسجين وليس لبيروكسيد الهيدروجين لتحفيز موت الخلايا في حالات HR . كما أشار عدد من الاختبارات الوراثية مؤخراً انه يمكن أن يكون منظماً سلبياً مهماً لعمل لايبيز اسيل الكليسيرول الثلاثي (*EDS1*) و *PAD4*، وبذا فان حصول طفرة في هذه المواقع سيكبح موت الخلايا الناتج عن تحفيز *lsd1* [76]. كما أن وجود حامض الساليسيلك ضروري هو الآخر لإعطاء تراكيب RCD صفاتها المظهرية المميزة، وهذا يقدم دليلاً وراثياً قوياً على أهمية *lsd1* كمفتاح منظم لعملية PCD خلال مقاومة النبات للمسببات المرضية [4]. لقد شخص في الآونة الأخيرة شبيه قريب جدا لجين *LSD1* ويدعى *LOL1* (LSD Like 1) [33]. إلا انه وعلى العكس من *LSD1* الذي يعتقد انه عادةً ما ينظم موت الخلايا سلباً، فان *LOL1* ينظم موت الخلايا ايجابياً. إن كبح تعبير *LOL1* في تراكيب *LSD1* سيعيق موت الخلايا في تراكيب RCD ، بينما ستؤدي الزيادة في تعبير *LOL1* إلى تعجيل موت الخلايا في حالات HR في الأنواع البرية. يمكن أن يوصف عمل *LSD1* و *LOL1* على إنهما منظمان متضادان لعملية PCD وطريقة عملهما تلك تشكل حد العتبة (Threshold) لظاهرة PCD.

***MLO*:** إن أول اكتشاف لهذه العائلة من الجينات كان في الشعير وهي طفرات من نوع فقد الوظيفة، وينتج عنها تراكيب وراثية من نوع (Lesion-mimic) في المراحل المبكرة، وتسبب تفعيل PCD آنيا تحت غياب كامل للمحفزات"دون وجود أي محفز واضح". يعتقد أن *MLO* وبروتيناتها المرافقة تحتوي على حلزونات ناقلة عبر الغشاء وتتواجد في الأغشية البلازمية. يؤدي فقدان *MLO* إلى تحسين مقاومة الأمراض في عدد من أنواع العائلة النجيلية، كما وجد أن موت الخلايا الآني الذي يحدث في خلايا النسيج الوسطي نتيجة لحدوث طفرات *MLO*، قد يكون في جزء منه على علاقة بتعجيل الهرم [94]. أصبح من الواضح أن طفرات *MLO* تُفعل تحت مختلف ظروف الإجهاد، الحيوي منها وغير الحيوي، وهذا قد يكون له علاقة سلبية في تحفيز موت الخلايا. إن الطفرات النقطية التي تلغي هذا التداخل تتسبب بخفض كمي لمقدرة *MLO* على إعاقة مقاومة الأمراض [61]. إن مثل هذه النتائج تبين بشكل جلي أن وظيفة *MLO* يمكن أن تعدل

بتأثير تركيز ايونات الكالسيوم، وبذا سيكون لتلك الايونات تأثير كبير في كبح موت الخلايا وتحسين مقاومة الأمراض.

القتل الكلي للخلايا ونقطة اللاعودة:

إن أول خطوة غير معكوسة في تفعيل موت الخلايا المبرمج سوف تتطلب مستوى عالٍ من الدقة من قبل الخلية. إن الإنزيمات المحللة للبروتين (البروتيز) مثل (Metazoan caspases) تعمل كمفاتيح منظمة لتلك الفعاليات. تظهر هذه الإنزيمات عادة بشكل خامل وتفعل تباعاً، أو يتم عزلها خلوياً لتلافي إخفاق الخلية في استلام إشارة الشروع ببرنامج PCD. إن تحديد مفتاح تشغيل الإنزيمات المحللة للبروتينات مع تشخيص جيد لمجموعة الأماكن المستهدفة والمؤثرات في عملية PCD في النبات، يتقدم بشكل بطيء جداً. ففي حالة تمايز العناصر الناقلة في الخشب [62] ، يعتقد أن العديد من إنزيمات تحليل البروتين ضرورية لإتمام مراحله المختلفة. لقد ثبت أن الانقلاب في عمل مثبطات البروتييز ضروري في الأطوار التمهيدية ولكنه ليس كذلك في طور التحلل الذاتي [122,40]، كما تم التحقق من دور محتمل لبروتيز السيرين (Serine) خارج خلوي (Extracellular) [46]. كما أشارت أولى الدراسات التي طبقت للتحقق من دور مواد ROS في تحفيز PCD إلى أهمية الدور المنشط لكل من بروتيز السيرين والسستين [70]. فضلا عن ذلك فقد تم تشخيص مثبطات عمل بروتيز كل من السستاتين (Cystatin) و السستين على أنها مثبطات لإنتاج ROS ولموت الخلايا الناجم عن HR كاستجابة للمسببات المرضية البكتيرية [110]، كما تبين أن مثبطات عمل ببتيدات معينة في الكاسبيس يمكن أن تلغي ظاهرة موت الخلايا في حالة HR في أوراق التبغ [67]. إن ما يعرف بالكاسبيس شبيه البروتيز CLP (Caspases Like Protease)، قد تم تشخيص فعاليته من خلال العمل على مستخلص الخلايا الميتة نتيجة HR. من الجدير بالملاحظة، هو أن موت الخلايا لم يكن بمعزل عن الاستجابة الدفاعية للجينات بواسطة مثبطات الببتيد، مما يدل على أن فقدان التحفيز لموت الخلايا ليس بسبب التثبيط في المراحل المبكرة من التداخل بين العائل والمسبب المرضي [98,42,13] . بالرغم من أن استخدام الكواشف الكيمياوية عادة ما يعاب عليها التخصص في عملها على أهداف محددة، فضلا عن صعوبة تحديد المناطق المستهدفة بدقة، إلا أن هذه النتائج المبكرة نوعا ما ربما تشير إلى أن هناك طيفاً واسعاً من إنزيمات البروتيز التي ينظم عملها بواسطة مثبطات داخلية، يمكن أن تعمل كمفتاح حساس لتنظيم تشغيل PCD في النبات.

لقد أصبح جلياً منذ انجاز الخارطة الجينومية الكاملة لنبات إذ ن الفأر، أن الكاسبيس الذي يشبه في تركيبه إلى حد كبير (Metazoan) لا يمكن أن يكون موجوداً في النبات. إن إنزيمات البروتيز ذات التأثيرات المماثلة إلى حد ما لحالة الكاسبيس، قد ثبت أهميتها في تفعيل PCD من خلال العديد من التجارب التي أجريت في ظروف وبنماذج مختلفة [68,67]. إن بالإضافة إلى مثبطات الببتيد، وجد أن هناك العديد من المثبطات البايولوجية لظاهرة (Metazoan) يمكن أن تعمل على كبح موت الخلايا. إن بروتينات ما يعرف (Baculovirus) المثبطة لعمل بروتين الابوبتوسس والتي تدعى op-IAP (Inhibitor of Apoptosis Protein) بالإضافة إلى p35 قد ثبت تداخلها مع الكاسبيس في التجارب المطبقة خارج الجسم الحي، كما أنها ساهمت في إيقاف PCD في الأنسجة الحيوانية [14]. أدى نقل جينات op-IAP وهندستها وراثياً في نباتات بعض الأنواع إلى إيقاف موت الخلايا الناتج عن الإصابة ببعض المسببات المرضية الفطرية. كما أن تأثير بروتين p35 في بعض الأنواع النباتية كان واضحاً من خلال تأخيره موت الخلايا في حالات HR في العديد من الأنظمة [73,67,22,19,16]. إن الطفرات التي تحدث في p35 والتي لا يمكنها تثبيط الكاسبيس في الحيوانات، وجد أنها غير قادرة أيضا على وقف موت الخلايا لدى هندستها وراثياً في النباتات [73, 19,16]. يجب عدم إغفال حقيقة مهمة وهي إن تثبيط ظاهرة الكاسبيس سوف لن يؤدي إلى المحافظة على الحيوية الخلوية للكائن، بل انه مجرد سيغير مسار قتل الخلايا من مسالك الابوبتوسس إلى مسالك أخرى [63].

تشخيص CLPs (Caspases Like Protease):

ربما يتبادر إلى ذهن البعض العديد من الأسئلة عن ماهية CLP؟ لقد تبين من خلال عدد من الابحاث التي أجريت استنادا إلى مواصفات الكاسبيس التركيبية، أن هناك عائلتين

مترابطتين مع بعضهما البعض من إنزيمات البروتيز وتعرف (Paracaspases) و (Metacaspases) [78]. إن كلتا عائلتي بروتيز السستين هاتين لا تحتويان على أي اختلاف في الموقع الفعال QXCRG مقارنة بذلك الموجود في جميع أنواع الكاسبيسس تقريباً، إلا أن تركيبها المتوقع يمكن أن يكون له نظراء في كاسبيس الهيموغلوبين. توجد عائلة (Metacaspses) في الفطريات والبروتوزوا والنباتات، ويتضمن جينوم نبات إذ ن الفأر تسعة من جينات هذه العائلة، ثلاثة منها تعود إلى النوع الأول (Type I) التي تماثل في طبيعة عملها LSD1 إلى حد كبير، بينما تحتوي الأنواع الستة الأخرى التي هي من النوع الثاني (Type II) على حشر في طرفها الكاربوكسيلي في نصف تتابع البروتين المتوقع.

اكتشف مؤخرا أن النوع الأول من عائلة (Metacaspases) في الخميرة الذي يدعى Yca1 يشكل وسطاً ذا جهد مؤكسد قوي وهو على علاقة وثيقة بموت الخلايا. تبين أن السلاسل البكتيرية Yca1 كانت ذات عمر أطول في الأوساط الزرعية وبشكل ملفت، فضلا عن مقدرتها العالية على تحمل المستويات العآلية من بيروكسيد الهيدروجين [78]. إن النوع الأصلي من Yca1 غير ذاك الذي حدثت فيه طفرة نقطية في السستينن الذي يمثل الموقع الفعال، تبين انه يمكن أن ينشط من خلال اجهادات الأكسدة، والأخيرة مرتبطة بظهور أنشطة CLP الجديدة. لذا اعتبرت هذه النتائج الأساس الوراثي والكيموحيوي على ان (Metacaspases) يمكن أن تكون العامل المحدد للدور القاتل لإنزيم البروتيز في كل من النباتات والفطريات والبروتوزوا. كما أصبح جلياً أن تعبير أو أداء (Metacaspases) في بعض الأنواع يمكن أن يسبب موت الخلايا فيما عدا الحالات الناجمة عن حدوث طفرة في موقع السستين [113]. كما أشارت عدد من الاختبارات التي أجريت مؤخرا أن زيادة التعبير في النوع الثاني من (Metacaspases) خلال مرحلة تحفيز (Necrotroph) وليس مرحلة التحفيز الكيمياوي قد تسبب موت الخلايا في الطماطة (*Lycopersicon esculentum*) [50]. إن التحليل الشامل لعائلة (Metacaspases) باستخدام طرائق الوراثة العكسية والجزيئية كتقنية (تلنك)، يمكن أن يساعد كثيراً في تحديد الخصائص الكيموحيوية لموت الخلايا النباتية في المستلم [31] .

الفجوات كمصادر للمواد القاتلة:

افترض Alan Jones [57] مؤخراً، أن احتواء الفجوة على مجموعتين مختلفتين من الأنزيمات المحبة للماء يمكن أن يحفز اطلاق إشارة PCD، وبالتالي يمكن تشخيص الأشكال المختلفة لموت الخلايا. إذ يعتقد أن لانسياب ايون الكالسيوم دور حرج في إطلاق أحداث انهيار وتحطم الفجوات عن طريق التأثير المباشر أو غير المباشر لحركة المواد القاتلة الناتجة عن مختلف إشارات موت الخلايا. قد يكون من الأجدر الاستفادة من المقارنة بين موت الخلايا المبرمج في النبات وتلك التي تحدث نتيجة عمل جسيمات (Autophagic) في خلايا الحيوان. أصبح من المعلوم أن موت الخلايا التطوري الذي يحدث في الأنظمة الحيوانية، يحدث عادة خلال مسالك غير ابوبتوسسية [5]. لدى تحليل أشكال موت الخلايا خلال عمليات الإكثار الخضري (Somatic embryogenesis) في مغطاة البذور، دونت العديد من الملاحظات التي تفترض وجود توليفات معينة من أنماط ابوتوسسية و (Autophagic) لموت الخلايا الحيوانية المبرمج. على ضوء ذلك قد يثار تساؤل فيما لو أن المكونات "المفتاحية" في (Autophagy) التي تستخدم لإعادة تدوير المكونات الخلوية للفجوات أو اللايسوسومات (Lysosomes) عند حدوث شحة في العناصر الغذائية، يمكن أن يكون لها دور في تنظيم موت الخلايا النباتية. إن المزيد من الدراسات حول العمليات المرافقة لظاهرة PCD عند حدوث طفرات في مسالك (Autophagy) [107,23]، فضلا عن الطفرات في تشكل الفجوات مثل طفرة انعدام الفجوات [101]، يمكن أن تساعد في توضيح الصلة المحتملة بين تلك الظواهر التي ربما ترتبط بمستوى مكونات الخلية النباتية نفسها.

المايتوكوندريا وموت الخلايا المبرمج:

عرفت المايتوكوندريا بدورها الهام في حياة الخلية لإنتاج الطاقة اللازمة للقيام بالفعاليات الايضية، حتى منتصف التسعينات عندما اكتشف أن المايتوكوندريا عضو مهم في السيطرة على عملية PCD [11] ، بينما يعود الاعتراف بأن PCD يمثل أحد آليات التطور المهمة إلى بداية الثلاثينات

من القرن المنصرم. إن بالإضافة إلى الدور المهم الذي يلعبه PCD في التنظيم والسيطرة على موت الخلايا، فانه يشكل آلية دفاعية لإزالة الخلايا غير المرغوب فيها والتي يمكن أن تشكل خطراً على الكائن. بالرغم من التباين الكبير في مسالك تحفيز PCD، إلا انه غالبا ما يرافق موت الخلايا تغيرات مظهرية وكيموحيوية. لقد قادت الدراسات الوراثية التي أجريت على عدد من الأنواع إلى تشخيص الجينات المسؤولة عن الموت المبرمج للخلايا. فالجينان *ced-3* و *ced-4* ضروريان لتنظيم موت الخلايا، بينما يعمل *ced-9* عملا مضادا للجينين المذكورين، وهو بذلك أي *ced-9* يحمي الخلايا التي يجب أن تبقى حية من التعرض لأي برنامج للموت المبرمج. إن ما يعرف بظاهرة كاسبيس (Caspases) (Cysteine aspartases) هو النسخة الحيوانية من *ced-3*. إن *ced-9* هو نظير لعائلة تضم عدة أفراد وتدعى *Bcl-2* (*Bcl-2s*). وجد في كل من خلايا الديدان والثدييات أن أفراد *Bcl-2* تعمل على تنظيم عملية القتل بشكل معاكس (Upstream)، وبذا فهي تعمل كمضادات للابوبتوسس. اقترحت آليتا عمل رئيسيتان للربط بين أفراد *Bcl-2* وظاهرة الكاسبيس، الأولى: إن أفراد *Bcl-2* سوف تحافظ على بقاء الخلايا حية من خلال سحب ظاهرة الكاسبيس إلى داخل الأغشية الخلوية (غالبا إلى أغشية المايتوكوندريا) ومن خلال منع تفعيل الظاهرة نفسها. إن بروتين الثدييات المشخص مؤخراً Apaf-1 (Apoptosis protease-activating factor 1) يمكن أن يكون النسخة الحيوانية للبروتين *ced-4*، كما يمكن أن يكون الرابط الفيزياوي بين *Bcl-2* والكاسبيس. أما الآلية الثانية، وهي أن أفراد *Bcl-2* سوف تعمل على تنظيم إطلاق عدد من منشطات الكاسبيس من المايتوكوندريا مثل (Cytochrome C) [7] وعامل تحفيز الابوبتوسس AIF (Apoptosis Inducing Factor). إن هذا الدور المركزي للمايتوكوندريا في السيطرة على برنامج PCD قد دعم بعدما وجد أنها تساهم في إطلاق إشارة البدء في عملية الابوبتوسس من خلال إنتاجها لصور الأوكسجين الفعالة. بالرغم من عدم حدوث أي تغيرات في المايتوكوندريا منذ مدة طويلة نسبيا الذي يعد الصفة المميزة للابوبتوسس، إلا انه من الواضح أن المايتوكوندريا اليوم تحتل موقعا هاماً في تنفيذ PCD، لذا فان الاهتمام بالجانب التطوري واصل الأنواع، ودراسة اثر التغير في حجم الجينوم وحالات التضاعف على ظاهرة PCD، خصوصاً إذا ما علمنا أن جميع الأنواع النباتية تقريباً قد مرت بحالة تضاعف في مرحلة ما من حياتها [30]. كما أن الآلية التي ساهمت في إدامة التعايش بين الأسلاف البكتيرية للمايتوكوندريا وأسلاف خلايا العائل في الكائنات الحقيقية النواة، يمكن أن توفر الأساس المتين لآلية العمل الحقيقية في السيطرة على بقاء الخلايا حية.

المايتوكوندريا وابوبتوسس النواة:

يمكن حث الخلايا العديمة النواة على الدخول في برنامج لموت الخلايا، وهذا دليل آخر على وجود مسالك لموت الخلايا المبرمج PCD في السايتوبلازم تعمل بصورة مستقلة عن تلك الموجودة في النواة. فقد وجد أن عدداً من مكونات السايتوبلازم ومنها المايتوكوندريا، تساهم في السيطرة على تحلل ابوبتوسس النواة [116] . كما تبين أن المايتوكوندريا تمر بالعديد من التغيرات منها انخفاض كفاءة أغشيتها في تنظيم عملية التنافذ الغشائي PT (Permeability Transition) [75,7] . إن هناك دليلا واضحاً على الدور المهم الذي يلعبه PT لغشاء المايتوكوندريا في المراحل المبكرة لانطلاق الابوبتوسس، وهو انه فيما يسمى نظام الخلية الحر (Free cell system) الذي يجمع بين المايتوكوندريا والنواة، فان أغشية المايتوكوندريا تخضع لتغير في PT بشكلٍ كافٍ لتحفيز حدوث زيادة في كثافة الكروماتين وتجزئة DNA [112] . كما أن استخدام المستحضرات الصيدلانية لتغيير كفاءة PT، قد زاد من المقدرة التحفيزية للمايتوكوندريا لإطلاق الابوبتوسس. على النقيض من ذلك، فان منع حدوث تغير في PT باستخدام المستحضرات الصيدلانية سيعيق حدوث ظاهرة الابوبتوسس في النواة في كلٍ من التجارب المطبقة داخل أو خارج الجسم الحي. إن المايتوكوندريا في كلٍ من خلايا الكبد واللمف التي تمر بعملية الابوبتوسس، وليست تلك المعزولة من الخلايا الطبيعية، ستحفز التحلل في بعض النوى المعزولة. وجد أن قرين ناقل نيكليوتايد الأدنين في المايتوكوندريا ANT (Adenine Nucleotide Translocator)، الذي يسمى بحامض (Bongkreik) يفقد الغشاء خاصية PT ويخفض تحفيز الابوبتوسس من قبل

المايتوكوندريا في نظام الخلية الحر. فضلا عن ذلك فانه يثبط الابوبتوسس في الخلايا المجاورة. كما أن هناك أدلة على أن Bcl-2 يعيق فعالية PT في المايتوكوندريا.

الخلايا الجذعية العصبية و PCD:

يتضمن التشكل الطبيعي للخلايا العصبية الجذعية تمايز متتابع للعديد من الخلايا الجذعية الفعالة. إذ يعتقد أن أكثر من نصف عدد الخلايا العصبية سيفقد قبل اكتمال بناء هيكل الجهاز العصبي [89] وذلك تبعاً لبرنامج PCD. إن التباين في عدد الخلايا الجذعية ومقدرتها على التجدد ذاتياً والانتشار، سيكون له دور أساسي في التشكل الطبيعي للنظام العصبي. هناك عدد من الآليات التي تنظم تمايز الخلايا الجذعية العصبية، كما أن تكاثر وانتشار الإشارات فضلاً عن منظمات دورة الخلية، يمكن أن ينظم حركة الخلية و عدد انقساماتها الكلي. إن فقدان الدعم الغذائي وتفعيل مستلم السايتوكاينين، ربما يساهم بشكل متباين في تحفيز برنامج PCD في مراحل معينة [39,10] . كما أن الإشارات الصادرة عن النسل المتمايز أو التوزيع غير المتوازن لجزيئات معينة، ربما يبدل خصائص التجدد الذاتي للخلايا الجذعية. إن الاعتقاد السائد اليوم، هو أن القرار النهائي الذي يحدد بموجبه فيما إذا كانت الخلية ستمر بمرحلة تجدد ذاتي أو أنها ستتمايز(تتخصص) أو أنها ستظل ساكنة، يعتمد بدرجة كبيرة على تكامل مجموعة من الإشارات في كل حالة من الحالات الثلاث، وكل حالة ستتأثر بعدد من العوامل منها كثافة الخلية والحالة الايضية لها ووجود أقران (مرافقات) للمحفزات ونوع ومستوى التعبير في المستلم ومدى التناسق بين الإشارات المختلفة في مسالك تنظيم PCD. إضافة إلى ما تقدم لا يمكن إغفال ضرورة وجود برنامج وراثي يخضع لسيطرته PCD في الخلايا العصبية، وبذا فان تحفيز تلك الجينات سيشفر لتكوين طيف واسع من البروتينات، بدءاً بعوامل الاستنساخ الضرورية وانتهاءً بإنزيمات البروتيز التي تساهم في إعادة تشكيل الأنسجة لتهيئتها للموت.

"الابوبتوسس" نظرة عن كثب:

يمكن للخلايا الحيوانية أن تدمر نفسها من خلال برنامج عرضي لموت الخلايا [111] . إن الابوبتوسس هو احد أشكال موت الخلايا المبرمج الذي تم تشخيصه بواسطة عدد من الخصائص المظهرية والكيموحيوية [124]. يتم تشخيص الابوبتوسس مظهرياً من خلال سلسلة من التغيرات التركيبية التي ترافق موت الخلايا، منها تكون فقاعات في الغشاء البلازمي وتكثيف السايتوبلازم والنواة وعملية انفصال خلوي لتكوين أجسام (Apoptics) غشائية [123,111]. أما التشخيص الكيموحيوي فيتضمن تحلل الكروماتين، وتتكون في البدء قطع كبيرة نوعا ما تتراوح بين 30-50 kb ثم تتجزأ إلى قطع اصغر من (Monomers) و (Multimers) بحجم 200 b [123,88]، كما إن هناك مؤشرات كيموحيوية أخرى ترافق الابوبتوسس تنجم عنها زيادة مستويات البروتينات المتجمعة [93]، فضلا عن تفعيل إنزيم (Transglutaminase) الذي يربط بدوره البروتينات المختلفة بمحفظة أجسام (Apoptic) [35]. إن الابوبتوسس هو ظاهرة معقدة من الفعاليات المظهرية والكيموحيوية المترابطة التي يمكن أن تتباين تبعا لنوع النسيج أو الخلية والكائن الحي نفسه [130]. إن تنفيذ قتل الخلايا في الابوبتوسس سيقلل تسرب المكونات الخلوية الأساسية من الخلايا الميتة، فالإنزيمات المحللة للبروتين يمكن أن تسبب أضرارا للخلايا المجاورة أو إن تحفز استجابة مرضية التهابية. إن هذه السمة الأساسية لظاهرة الابوبتوسس هي التي تميزها عن النخر (Necrosis) الذي ينجم عن الجروح التي تسبب إصابة الخلايا بأضرار ثم تورمها وتحللها وبالتالي تحرر المكونات السايتوبلازمية التي تحفز الاستجابة المرضية الالتهابية [124,111].

بالرغم من أهمية الابوبتوسس في التطور والحفاظ على صحة الحيوان،إلا أن التحفيز الخاطئ له يمكن أن يتسبب بالعديد من الأمراض، منها مرض نقص المناعة المكتسبة (الايدز AIDS) واضطرابات تطور الجهاز العصبي، بينما سيكون النموذج الضعيف منه ذا فائدة كبيرة في علم أسباب الأمراض الخاص بالسرطان واضطرابات الجهاز المناعي الذاتي والإصابات الفايروسية [115]. تبين أن بعض المكونات الجزيئية لبرنامج الابوبتوسس قد تمت المحافظة عليها عبر مراحل التطور، إذ أثبتت الدراسات التي أجريت على الديدان الثعبانية (*Caenorhabditis elegans*)، أن هناك 14 جينا تؤثر في موت الخلايا المبرمج في ذلك الكائن،

واحد أهم هذه الجينات هما الجينان *ced-3* و *ced-9* وهما نظيران لجينين في الثدييات هما *bcl-2* و *ice* (interleukin-1-ß-converting enzyme) وبنفس التتابع. إن تعبير *ced-9* / *bcl-2* يوقف ظاهرة الابوبتوسس في العديد من الأنظمة. يوجد بروتين *bcl-2* أو يشترك مع الأغشية الداخلية للمايتوكوندريا والشبكة الاندوبلازمية والنواة [99]، وبالرغم من عدم معرفة آلية عمل *bcl-2*، فقد أثبتت الدراسات الكيموحيوية مساهمة هذا البروتين في تنظيم جهد " أكسدة–اختزال " للخلية. فعندما يتم كبح تعبير الجين *bcl-2* سيكبح على أثره موت الخلية الذي تم تحفيزه بتأثير المواد المؤكسدة، كما يبدو انه سيؤثر في مستوى (Glutathione) [131,65]. أشار العديد من الدراسات إلى أن *ced-9* / *bcl-2* ينتميان إلى عائلة واحدة، وبعض أفراد هذه العائلة يمكن أن يكبح الابوبتوسس مثل *bcl-2* و *bcl-xL* [9]، في حين يكون سلوك أفراد آخرين مغايراً، إذ تعمل على جعل الخلية أكثر استعدادا لتحفيز الابوبتوسس ومنها *bax* و *bcl-xS* [90,9]. فضلا عن ذلك فان أفراد عائلة *bcl-2* لها المقدرة على تكوين دايمرات (Dimmers) متماثلة أو متباينة، مما يقترح نموذجا للتنظيم تكون فيه الجاهزية الخلوية أو حد العتبة لانطلاق الابوبتوسس واقعا تحت تأثير جزئي لمستوى التعبير [90]. يشفر *ced-3* / *ice* تكوين الإنزيم المحلل للسستين الذي يعمل على فك ارتباط الأواصر الببتيدية [79]. تتسبب الطفرات التي تحدث في موقع ced-3 بإيقاف الابوبتوسس في بعض الأنواع ، بينما يحفز فرط تعبير ice حدوثه في خلايا تليف الكبد في أنواع أخرى [85 ,129]. تم من خلال عدد من الاختبارات تشخيص مجموعة من الإنزيمات الواقعة تحت سيطرة عائلة *ced-3* / *ice* الجينية ومنها *Ich-1/Nedd-2* و *cpp32ß/yama* و *Tx/Ich-2* و *Mch-2* وبنفس التتابع، ويبدو أن جميعها تساهم في حدوث الابوبتوسس في حالة فرط التعبير فيها في مختلف أنواع الخلايا [79].

كما أن هناك دليلا آخر يتمثل في أن مثبطات عمل *ice* مثل بروتين الفايروس المعروف *CrmA* والببتيد المسمى *YVAD* يوقفان الابوبتوسس الذي تم تحفيزه بواسطة أقران Fas أو مستلماتها ذات الطبيعة المشابهة لها[79]. ركزت في الآونة الأخيرة عدد من الدراسات المهمة على تشخيص المتحسسات الجزيئية أو نقاط الشروع في ظاهرة الابوبتوسس، وربما تكون أفضل الدراسات التي طبقت بنجاح في هذا المجال هي الدراسة التي أجريت على بروتينات الثدييات والتي تلائم التقسيم الموضوع لتلك المتحسسات أو لنقاط الانطلاق وهو كابح الورم السرطاني *p35* وقرين Fas ومستقبله ذو الطبيعة المشابهة له، وبنفس التتابع [86,25]. إن *p35* هو عبارة عن بروتين رابط لشريط DNA ومفعل لعملية الاستنساخ، مما يعتقد أن له دورا في إعادة ازدواج DNA وذلك لأنه يتراكم بشكل ملفت للنظر مباشرة بعد تضرر DNA [25]. يعتقد أن *p35* ربما يؤدي وظيفة متحسس لحدوث ضرر في DNA واصطلح عليه "حارس الجينوم" [77,66]، على النقيض من *p35* فان نظام استقبال قرين Fas هو محفز لحدوث الابوبتوسس. أن قرين Fas هو احد بروتينات سطح الخلية الذي عادة ما يعمل على تنشيط خلايا T، وهو فرد من عائلة جينات TNF. يطلق قرين Fas حدوث الابوبتوسس في مختلف أنواع الخلايا التي تحمل Fas على أسطحها. يبدو أن ظاهرة الابوبتوسس من التعقيد بمكان بحيث أن ما لا يقل عن 70 حامض أميني ضرورية فقط لنقل إشارة البدء، وذلك طبقا لدراسة اثر التطفير في عمل Fas [54].

ظاهرة PCD والعمليات التطورية وإعادة تشكل الأنسجة:

إن من بين الأمثلة على دور PCD في تشكل الأنسجة هو تطور الأطراف في الفقريات، فإذ ا فشل برنامج PCD خلال تشكل الأصابع تبقى تلك الأصابع مرتبطة مع بعضها البعض بأنسجة رقيقة، ومثال ذلك لدى مقارنة الدجاج مع البط، فإذ ا ما اجتمع إصبع الدجاج مع أدمة البط فان برنامج PCD سيفشل ونتيجة لذلك تبقى الأصابع مرتبطة [103]. تبين هذه الملاحظات الدور الذي تلعبه الأدمة في إطلاق PCD. من بين الأمثلة الأخرى على دور المنظم للخلايا في عملية التشكل، هو تكون الحلقات القلبية خلال مراحل تطور الفقريات، إذ أن اضمحلال الخلايا يحدث في العقد الشوكية (Spinal ganglia) خلال تمايز أجنة الدجاج [104]. كما أن الحقن بأي عامل من عوامل نمو الأعصاب يسبب خفض وتيرة موت الخلايا في العقد الشوكية، وهذا دليل آخر على الصلة الوثيقة التي تربط بين PCD ونمو الكائن.

إن جزءاً كبيراً من معلوماتنا في الوراثة الجزيئية لموت الخلايا جاءت من خلال العمل على عدد محدود من الكائنات ومن أهمها الديدان الثعبانية، فالدودة الخنثى البالغة تكوّن معدل 1090 خلية جسمية يموت منها 131 في عملية الابوبتوسس. هناك أربع مراحل رئيسية في عملية الابوبتوسس التي تحدث في الديدان وهي تقرير مصير الخلية، فيما لو أنها ستموت أو تلاقي مصيراً آخر، وموت الخلية، وتغليف الخلية الميتة بواسطة (Phagocytes)، وتحلل حطام الخلية التي تم تغليفها. لقد تم تشخيص عدد من الجينات التي تنظم تلك العمليات في الديدان [111]. إذ أن الطفرات التي تؤثر في المراحل الثلاث الأخيرة ستؤثر في جميع خلايا الجسم، بينما الجينات التي ترتبط بموت الخلايا فقط ستؤثر في عدد قليل من تلك الخلايا. إن عملية القتل ذاتها تخضع لسيطرة ثلاثة جينات رئيسية *ced-3* و *ced-4* و *ced-9* (*ced*=cell death defective). حيث يعمل *ced-3* و *ced-4* بشكل مستقل في الخلايا التي حكم عليها بالقتل، بينما يعمل *ced-9* كمثبط لبرنامج PCD، وإذا ما أُبطل مفعول أي من *ced-3* أو *ced-4* من خلال الطفرة، فان الخلايا التي عادة ما تموت في الحالة الاعتيادية، ستنجو وتبقى على قيد الحياة. إن التعبير الأساسي في *ced-9* هو تثبيط موت الخلايا، بينما إبطال مفعول الجين المذكور بالطفرة سيؤدي إلى زيادة موت الخلايا بشكل كبير، والذي يقود إلى الموت المبكر للأجنة. إن برنامج موت الخلايا يصبح جاهز للتنفيذ بمجرد وجود *ced-3* و *ced-4* ولكنه لا ينفذ إلا بإشارة من *ced-9*. لذا فان حصول الطفرة في أحد الجينين *ced*-3 أو *ced-4* سيعيق موت الخلية، بينما حصول طفرة مزدوجة في كلاهما سيؤدي إلى إيقاف برنامج PCD كلياً، وسيكون الفرد الناتج ذو طراز مظهري مماثل لفرد حصلت فيه طفرة مفردة في *ced-3* أو *ced-4*. [49].

لدى الحديث عن آليات عمل الابوبتوسس يمكن أن يتبادر إلى ذهن البعض العديد من التساؤلات من قبيل: كيفية إيصال أمر القضاء على الخلية، وفي حال توصيل الأمر، فكيف يمكن للخلية تلافي ذلك الأمر أمر القتل؟ قادت الدراسات التي أجريت على ذبابة الفاكهة (*Drosophila melanogaster*) إلى تشخيص جين يدعى reaper الذي يلعب دورا رئيسياً في تحفيز موت الخلايا [121]، إذ توجد مستنسخات هذا الجين في الخلايا المحكومة بالقتل، وان وجود هذه المستنسخات يسبق ظهور أعراض الابوبتوسس بساعة إلى ساعتين. يبدو أن الجين المذكور يشفر لتكوين ببتايد صغير غير معلوم إلا انه نظير لبروتين آخر معلوم، بحيث أن حذف ذلك الجين يسبب كبح موت الخلية المحفز. لذلك فان الأجنة التي أحدثت فيها طفرة في هذا الجين تحتوي على خلايا زائدة بشكل ملحوظ [121]. يعتقد أن reaper يقوم بتجميع وتكامل المعلومات القادمة من الإشارات المتباينة ليضع الخلية في مسلك الابوبتوسس، وعند هذه النقطة فان وجود نظراء للجين المذكور في الكائنات الأخرى سيكون معلوماً.

إن من بين أهم الأسئلة المثارة في هذا الصدد، هو ما سبب موت بعض الخلايا ونجاة البعض الآخر؟

تشير بعض الأدلة الواردة من الدراسات التي أجريت على الكائنات الراقية، أن هناك إشارات عرضية ربما توفر الحماية لبعض الخلايا من المرور بظاهرة الابوبتوسس، وذلك من خلال إعاقة برنامج انتحار الخلايا [95]. فمثلا، إن نجاة الخلايا العصبية المتطورة ربما يعتمد على عوامل موجهة للأعصاب تفرز من قبل الأماكن المستهدفة. إذ أن فشل بعض الخلايا في استلام كميات كافية من المواد المحفزة قد يتسبب بموت تلك الخلايا. ولكن هل انطلاق هذه الاشارات العرضية ضروريا وما الفائدة التي ستعود على الكائن من خلال الإبقاء على حياة بعض الخلايا؟. إن احد أهم أغراض برنامج PCD هذا هو إيجاد نظام بسيط لقتل الخلايا التي انتهى بها المطاف في المكان الخطأ، وبغياب الإشارة اللازمة للإبقاء على تلك الخلايا، فان الخلايا المؤذية سيتم قتلها [96]. فالخلايا الجنسية الابتدائية في الثدييات مثلا، تنشأ في المعي الخلفي وعليها الهجرة إلى الحافات التناسلية، حيث تتكون هناك الأمشاج، بحيث أن الخلايا التي تفشل في الوصول إلى تلك الحافات ستموت أو من المفترض أن يتم التخلص منها، لأنها ببساطة قد حرمت من الإشارة الضرورية للنجاة [18]. يمكن لمثل هذه الآليات أن تعطي فرصة للمختصين لتطوير وسائل جديدة لتسخير عوامل القتل هذه، لاستهداف الخلايا غير المرغوب فيها وبتدميرها. إن من بين أهم الأمثلة على ذلك هو سرطان البروستات الهرموني

(Hormone Refractory Prostate Cancer) (HRPC)، إذ أن نجاة خلايا البروستات يعتمد بشكل أساسي على الهرمونات الذكرية (Androgens)، وان غيابها سيؤدي إلى تقليل عدد الخلايا بواسطة الابوبتوسس [96] . تم مؤخرا الاستفادة من اعتماد خلايا البروستات في الإنسان على الاندروجين للحيلولة دون موت الخلايا وذلك للإغراض العلاجية، من خلال استئصال الاندروجين لتحفيز حدوث ظاهرة الابوبتوسس في الخلايا السرطانية للبروستات وزيادة عدد الناجين من الذكور المصابين. إن مقاومة استئصال الاندروجين ترتبط بشكل واضح مع فرط التعبير في *bcl-2*، وهو نظير الجين البشري *ced-9* الذي يعمل على كبح ظاهرة الابوبتوسس في الخلايا السرطانية للبروستات. لذا فان الإفلات من التحسس للاندروجين من خلال فرط تعبير *bcl-2* في الخلايا السرطانية الثانوية للبروستات سيؤدي إلى انتشار هذه الخلايا وبالتالي موت المريض. استنادا لذلك فإذ ا أصبح بالإمكان تنظيم عمل *bcl-2*، يمكن حينها تحفيز حدوث ظاهرة الابوبتوسس في مثل تلك الخلايا والسيطرة على السرطان [96] . يتضح مما تقدم أن هناك علاقة عكسية بين موت الخلايا وبقاء الكائن على قيد الحياة، وإذ ا ما أمكن استغلال هذه العلاقة فهذا يعد بحلول علاجية ناجعة للسيطرة على العديد من الأمراض المستعصية مثل السرطان وغيره.

إن الهرم هو العملية البطيئة التي تتساوى عندها أهمية موت الخلية عند مستوى النسيج أو العضو النباتي، فتكون عملية التدوير الكفوءة للعناصر الغذائية من الخلايا والأنسجة الميتة إلى الخلايا الحية هي الغرض الأساسي من انطلاق PCD. بينما تكون هناك حاجة إلى تسريع موت الخلايا في حالات الاستجابة لفرط التحسس لمنع المسببات المرضية الفيروسية من الانتقال جهازياً في النبات العائل [68,57,40,19]. ربما يكون هناك مسالك متخصصة لموت الخلايا تختلف تبعاً لاختلاف الغرض الذي من اجله تموت الخلية وتبعاً لاختلاف طبيعة المواد القاتلة التي تم تفعيلها. لذا فان المساهمات المختلفة للمسالك الصغيرة نسبيا لموت الخلايا، يمكن أن تعطي المعدل العام للطيف الواسع من أشكال موت الخلايا الواسع الانتشار. إن الانخفاض الجزئي الملازم لهذا الشكل من العمل التوافقي بين تلك المسالك، يفسر ندرة المواد القاتلة للخلايا المشخصة لحد الآن، مقارنة بتعدد مكونات المسالك التي تحدد القرار النهائي بموت الخلية من عدمه [76,51]. تم التوصيف الوراثي لعدة أشكال من موت الخلايا التي تخضع بدورها لمجاميع مختلفة من المنظمات [56,5,2]. إن توضيح المسالك التي يتم من خلالها تدمير الفجوات وتشخيص CLPs المختلفة. التي يعتقد أنها ذات أهمية كبيرة في تحديد أنموذج موت الخلية، والتشخيص الوظيفي للجينات ذات العلاقة، يمكن أن تساهم بشكل كبير في فهم آليات موت الخلايا المختلفة. كما أن من المتوقع أن يكون للقفزات الكبيرة في مجال بحوث الجينوم وتحديد التتابع الكامل فيه كما حصل مع جينوم عدد من الأنواع النباتية، فضلاً عن استخدام تقنيات الوراثة الجزيئية والعكسية [31] أن تعطي دفعة كبيرة لاستكشاف العلاقة بين المحتوى الجينومي وظاهرة PCD. كما أن تحديد أنظمة الكبح الجيني [120] يمكن أن تزيد من المقدرة على تحديد وظائف الجينات تحت ظروف تطور مختلفة.

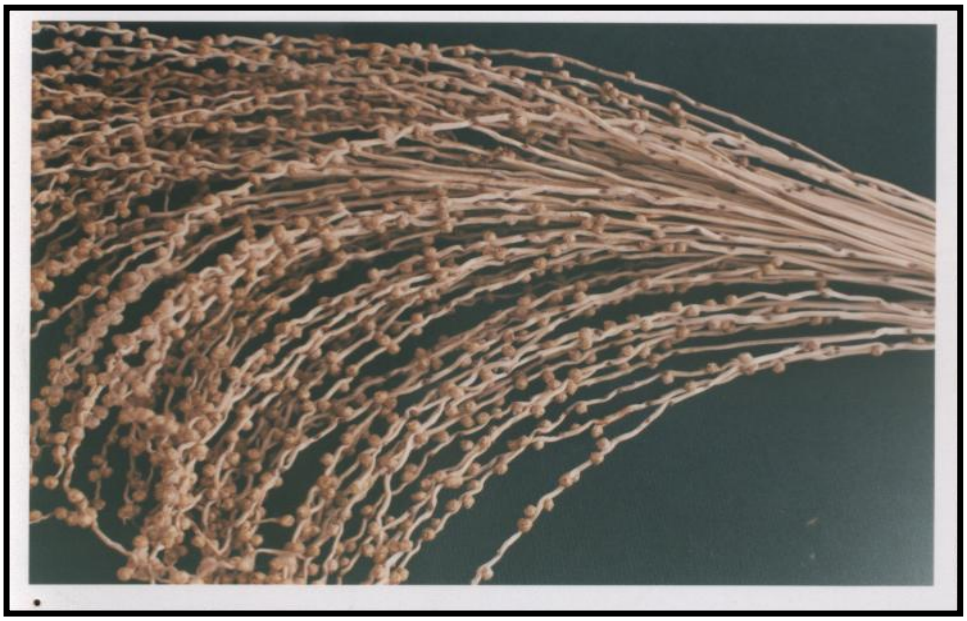
الجانب التطبيقي لبرنامج PCD في الكائنات الحية:

تمت الإشارة إلى أن الكائنات الحية من حقيقية النواة تمتلك كلها برامج PCD مختلفة تختلف باختلاف النوع، وأفراد النوع (العامل الوراثي) وعوامل النمو المتاحة لذلك الكائن، ومرحلة نموه وتمايز خلاياه وأنسجته. ففي الإنسان مثلاً لو أمكن تشخيص جينات السرطان وتحديد المتغلب والمتنحي منها وعلاقته مع PCD، فانه بمعرفة جرعة الجين من الإنزيم تمكن معالجة الحالة على المستوى الجزيئي، وبحسب نظرية (One-enzyme one-gene) [32]. إذ لكل جين أو أكثر إنزيم أو أكثر يقوم بفعله الوراثي للصفة. ذكرنا مرض البروستات عند الرجل، أما عند المرأة فان ظاهرة سرطان الثدي تعد واسعة الانتشار لاسيما مع الأمهات اللائي دخلن سن 35–40 عاماً فأكثر ولا يقمن برضاعة أطفالهن من أثدائهن. يحدث السرطان بفشل برنامج PCD الذي يجب أن يكبح خلايا غدد الحليب من النمو ويجعلها ساكنة، فتبقى المرأة سليمة من سرطان الثدي، وإلا حصل فيها. كذلك من أمثلة PCD في الإنسان والحيوان والشائعة جدا موت خلايا الدم وتجديدها بالكامل كل 3–4 أشهر، وتجديد خلايا الجلد (بوزن حوالي 4 كغم) سنوياً وهي حالة ملفتة للانتباه بان

يحدث هذا كل عام، وحتى خلايا العظام فإنها تتجدد خلال عمر الإنسان حوالي 6-7 مرات!!. هنالك حالة تصيب نصف دماغ الإنسان بنوع من السل، فإذا أزيل نصف الدماغ المصاب للمريض في عمر مبكر (3-5 سنوات) فيمكنه أن يعيش طبيعياً مع معاناة لبضع سنوات في بطء الكلام والحركة، ولكن لو حدثت الإصابة وإزالة نصف الدماغ المصاب وهو بعمر 13-14 عاما مثلا فان فرصته في العيش لا مشكلة فيها، إلا أن برنامج PCD سوف لن يساعده كثيراً من التخلص من بطء الكلام والحركة لعدة سنوات، وبذا نفهم أن مرحلة النمو وحدوث PCD مهمة جداً للوصول إلى الحالة الطبيعية للكائن الحي لمثل هذا المرض وغيره، بان تنمو خلايا جديدة لتعوض عن أخرى.

أما في نباتات المحاصيل، فهناك كما ذكرنا اختلاف في الجانب الوراثي (الصنف والنوع والجنس) وعوامل النمو، ومرحلة النمو. لقد درس الساهوكي [29] نظرية ثابت مقدرة النظام (System Capacity Constant=SCC) في هجين الذرة الصفراء (*Zea mays ssp. mays L.*) وسلالتيه، واثبت أن مدة ظهور العرنوصين للنبات خلال وقت قصير هو دليل على ارتفاع SCC في النبات، بينما النباتات التي أعطت عرنوصين، ولكن بينهما عدة أيام فان نظام SCC كان فيها منخفضاً. عليه إذا أخذنا بنظر الاعتبار آلية التزهير المحكومة بمنظومة من الجينات [28] في ذلك النبات وفهمنا علاقة PCD مع فترات التزهير الذكري والأنثوي في الذرة الصفراء مثلاً، فان ذلك سيكون دليلاً مساعداً للمربي في الحقل لتشخيص النباتات ذات المقدرة الوراثية على إعطاء حاصل أعلى من الحبوب. إن فشل العرنوص الثاني أو الثالث في نباتات الذرة الصفراء هو مسيطر عليه وراثياً ببرنامج PCD الذي يحد من تشكلها لإنجاح تشكل العرنوص الأول، وهكذا.

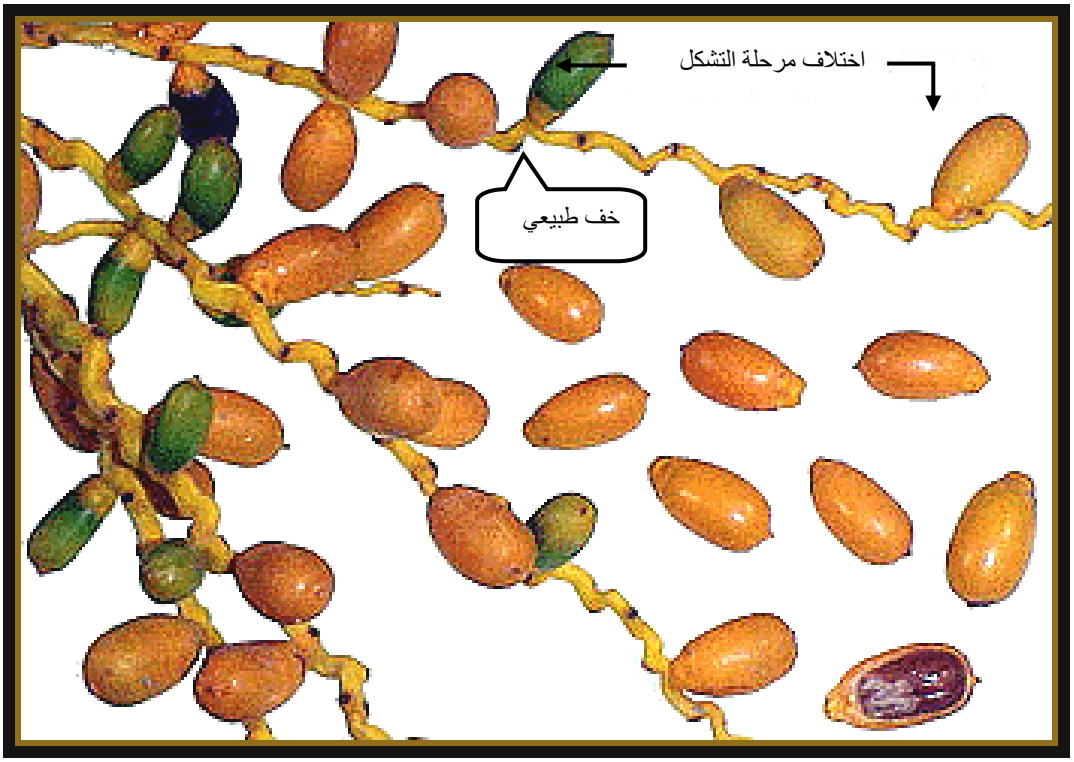
نلاحظ كذلك ظاهرة PCD في نخلة التمر، وهي موت بعض العذوق في مرحلة مبكرة وهي لا زالت أزهارا، كما أنها تحدث في مرحلة متقدمة (الشكلان 5 و 6) .



شكل 5. موت عذق النخلة في مرحلة مبكرة.

شكل 6. موت عذق النخلة بعد المرحلة المبكرة وهذا يعطي فرصة للخف الطبيعي للثمار، فيزداد حجم الثمار في العذوق المتبقية.

إن هذه الظاهرة تحدث من دون حالات الإصابة المرضية المختلفة التي قد تحدث لعذوق نخلة التمر. هذا وحتى المراحل المتأخرة وقبيل النضج يكون حجم الثمرة بين العذوق مختلفاً باختلاف مرحلة ظهوره على النخلة، فكلما تأخر ظهوره، كلما كانت فرصة حصول الثمار على المواد الايضية اقل. من جهة أخرى فان ثمار العذق الواحد تختلف باختلاف مرحلة تشكلها وإخصابها، فتكون السابقة أفضل من اللاحقة بالحجم وعلى نفس العذق (الشكلان 7 و 8). لقد كانت نسبة وزن الثمار الكبيرة إلى الصغيرة في الشكل (8) حوالي 330%، وهي نسبة عالية جداً للتغاير في الوزن وكل ذلك كان بسبب فرق بسيط في مدة تشكل الثمرة من التزهير فالإخصاب فالنضج. إن هذا يؤكد أن عملية الخف الطبيعي أو الصناعي بإزالة بعض العذوق من النخلة أو قطع بعض الشماريخ من العذق الواحد سوف يزيد من نوعية حجم الثمار، فيزداد سعرها التسويقي.



شكل 7. الخف الطبيعي واختلاف حجم الثمار على الشماريخ باختلاف مرحلة التشكل والإخصاب.

شكل 8. اختلاف حجم الثمرة الواحدة للعذق الواحد بسبب اختلاف مرحلة الظهور والتشكل على العذق. كانت نسبة وزن الثمار الكبيرة الى الصغيرة في هذه الصورة حوالي 330%.

شكل 9. اختلاف حجم ثمار الزيتون بسبب الموقع على الغصن الاعلى المواجه للضوء من جهة وقلة المنافسة بين الثمار.

كذلك لوحظت مثل هذه الحالة مع ثمار الزيتون (شكل 9). إذ تميزت ثمار الزيتون الظاهرة في الشكل بوزنها العالي بين المجموعتين، إذ كانت نسبة الزيادة بحدود 700% !! وهذه الحالة لها قيمتها في نوعية الثمار والتي نتجت بسبب موقعها على الأغصان العليا من الشجرة، فيما كانت الثمار الصغيرة على الأغصان السفلى لا تتعرض كثيراً لمدة إضاءة كافية. إذ كانت الأغصان المواجهة لضوء الشمس ذات عدد أعلى من الثمار وبوزن أثقل بالمقارنة مع الثمار في الجهة المعاكسة لضوء الشمس. إن زيادة عدد الثمار في الغصن الواحد تؤدي– عند قلة المواد الايضية– إلى صغر وزنها، إلا انه لو كانت الشجرة في حالة جيدة– ذات SCC عالي– فان وزن الثمرة سيبقى عالياً وهي الحالة المثلى التي نطمح إليها لدى الرغبة في اعتماد زيادة نظام SCC في النبات (سواء وراثيا أو بيئيا) وتنشيط حدوث PCD للحصول على إنتاجية أعلى من نباتات ذلك النوع. إن الضوء والعناصر الغذائية والري والكثافة النباتية المثلى وغيرها كلها يمكن تسخيرها للوقوف على حقيقة زيادة إنتاجية المحصول وتحسين نوعيته بعد تحديد الأصل الوراثي الأفضل من ذلك المجتمع النباتي بإحدى طرائق التربية سواء بالانتخاب بخلية النحل، أو باستنباط الهجن المتميزة.

المصادر

1. Alvarez, M.E. 2000. Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. *Plant Mol. Biol.* 44: 429–442.
2. Ameisen, J. C. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death Differ.*, 9: 367–393.
3. Asai, T., J.M. Stone, J.E. Heard, Y. Kovtun, P. Yorgey, J. Sheen and F.M. Ausubel. 2000. Fumonisin B1-induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways. *Plant Cell*, 12: 1823–1836.
4. Aviv, D. H., C. Rusterucci, B.F. Holt III, R.A. Dietrich, J.E. Parker and J.L. Dangl. 2002. Runaway cell death, but not basal disease resistance, in *lsd1* is SA- and *NIM1/NPR1*-dependent. *Plant J.* 29: 381–391.
5. Baehrecke, E.H. 2002. How death shapes life during development. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 3: 779–787.
6. Baker, C. J. and E.W. Orlandi. 1995. Active oxygen in plant pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* 33: 299–322.
7. Bars, M., B. Queenan, and S.A. Susan. 2005. Programmed cell death via

mitochondria, different modes of dying. *Biochem.*(Moscow) 70:231-239.

8. Bawa, K.S, S.G. Hedge, K.N. Ganeshaiah and R.U. Shaanker 1989. Embryo and seed abortion in plants. *Nature*, 342: 625-632.

9. Boise, L.H., M.G. Garcia and C.E. Postema. 1993. Bcl-x, a bcl-2-Related gene that act as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell* 74: 597-608.

10. Bredesen, D.E**.** 2008**.** Programmed cell death mechanisms in neurological disease. *Curr. Mol. Med*. 8(3):173-86.

11. Chalah, A. and R**.** Khosravi-Far. 2008**.** The mitochondrial death pathway**.** *Adv. Exp. Med. Biol*. 615:25-45.

12. Chandok, M.R., J.A. Ytterberg, K.J. van Wijk and D.F. Klessig. 2003. The pathogen-inducible nitric oxide synthase (iNOS) in plants is a variant of the P protein of the glycine decarboxylase complex. *Cell* 113: 469–482.

13. Chichkova, N.V., S.H. Kim, E.S. Titova, M. Kalkum, V.S. Morozov, , Y.P. Rubtsov, N.O. Kalinina, M. Taliansky and A. Vartapetyan. 2004. A plant caspase-like protease activated during the hypersensitive response. *Plant Cell***,** 16: 157-171.

14. Clem, R. J., J.M. Hardwick and L.K. Miller. 1996. Anti-apoptotic genes of baculoviruses. *Cell Death Differ*. 3: 9–16.

15. Curtis, M. J. and T.J. Wolpert. 2002. The oat mitochondrial permeability transition and its implication in victorin binding and induced cell death. *Plant J.* 29: 295–312.

16. Danon, A., V. Rotari, A. Gordon, N. Mailhac and P. Gallois. 2004. UV-C overexposure induces a programmed cell death in *Arabidopsis*, which is mediated by caspase-like activities and can be suppressed by caspase inhibitors, *p35* and *Defender against Apoptotic Death*. *J. Biol. Chem*. 279: 779–787.

17. Dat, J.F., R. Pellinen, T. Beeckman, B. Van De Cotte, C. Langebartels, J.K.D. Inzé and F.V. Breusegem. 2003. Changes in hydrogen peroxide homeostasis trigger an active cell death process in tobacco. *Plant J*. 33: 621–632.

18. De Felici, M. and M. Pesce. 1994. Growth factors in mouse primordial germ cell migration and proliferation. *Prog. Growth Factor Res*. 5: 135-143.

19. Del Pozo, O. and E. Lam, 2003. Expression of the baculovirus p35 protein in tobacco affects cell death progression and compromises *N* gene-mediated disease resistance response to tobacco mosaic virus. *Mol. Plant Microbe Interact*. 16: 485–494.

20. Delledonne, M., J. Zeier, A. Marocco and C. Lamb. 2001. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA 98: 13454–13459.

21. Diamond, M. and P.F. McCabe. 2007. The mitochondria and plant programmed cell death. In D.C. Logan(edr). Plant Mitochondria, Blackwell Pub. Ltd., Scotland, UK, PP.342.

22. Dickman, M.B., Y.K. Park, T. Oltersdorf, W. Li, T. Clemente, and R. French. 2001. Abrogation of disease development in plants expressing animal antiapoptotic genes. *Proc. Natl Acad. Sci*. USA, 98: 6957–6962.

23. Doelling, J.H., J.M. Walker, E.M. Friedman, A.R. Thompson and R.D. Vierstra. 2002. The APG8/12-activating enzyme APG7 is required for proper nutrient recycling and senescence in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem*. 277: 33105–33114.

24. Dogra, P.D. 1967. Seed sterility and disturbances in embryogeny in conifers with particular reference to seed testing and tree breeding in Pinaceae. *Stud. For. Suec*., 45: 1-96.

25. Donehower, L.A. and A. Bradley. Antiapoptotic p35 protein can suppress cell death progression. 1993. *Biophys. Acta* 1155: 181

26. Drew, M. C., C.J. He, and P.W. Morgan. 2000. Programmed Cell Death in Animals and Plants. (eds Bryant, J. A., Hughes, S. G., Garland, J. M.), *BIOS Scientific Publishers Ltd, Oxford*. UK, p.183–192.

27. Durner, J., D. Wendehenne, and D.F. Klessig. 1998. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic

ADP-ribose. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA, 95: 10328–10333.

28. Elsahookie, M.M. 2007. Genetic control of flowering mechanism. The Iraqi J. Agric. Sci. 38:1-11.

29. Elsahookie, M.M. 2007. Dimension of SCC theory in a maize hybrid-inbred comparison. The Iraqi J. Agric. Sci. 38(1) 128-137.

30. Elsahookie, M.M. and A.O. Alfalahi. 2008. Polyploidy and its relationship with plant breeding and adaptation. The Iraqi J. Agric. Sci. 39(6):49-71.

31. Elsahookie, M.M. and A.O. Alfalahi. 2008. TILLING: Modern technique combines traditional mutagenesis and functional genomics. The Iraqi J. Agric. Sci. 40(1):1-25.

32. Elsahookie, M.M. 2007. An Introduction to Molecular Biology. College of Agriculture, University of Baghdad, Baghdad, Iraq. pp.190.

33. Epple, P., A.A. Mack, V.R. Morris and J.L. Dangl. 2003. Antagonistic control of oxidative stress-induced cell death in *Arabidopsis* by two related, plant-specific zinc finger proteins. *Proc. Natl Acad. Sci*. USA, 100: 683–6836.

34. Fath, A., P. Bethke, V. Beligni, and R. Jones. 2002. Active oxygen and cell death in cereal aleurone cells. *J. Exp. Bot.* 53: 1273–1282.

35. Fesus, L., J.A. Davies, M. Piacentini. 1991. ***Apoptosis: molecular mechanisms in programmed cell death.*** *Eur. J. Cell Biol*. 56: 170-177.

36. Filonova, L.H., P.V. Bozhkov and S. Von Arnold. 2000. Developmental pathway of somatic embryogenesis in *Picea abies* as revealed by time-lapse tracking. *J. Exp. Bot*. 51: 249–264.

37. Filonova, L.H., P.V. Bozhkov and S. Von Arnold. 2001.Two waves of programmed cell death occur during formation and development of somatic embryos in the gymnosperm, Norway spruce. *J. Cell Sci*. 113: 4399–4411.

38. Filonova, L.H., S. von Arnold, G. Daniel, and P.V. Bozhkov, 2002. Programmed cell death eliminates all but one embryo in a polyembryonic plant seed. *Cell Death Differ*. 9: 1057–1062.

39. Fontaine, R.H., O. Cases, V. Lelièvre, B. Mesplès, J.C. Renauld, G. Loron, V. Degos, P. Dournaud, O. Baud and P. Gressens. 2008. IL-9/IL-9 receptor signaling selectively protects cortical neurons against developmental apoptosis. *Cell Death Differ*.,15(10):1542-1552.

40. Fukuda, H. 2000. Programmed cell death of tracheary elements as a paradigm in plants. *Plant Mol. Biol*. 44: 245–253.

41. Gilbert, S.F. 2001. Developmental Biology. (6th ed). Sunderland, MA: *Sinauer Associates*. Portuguese

42. Gilroy, E.M., I. Hein, R., van der Hoorn, P.C. Boevink, E. Venter, H. McLellan, F. Kaffarnik, L. Pritchard, K. Hrubikova, J. Shaw, M. Holeva, G.J. Loake, C. Lacomme, P.R. Birch. 2007. Involvement of cathepsin B in the plant disease resistance hypersensitive response. *Plant Journal*.52: 1-13.

43. Greenberg, J.T. 1996. Programmed cell death: A way of life for plants. *Proc. Natl. Acad. Sci*. USA, 93**:** 12094–12097.

44. Greenberg, J.T., F.P. Silverman and H. Liang. 2000. Uncoupling salicylic acid-dependent cell death and defense-related responses from disease resistance in the Arabidopsis mutant *acd5*. *Genetics*, 156: 341–350.

45. Groover, A., N. DeWitt, A. Heidel, and A.M. Jones. 1997. Programmed cell death of plant tracheary elements differentiating *in vitro*. *Protoplasma*. 196:197–211.

46. Groover, A. and A.M. Jones. 1999. Tracheary element differentiation uses a novel mechanism coordinating programmed cell death and secondary cell wall synthesis. *Plant Physiol*. 119: 375–384.

47. Guo, F.Q., M. Okamoto and N.M. Crawford. 2003. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science* 302: 100–103.

48. Hanaoka, H., T. Noda, Y. Shirano, T. Kato, H. Hayashi, D. Shibata, S. Tabata and Y. Ohsumi. 2002. Leaf senescence and starvation-induced chlorosis are accelerated by the disruption of an *Arabidopsis* autophagy gene. *Plant Physiol*. 129: 1181–1193.

49. Hengartner, M.O., R.E. Ellis and H.R. Horvitz. 1992. Caenorhabditis elegans gene ced-9 protects cells from programmed cell death. *Nature* 356: 494-499.

50. Hoeberichts, F.A., A.T. Have and E.J. Woltering. 2003. A tomato metacaspase gene is upregulated during programmed cell death in *Botrytis cinerea*-infected leaves. *Planta*, 217: 517–522.

51. Hoisington, D., M.G. Neuffer and V. Walbot. 1982. Disease lesion mimics in maize. *Dev*. *Biol*. 93: 381–388.

52. Hu, G., N. Yalpani, S.P. Briggs and G.S. Johal. 1998. A porphyrin pathway impairment is responsible for the phenotype of a dominant disease lesion mimic mutant of maize. *Plant Cell* 10: 1095–1105.

53. Irani, K. and P.J. Goldschmidt-Clermont. 1998. Ras, superoxide and signal transduction. Biochem. *Pharmacol*. 55: 1339–1346.

54. Itoh, N. and S. Nagata. 1993. A novel protein domain required for apoptosis. Mutational analysis of human Fas antigen. *J. Biol*. *Chem*. 268: 10932-10937.

55. Jabs, T., R.A. Dietrich and J.L. Dangl. 1996. Initiation of runaway cell death in an Arabidopsis mutant by extracellular supreoxide. *Science*, 273: 1853–1856.

56. Jacobson, M.D., M. Weil and M.C. Raff. 1997. Programmed cell death in animal development. *Cell*, 88: 347–354.

57. Jones, A. M. 2001. Programmed cell death in development and defense. *Plant Physiol*. 125: 94–97.

58. Kachroo, A., Z. He, R. Patkar, Q. Zhu, J. Zhong, D. Li, P. Ronald, C. Lamb and B.B. Chattoo. 2003. Induction of H_2O_2 in transgenic rice leads to cell death and enhanced resistance to both bacterial and fungal pathogens. *Transgenic Res*. 12: 577–586.

59. Kato, N., D. Pontier and E. Lam. 2002. Spectral profiling for the simultaneous observation of four distinct fluorescent proteins and detection of protein-protein interaction via fluorescence resonance energy transfer in tobacco leaf nuclei. *Plant Physiol*. 129: 931–942.

60. Kerr, J.F., A.H. Wyllie and A.R. Currie. 1972. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer*. 26**:** 239–257.

61. Kim, M.C., S.H. Lee, J.K. Kim, H.J. Chun, M.S. Choi, W.S. Chung, B.C. Moon, C.H. Kang, C.Y. Park, J.H. Yoo, Y.H. Kang, S.C. Koo, Y.D. Koo, J.C. Jung, S.T. Kim, P.S. Lefert, S.Y. Lee and M.J. Cho. 2002. Mlo, a modulator of plant defense and cell death, is a novel calmodulin-binding protein. *J. Biol*. *Chem*. 277: 19304–19314.

62. Kladnik, A., K. Chamusco, M. Dermastia and P. Chourey. 2004. Evidence of Programmed Cell Death in Post-Phloem Transport Cells of the Maternal Pedicel Tissue in Developing Caryopsis of Maize. *Plant Physiology* , pp.104

63. Kroemer, G., and S.J. Martin. 2005. Caspase-independent cell death. *Nat. Med.* 11(7):725-30.

64. Krutovskii, K.V. and D.V. Politov. 1995. Allozyme evidence for polyzygotic polyembryony in Siberian stone pine *Pinus sibirica*. *Theor*. *Appl*. *Genet*., 90: 811-818.

65. Korsmeyer, S.J., J.R. Shutter, D.J. Veis, D.E. Merry and Z.N. Oltvai. 1993. Bcl-2/Bax: a rheostat that regulates an anti-oxidant pathway and cell death. *Sem*. *Cancer Biol*. 4: 327-332.

66. Lane, D.P. 1992. p53, guardian of the genome. *Nature*, 358: 15-16.

67. Lam, E. and O. Del Pozo. 2000. Caspase-like proteases involvement in the control of plant cell death. *Plant Mol*. *Biol*. 44: 417–428.

68. Lam, E., N. Kato, and M. Lawton. 2001. Programmed cell death, mitochondria and the plant hypersensitive response. *Nature*, 411: 848–853.

69. Leon, J., M.A. Lawton and I. Raskin. 1995. Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol*. 108: 1673–1678.

70. Levine, A., R.I. Pennell, M.E. Alvarez, R. Palmer, and C. Lamb. 1996. Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response. *Curr*. *Biol*. 6: 427–437.

71. Levings, C.S. 1993. Thoughts on cytoplasmic male sterility in cms-T maize. *The Plant Cell*. 5:1285-1290.

72. Li, L.Y., X. Luo, and X. Wang. 2001. Endonuclease G is an apoptotic DNase when released from mitochondria. *Nature*, 412: 95–99.

73. Lincoln, J.E., C. Richael, B. Overduin, K. Smith, R. Bostock and D.G. Gilchrist. 2002. Expression of the antiapoptotic baculovirus p35 gene in tomato blocks programmed cell death and provides broad-spectrum resistance to disease. *Proc. Natl Acad. Sci.* USA. 99: 15217–15221.

74. Liu, X., C.N. Kim, J. Yang, R. Jemmerson and X. Wang. 1996. Induction of apoptotic program in cell-free extracts: requirement for dATP and cytochrome c. *Cell* 86, 147–157.

75. Logan, D.C. 2007. Plant Mitochondria. *Blackwell Publ*., UK.,pp.342.

76. Lorrain, S., F. Vailleau, C. Balague, and D. Roby. 2003. Lesion mimic mutants: keys for deciphering cell death and defense pathways in plants? *Trends Plant Sci*. 8: 263–271.

77. Lowe, S.W., E.M. Schmitt, ***S.W.*** Smith, B.A. Osborne, and T. Jacks. ***1993***. p53 is required for radiation-induced apoptosis in mouse thymocytes. **Nature** 362: 847-849**.**

78. Madeo, F., E. Herker, and C. Maldener. 2002. A caspase-related protease regulates apoptosis in yeast. *Mol. Cell*, 9: 911–917.

79. Martin, S.J., and Green, D.R. 1995. Protease activation during apoptosis: death by a thousand cuts? *Cell* 82: 349-352.

80. McCabe, P.F., A. Levine, P.J. Meijer, N.A. Tapon, and M. Pennell. 1997. R. I. A programmed cell death pathway activated in carrot cells at low density. *Plant J*. 12: 267–280.

81. Meier, P., A. Finch and G. Evan**.** 2000**.** Apoptosis in development. *Nature*: 407:796-801.

82. Melet, A., K. Song, O. Bucur, Z. Jagani, A.R. Grassian and R**.** Khosravi-Far. 2008**.** Apoptotic pathways in tumor progression and therapy. *Adv. Exp. Med. Biol*. 615:47-79.

83. Mittler, R. and E. Lam. 1996. Sacrifice in the face of foes: pathogen-induce programmed cell death in plants. *Trends Microbiol*. 4: 10–15.

84. Mittler, R., L. Simon, and E. Lam. 1997. Pathogen-induced programmed cell death in tobacco. *J. Cell Sci*. 110: 1333–1344.

85. Miura, M., H. Zhu, R. Rottelo, E.A. Hartwieg and J. Yuan. ***1993***. Induction of apoptosis in fibroblasts by IL-1 beta-converting enzyme, a mammalian homolog of the C. elegans cell death gene ced-3. *Cell* 75: 653-660.

86. Nagata, S., and Golstein, P. 1995. The fas death factor. *Science* 267: 1449-1455.

87. Obara, K., H. Kuriyama and H. Fukuda. 2001. Direct evidence of active and rapid nuclear degradation triggered by vacuole rupture during programmed cell death in *Zinnia*. *Plant Physiol*. 125: 615–626.

88. Oberhammer, F., J.W. Wilson, C. Dive, I.D. Morris, J.A. Hickman, A.E. Wakeling, P.R. Walker, M. Sikorska. 1993. Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DNA to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation.1993. *EMBO J.* 12: 371-377.

89. Ohsawa, S. and M**.** Miura 2008**.** Programmed cell death in the nervous system. *Brain*. *Nerve*. 60(4):343-50.

90. Oltvai, Z.N., C.L. Milliman, S.J. Korsmeyer. ***1993***. Bcl-2 heterodimerizes in vivo with a conserved homolog, Bax, that accelerates programmed cell death. *Cell* 74: 609-619.

91. Ono, E., H-L. Wong, T. Kawasaki, M. Hasegawa, O. Kodama and K. Shimamoto. 2001. Essential role of the small GTPase Rac in disease resistance of rice. *Proc. Natl Acad. Sci*. USA 98: 759–764.

92. Orzaez, D and A. Granell. 1997. DNA fragmentation is regulated by ethylene during carpel senescence in *Pisum sativum*. *Plant J.* 11: 137–144.

93. Pearse, M.J., M. O'Bryan, N. Fisicaro, L. Rogers, B. Murphy and A. J. d'Apice.1992. Differential expression of clusterin in inducible models of apoptosis. **Int Immunol**. 4: 1225-1231.

94. Piffanelli, P.F. Zhou, C. Casais, J. Orme, B. Jarosch, U. Schaffrath, N.C. Collins, R. Panstruga and P. Schulze-Lefert. 2002. The barley MLO modulator of defense and cell

death is responsive to biotic and abiotic stress stimuli. *Plant Physiol*. 129: 1076–1085.

95. Raff, M.C. 1992. Social controls on cell survival and cell death. *Nature* 356, 397–4 0 0 .

96. Raffo, A.J., H. Perlman, M. W. Chen, M. L. Day, J. S. Streitman and R. Buttyan. 1995. Overexpression of bcl-2 protects prostate cancer cells from apoptosis in vitro and confers resistance to androgen depletion in vivo. *Cancer Res* 55: 4438-4445

97. Rao, M. V. and K.R. Davis. 2001. The physiology of ozone induced cell death. *Planta* 213: 682–690.

98. Reavy, B., S. Bagirova, N.V. Chichkova, S.V. Fedoseeva, S.H., Kim, A.B. Vartapetian and M.E. Taliansky. 2007. Caspase-resistant VirD2 protein provides enhanced gene delivery and expression in plants. *Plant Cell Reports*, 26: 1215-1219.

99. Reed, J.C. 1994. Bcl-2 and the regulation of programmed cell death. *J. Cell Biol*. 124: 1-6.

100. Rogers, H. 2005. Cell death and organ development in plants. *Curr*. *Top*. *Dev*. *Biol*.71:225-61

101. Rojo, E., S.C. Gillmor, V. Kovaleva, C.R. Somerville and N.V. Raikhel. 2001. *VACUOLELESS1* is an essential gene required for vacuole formation and morphogenesis in *Arabidopsis*. *Dev*. *Cell*, 1: 303–310.

102. Rosenkranz, V., and M**.** Wink. 2008**.** Alkaloids induce programmed cell death in bloodstream forms of trypanosomes (*Trypanosoma b. brucei*). *Molecules*.13 (10):2462-73.

103. Saunders, J.W. 1966. Death in Embryonic Systems. *Science* 154: 604-612.

104. Saunders, J.W. 1982. Developmental Biology: Patterns, Problems, and Principles. *New York*: *Macmillan*, USA. pp. 559.

105. Schultheiss, H., C. Dechert, K.H. Kogel and R. Huckelhoven. 2002. A small GTP-binding host protein is required for entry of powdery mildew fungus into epidermal cells of barley. *Plant Physiol*. 128: 1447–1454.

106. Seo, S., M. Okamoto, T. Iwai, M. Iwano, K. Fukui, A. Isogai, N. Nakajima and Y. Ohashi. 2000. A Reduced levels of chloroplast FtsH protein in tobacco mosaic virus-infected tobacco leave accelerate the hypersensitive response. *Plant Cell*, 12: 917–932.

107. Singh, H. 1978. Embryology of Gymnosperms, *Berlin*: *Borntrager*. Germany. pp.412

108. Skalamera, D. and M.C. Heath. 1998. Changes in the cytoskeleton accompanying infection-induced nuclear movements and the hypersensitive response in plant cells invaded by rust fungi. *Plant J.* 16: 191–200.

109. Smertenko, A.P., P.V. Bozhkov, L.H. Filonova, and P.J. Hussey. 2003. Re-organisation of the cytoskeleton during developmental programmed cell death in *Picea abies* embryos. *Plant J*. 33, 813–824.

110. Solomon, M., B. Belenghi, M. Delledonne, E. Menachem and A. Levine. 1999. The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of programmed cell death in plants. *Plant Cell*, 11: 431–444.

111. Steller, H. 1995. Mechanisms and genes of cellular suicide. *Science* 267: 1445-1449.

112. Susin, S.A., H.K. Lorenzo and N. Zamzami. 1999. Molecular characterization of mitochondrial apoptosis-inducing factor. *Nature* 397: 441–446.

113. Szallies, A., B.K. Kubata and M. Duszenko. 2002. A metacaspase of *Trypanosoma brucei* causes loss of respiration competence and clonal death in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *FEBS Lett*. 517: 144–150.

114. Takemoto, D., D.A. Jones, and A.R. Hardham. 2003. GFP-tagging of cell components reveals the dynamics of subcellular re-organization in response to infection of *Arabidopsis* by oomycete pathogens. *Plant J*. 33: 775–792.

115. Thompson, C.B. 1995. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science* 267: 1456-1462**.**

116. Tiwari, B.S., B. Belenghi, and A. Levine. 2002. Oxidative stress increased respiration of reactive oxygen species, resulting in ATP depletion, opening of mitochondrial permeability transition, and programmed cell death. *Plant Physiol*. 128: 1271–1281.

117. Torres, M.A., J.L. Dangl and J.D. Jones. 2002. Arabidopsis *gp91^{phox}* homologues *AtrbohD* and *AtrbohF* are required for accumulation of reactive oxygen intermediates in the plant defense response. Proc. *Natl*. *Acad*. *Sci*. USA, 99: 517–522.

118. Wang, H., J. Li, R.M. Bostock, and D.G. Gilchrist. 1996. Apoptosis: a functional paradigm for programmed plant cell death induced by a host-selective phytotoxin and invoked during development. *Plant Cell* 8: 375–391.

119. Wang, M., S. Hoekstra, S. Bergen, G.E. Lamers, B.J. Oppedijk, M.W. Heijden, W. Priester and R.B. Schilperoort. 1999. Apoptosis in developing anthers and the role of ABA in this process during androgenesis in *Hordeum vulgare L*. *Plant Mol*. *Biol*. 39: 489–501.

120. Wang, R., X. Zhou and X. Wang. 2003. Chemically regulated expression systems and their applications in transgenic plants. *Transgenic Res*. 12: 529–540.

121. White, K., M.E. Grether, J.M. Abrams, L. Young, K. Farrell and H. Steller 1994. Genetic control of programmed cell death in Drosophila. *Science* 264:677-683.

122. Woffenden, B.J., T.B. Freeman and E.P. Beers. 1998. Proteasome inhibitors prevent tracheary element differentiation in Zinnia mesophyll cell cultures. *Plant Physiol*. 118: 419–430.

123. Wyllie, A.H. 1980. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 284: 555-556.

124. Wyllie, A.H. J.F. Kerr, A.R. Currie. ***1980***. Cell death: the significance of apoptosis. *Int*. *Rev*. *Cytol*. 68: 251-306.

125. Yamamoto, R., S. Fujioka, T. Demura, S. Takatsuto, S. Yoshida, and H. Fukuda. 2001. Brassinosteroid levels increase drastically prior to morphogenesis of tracheary elements. *Plant Physiol*. 125: 556–563.

126. Yoda, H., Y. Yamaguchi and H. Sano. 2003. Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. *Plant Physiol*. 132: 1973–1981.

127. Young, T. E. and D.R. Gallie. 2000. Regulation of programmed cell death in maize endosperm by abscisic acid. *Plant Mol*. *Biol*. 42: 397–414.

128. Yu, X.H., T.D. Perdue, Y.M. Heimer and A. M. Jones. 2002. Mitochondrial involvement in tracheary element programmed cell death. *Cell Death Differ*. 9: 189–198.

129. Yuan, J., S. Shaham, S. Ledoux, H.M. Ellis and H.R. Horvitz. 1993. The C. elegans cell death gene ced-3 encodes a protein similar to mammalian interleukin-1-ß-converting enzyme. *Cell* 75: 641-652

130. Zakeri, Z., W. Bursch, M. Tenniswwod, and R. Lockshin. ***1995***. Cell ***death***: programmed, apoptosis, necrosis or other? **Cell Death and Differentiation**, ***2***: ***87-96***Zhong, L.T., T. ***Sarafian***, D.J. Kane, A.C. Charles, S.P. Mah, R.H. Edwards and D.***E.*** Bredesen. ***1993***. The role of intracellular oxidants in apoptosis. *Proc*. *Natl*. *Acad*. *Sci*. USA 90: 4533-4537**.**