

# חקר מחלות תורשתיות נדירות: חובה אנושית ומפתח להבנה רפואית

מאת יוסף שילה



תפקיד מרכזי בתיאום הפעילות המוטורית העדינה של הגוף. תופעה נוספת המצוינת בשמה הארוך של המחלה היא התרחבות נימי דם בגלגל העין ולעתים בעור הפנים (טלנגייקטאסיה). אולם כל

אלה הם רק חלק מתמונה קלינית מורכבת, שכלולים בה גם חסר חיסוני, ולעתים - זיהומים תכופים של מערכת הנשימה. יש שנצפים פיגור בגדילה, הזדקנות מואצת וכן פגמים אנדוקריניים למיניהם. לכל אלה מצטרף סיכוי מוגבר לחלות במחלות ממאירות, בעיקר בלימפומה. תסמין חשוב נוסף התגלה כאשר חולי A-T שלקו במחלות ממאירות טופלו בהקרנות: לתדהמת הרופאים, נפגעו החולים קשות מן הטיפול עצמו! הסיבה לכך היא רגישותם הקיצונית לפגיעתה של קרינה מייננת. כאשר נבחנו הכרומוזומים של חולי A-T במיקרוסקופ, התברר כי גם ללא הקרנה מופיעים בהם שברים רבים, עדות לאי־יציבות גנומית, המתבטאת בשינויים מבניים פתולוגיים בחומר התורשתי, ה-DNA. בדומה למרבית המחלות התורשתיות, גם למחלה זו אין תרופה ולא ניתן לעצור את התקדמותה.

דפוס ההורשה של המחלה העיד על פגיעה בגן יחיד. מה עשוי להיות אפוא תפקידו של גן זה, שפגם בו גורם לשלל תסמינים המציינים פגיעה רב־מערכתית כה קשה? מהו החוט המקשר בין מערכת העצבים, מערכת החיסון ויציבות הגנום, אשר נפרם אצל חולי A-T?

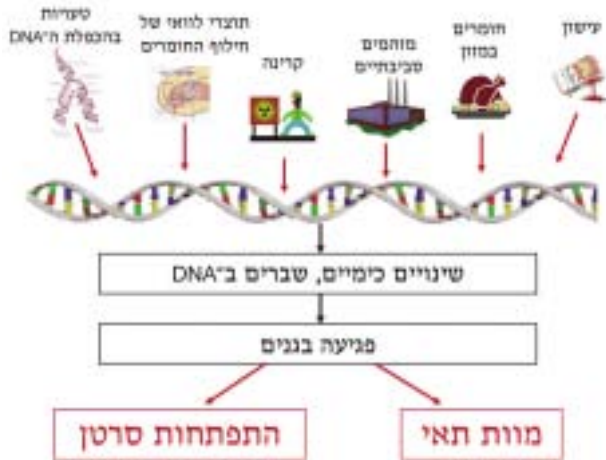
עצרנו בפתחו של אחד מבתי המושב. הורי המשפחה קיבלו את פנינו בחשדנות ואף הכחישו את קיומה של מחלה תורשתית במשפחתם, תופעה מוכרת ליועצים גנטיים. בחצר שיחקו מספר ילדים, שנראו בריאים. השיחה עם ההורים הובילה למבוי סתום, וביטחוננו במידע המוקדם שהביא אותנו לבית המשפחה החל להתערער. נפרדנו מההורים ועשינו את דרכנו החוצה, תוך שאנו חולפים על פני חדר

מכוניתנו היטלטלה בדרך העולה אל פתחו של מושב בחבל לכיש. חום יולי עטה על האזור, ומבעד לאובך ניסינו לאתר את ביתה של המשפחה שאותה באנו לבקר.

קיץ 1977. במכונית נהג פרופ' מימון כהן, באותה עת ראש המחלקה לתורשת האדם במרכז הרפואי של "הדסה" והאוניברסיטה העברית בירושלים, ולצדו אנוכי, סטודנט לאחר סיום לימודי התואר השני בהדרכתו, המחפש אחר נושא לעבודת דוקטור. במושב האחורי היו ספר גנטיקה רפואית, טופסי ריאיון מאלה המשמשים יועצים גנטיים לבניית "עץ משפחה" ומבחנות ומזרקים לנטילת דגימות דם, שבלעדיהם אין הגנטיקאי של האדם "יוצא לשטח". פתחתי את הספר בערך "אטקסייה-טלנגייקטאסיה" (ataxia-telangiectasia) ורפרפתי על פני השורות. המונח הקשה להגייה הוא שמה של מחלה תורשתית קשה ומסתורית, שהתגלתה בקבוצות אוכלוסייה רבות בעולם, ובארץ נמצאה בעיקר אצל יהודים יוצאי מרוקו. "קוראים לה בקצרה A-T", אמר מימון. "עד עתה התגלו בארץ שמונה משפחות שבהן מחלה זו. בוודאי יימצאו נוספות".

יום קודם לכן שמעתי לראשונה את השם הארוך, שמאחוריו, כבכל מחלה תורשתית, מסתתר סבל אנושי רב. "אם בכוונתך לתקוף שאלה חשובה, הרי לפניך שאלה ענקית", אמר מימון, הניח על שולחני את הספר ומספר מאמרים והזמין אותי להצטרף אליו בבוקר המחרת לנסיעה לחבל לכיש, לפגישה עם משפחה של חולי A-T.

התחלתי לקרוא: תינוקות חולי A-T נדמים כבריאים בשנת חייהם הראשונה, אולם כאשר הם עושים את צעדיהם הראשונים מתגלה ליקוי חמור ביכולתם לשמור על שיווי משקל (אטקסייה). הליקוי הולך ומחריף והופך לבסוף לתסמונת עצבית חמורה. החולה מתקשה לשלוט בתנועותיו, ולקראת סיום העשור הראשון לחייו הוא נזקק לכיסא גלגלים ולסיוע צמוד בפעולות החיים היום־יומיות. תסמין עיקרי זה של המחלה נובע מניוון מתקדם של חלק ממערכת העצבים, בעיקר של המוחון (צרבלום), הממלא



תמונה 1. גורמים פנימיים וסביבתיים של נזקי DNA ותוצאות נזקים אלה, אם אינם באים על תיקונם.

לתקנו. ליקוי במנגנוני התגובה לנזק מביא לאי־יציבות גנומית ולנטיית יתר לסרטן. האם כזהו הפגם ב־A-T? חשדנו הופנה כלפי אחד מנזקי ה־DNA החמורים ביותר – השבר הדו־גדילי. זהו שבר החל בשני גדילי הסליל הכפול ולפיכך הוא קוטע את רצף ה־DNA ואינו מאפשר את הכפלתו. הוא נגרם מקרינה מייננת, שחולי A-T כה רגישים לה, וגם מכימיקלים מסוימים. אפיון תגובתם של תאי A-T לשורה ארוכה של גורמי נזקים הביא אותנו למסקנה כי נזק ה־DNA שאתו מתקשים חולי A-T להתמודד הוא אכן השבר הדו־גדילי. זו הייתה הכרה חשובה, אולם לא היה בה כדי לספק הבנה מלאה של הבסיס למחלה. מהו מנגנון ההתמודדות עם השבר ב־DNA, הפגום אצל חולי A-T? מחלות תורשתיות נגרמות מפגמים (מוטציות) ברצף של גנים. מרבית הגנים קובעים את מבנה חלבוני התא ואת קצב ייצורם. החלבונים הם "גלגלי השיניים" של חיי התא: הם בונים את התא ואחראים לראקציות הכימיות החלות בו, היוצרות יחד את הרשת הענפה של חילוף החומרים. פעולתם של גנים ספציפיים מגדירה את סוג התא, התאים לסוגיהם יוצרים את הרקמות, ואלה מרכיבות את גופו של האורגניזם. כאשר נפגם רצף של גן, נפגעים קצב ייצורו או מבנהו של החלבון הנקבע על ידו, ולעתים מושבת ייצור החלבון או משותקת פעילותו. כמובן, התהליך שבו מעורב החלבון נפגם והאורגניזם לוקה במחלה תורשתית, שאופייה וחומרתה תלויים במהות התהליך שנפגע. היה ברור אפוא שזיהויים של הגן הפגום אצל חולי A-T והחלבון שהוא ממונה עליו יפרצו את הדרך להבנת המנגנון התאי הלקוי במחלה.

שבו היו ילד וילדה נוספים. עצרנו. הילד והילדה נראו שונים משאר הילדים. הם לא שיחקו. למעשה, הם כמעט לא נעו, וארשת פניהם הייתה קפואה. התקרבו אליהם. חיוך הפשיר את ארשת פניהם, והם ניסו לקום לקראתנו. חוסר שיווי המשקל, שטלטל את גופם בעת המאמץ לעמוד על רגליהם, והעיניים שנשקף מהן הגוון האדום של נימי הדם המורחבים הפכו את הטקסט היבש למציאות: אטקסייה־טלנגייטאסיה! באותו יום הייתה A-T לנושא עבודת הדוקטור שלי, והיא נושא מחקרי עד היום.

### בקרת נזקים

עבודת הדוקטור היא שלב מכוון בהתפתחותו של חוקר. עבודתי בוצעה במעבדתו של פרופ' יחיאל בקר במחלקה לוירולוגיה מולקולרית בבית הספר לרפואה של האוניברסיטה העברית בירושלים ו"הדסה". זו הייתה סביבת מחקר מושלמת לדוקטורנט: מעודדת חשיבה ויצירה, מספקת את כל הדרוש כדי לבקש תשובה לשאלת מחקר, תומכת בעת התמודדות עם קשיים ומאוכלסת בתלמידי מחקר מעולים.

שני כוחות עיקריים מניעים מחקר של מחלה: הסקרנות המדעית והשאיפה למצוא למחלה מזור. השתיים שלובות זו בזו: הבנת התהליכים הפגומים במחלה אמורה להוביל לפיתוח תרופות שיתקנו את הפגם או יצפו על החסר הנגרם ממנו, למשל בהגברת תהליך חלופי.

המסע הארוך להבנת הבסיס המולקולרי של A-T החל, כדרכם של מסעות, בצעד אחד: בחינת תגובתם של תאים מגופם של חולי A-T, הגדלים בתרבית רקמה, לקרינה מייננת ולחומרים הגורמים נזקים במולקולת ה־DNA. צעד זה ננקט משום שמשלל תסמיני המחלה בלטו לעין אי־יציבות הגנומית והרגישות הקיצונית לקרינה מייננת. האם ייתכן כי ביסוד המחלה המורכבת עומדת תגובה לקויה לנזקים מסוימים ב־DNA? אם כן, מהם אותם נזקים? וכיצד עשוי פגם בתגובה לנזקי DNA לגרום לכל מופעיה הרבים של המחלה?

מולקולת ה־DNA, שבה גלום המידע הגנטי המגדיר אותנו, מועדת ביותר לפגיעתם הרעה של גורמים פיזיקליים וכימיים המשבשים את המבנה והרצף שלה: קרינות למיניהן ושורה ארוכה של כימיקלים, המצויים בסביבתנו ובמזוננו ואף נוצרים בגופנו במהלך חילוף החומרים הנורמלי (תמונה 1). נזקים ל־DNA עלולים לשבש את מהלך חיי התא ולהביא למותו או להפיכתו לתא סרטני. אולם בתאי הגוף קיימים מנגנונים מתוחכמים, החשים בנזק וממהרים

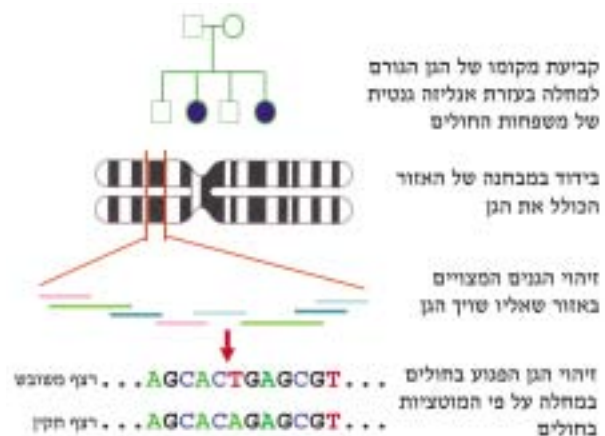
תחזית ברורה של היקפה המלא של העבודה ומועד סיומה, תוך כדי תחרות עם קבוצות מחקר אחרות, בהן קבוצות חזקות ומבוססות. פרויקטים אלה נשאו לעתים אופי של מירוץ, שבסופו מן הסתם היו עתידים להיות זוכה אחד ומפסידים רבים. אולם ברור היה כי השלב הבא בחקר A-T יהיה שיבוט איתורי של גן המחלה, וזו תהיה הדרך היחידה לקדם את הבנתה. ראוי לציין כי הפקולטה לרפואה ע"ש סאקלר באוניברסיטת תל-אביב, שבה נקלטתי עם שובי לארץ, העניקה למעבדתנו תשתית שאפשרה מחקר מסוג זה בתנאי הארץ.

כאמור, חלקה הראשון של גישת השיבוט האיתורי מבוסס על אנליזה גנטית של משפחות החולים. באותה עת כבר היו ידועות בארץ כמה עשרות משפחות A-T, בהן מלבד המשפחות היהודיות ממרוקו גם משפחות ערביות, דרוזיות ובדוויות. חלק זה של המחקר היה מותנה בשיתוף פעולה ובסיוע של המשפחות. זכינו לשיתוף פעולה מבורך של כל משפחות החולים, ועם חלק מהן מתקיים הקשר עד עתה. נתונים שפרסמה קבוצת מחקר אמריקאית בשנת 1988 הורו שמקום אפשרי של גן המחלה הוא זרועו הארוכה של כרומוזום מס' 11 של האדם. אנליזה של המשפחות הישראליות ותוצאות ממעבדות אירופיות אישרו אפשרות זו, ובכך נפתח רשמית המירוץ אל הגן. קבוצת המחקר שלנו התגייסה כולה לעניין, והוא היה למשימתה היחידה של המעבדה בשמונה השנים הבאות. פירוש הדבר היה עבודת צוות משולבת ומורכבת, שדרשה מחויבות יוצאת דופן מצד כל חברי הקבוצה. הם הבינו את חשיבות המשימה וקיבלו אותה עליהם בלב שלם, ובמידה מסוימת אף ויתרו על שאיפות אישיות לשם כך.

כדי לבצע את השלב הבא במחקר – צמצום גודלו של האזור שבו חבוי הגן וזיהוי הגנים הכלולים בו – היה עלינו לתרום לפיתוחן של שיטות חדשות ויעילות למיפוי גנום האדם. נדרשנו לבודד אזור נרחב בגנום, לזהות בו סמנים מולקולריים ולבודד את הגנים המצויים בו. כיום אפשר לקבל את המידע הזה בלחיצת מקש, אולם באותה עת היה על החוקרים לספק אותו לעצמם בעצמם. החוקרים בתחום הזה כונו אז "ציידים גנים" (gene hunters). שיטות מיוחדות פותחו לזיהויים של גנים בתוך אוקיינוס הרצף של גנום האדם, שרק חלק זעיר ממנו כולל גנים של ממש, ורובו – רצפים בלתי מקודדים המעורבים בארגון הגנום ובבקרת פעילותו. הגנום האנושי נמשל אז לאנציקלופדיה מרובת כרכים, ש"ציידים הגנים" תועים בין דפיה בחיפוש אחר טעות דפוס יחידה...

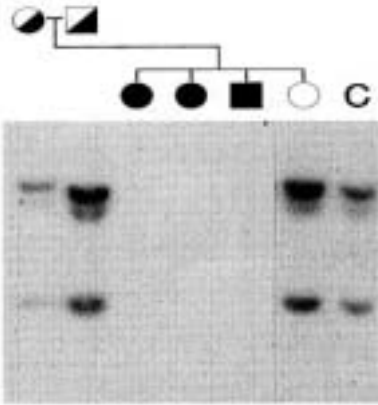
## מרחף

זיהוי של גן נעלם, שכל המידע עליו מצטמצם למעורבותו במחלה תורשתית, לא היה אפשרי עד לשנות השמונים המוקדמות. מהפכת ההנדסה הגנטית, אשר אפשרה לראשונה שיבוט גנים (בידודם והכפלתם במבחנה), ובצדה פיתוח שיטות למיפוי גנום האדם, הניבו באותה תקופה אסטרטגיה נועזת, אך מבטיחה, להשגת המטרה הזאת. היא כונתה "שיבוט איתורי" (positional cloning). שלביה העיקריים הם: (1) קביעת האזור הספציפי בגנום שבו נמצא הגן הלקוי בעזרת אנליזה גנטית של משפחות החולים; (2) זיהוי כל הגנים המצויים באזור זה – כל אחד מהם הוא בחזקת "חשוד"; (3) בדיקה פרטנית של כל אחד ואחד מהגנים שזוהו באזור והשוואת הרצף שלו אצל החולים במחלה אל הרצף אצל בני אדם בריאים (תמונה 2). כמובן, יש לצפות שאצל חולים, ואצלם בלבד, יתגלו באחד הגנים הנבדקים מוטציות הפוגעות בתפקודו, והן יסגירו את זהותו כגן הפגום הגורם למחלה.



תמונה 2. שלביה העיקריים של שיטת השיבוט האיתורי לזיהוי גנים של מחלות תורשתיות.

שיטה זו נחלה הצלחה, ומרבית הגנים הפגומים במחלות תורשתיות שזוהו מאז אכן התגלו בעזרתה. עם זאת, בשנים הראשונות ליישומה היא הייתה אטית למדי ודרשה משאבים רבים. כיום, משפוענח הרצף המלא של גנום האדם, השיבוט האיתורי פשוט הרבה יותר. אבל אז הנתונים על מבנה וארגון גנום האדם היו דלים ביותר, והטכנולוגיה רבת העצמה, שעליה התבסס אחר כך פרויקט גנום האדם, עדיין הייתה בחיתוליה. ניסיון לשיבוט איתורי היה כרוך אפוא במידה רבה של הימור: השקעת שנות עבודה רבות בלא



**תמונה 3.** הממצא שהביא לזיהוי הגן האחראי למחלה A-T. מבנה הגן נבחן ב-DNA של בני משפחה שבה מספר חולי A-T. שושלת חלקית של המשפחה מוצגת בחלקה העליון של התמונה: הורים, שלושה צאצאים חולים וצאצא בריא. הפסים מתחת לכל בן משפחה מייצגים את מבנהו של חלק מהגן. מבנה תקין נצפה אצל אדם בריא, ששימש לביקורת (C), אצל הצאצא הבריא ואצל ההורים, שלהם עותק אחד תקין של הגן (המספק את התמונה התקינה) ועותק אחד פגום. אצל שלושת הצאצאים החולים שני עותקי הגן פגומים: הפסים אינם נצפים כלל, עדות לחסר של חלק זה של הגן ב-DNA של חולים אלה.

לטפס במעלה התלול של עקומת הלמידה. רצף הגן אפשר את יצירת הכלים לזיהוי של החלבון, לבידודו ולבחינת פעילותו. לעינינו אכן התגלה חלבון גדול ממדים, שמקומו בגרעין התא. גודלו הציב בפנינו קשיים טכניים לא מועטים, אולם שלוש שנים לאחר זיהוי הגן היה בידוד המפתח להבנת פעילותו הביוכימית.<sup>3</sup>

התברר ש-ATM הוא אנזים (זרז של נְאִקְצִיּוֹת כימיות) המשתייך לקבוצה נכבדה וגדולה של אנזימים המכונים "קינאזות של חלבונים" (protein kinases), אשר פועלים על חלבונים אחרים. אנזימים אלה מְזַרְחָנִים את חלבוני המטרה שלהם: הם מחברים אליהם זרחה (פוספט). לכאורה זהו שינוי כימי פשוט הנבלע בתוך המבנה הגדול של חלבון המטרה, אולם לזרחונו של חלבון עשויה להיות השפעה דרמטית על תפקודו. שינוי כימי זעיר זה עשוי להאט את פעילותו או לזרזה דווקא, להחיש את פירוקו או לייצבו, ואפילו לגרום לו לנדוד ולשנות את מקומו בתא. זרחון הוא אחת הדרכים העיקריות להעברת מסרים בין חלבונים, והוא ראקצייה חשובה בנתיבי האיתות הרבים השולטים בחיי התא.

עקב בצד אגודל התקדמנו, תוך צמצום אזור החיפוש ונבירה בתוכו כדי לדלות גנים חדשים. חברי צוות שביקרו במעבדות בחו"ל הביאו משם שיטות מחקר חדשות, ואף אני יצאתי לשבתון במעבדתו של פרופ' פרנסיס קולינס (Francis S. Collins), מחלוצי התחום, כדי ללמוד שיטות חדשות ל"ציד גנים".

בחורף 1995, השנה השמינית לפרויקט, ריחפו באוויר שמועות עקשניות שקבוצה אחרת זיהתה את גן המחלה, אך אנו בשלנו: בוחנים גן חדש שעלה בחכתנו. גן זה הצטיין בגודלו, ונראה היה שהחלבון שהוא מקדד גדול במיוחד. בחנו את מבנהו של הגן אצל החולים שלנו. תוצאותיו של ניסוי כזה מתקבלות בצורת פסים הנרשמים על גבי פילם שכמוהו מצוי בשימוש מכוני הרנטגן. הנחנו על שולחן האור את הפילם שעליו נרשמו אותות הניסוי, הבטנו בקווים ונדרכנו: אצל כל החולים מאחת המשפחות הישראליות חסרו קווים המשקפים חלק ממבנה הגן (תמונה 3). משמעות הדבר שבחולים אלה חסר חלק ניכר מהגן! האומנם זהו הגן הפגוע בחולי A-T? עתה היה עליו למלא תנאי בל יעבור: להיות פגום אצל שאר החולים במחלה! בדקנו בקדחתנות את רצף הגן אצל חולים אחרים, מהארץ ומארצות אחרות: אכן, אצל כל חולה נמצאה מוטציה כלשהי בגן, וכל המוטציות היו צפויות לגרום פגמים חמורים בחלבון המקודד על ידי הגן.

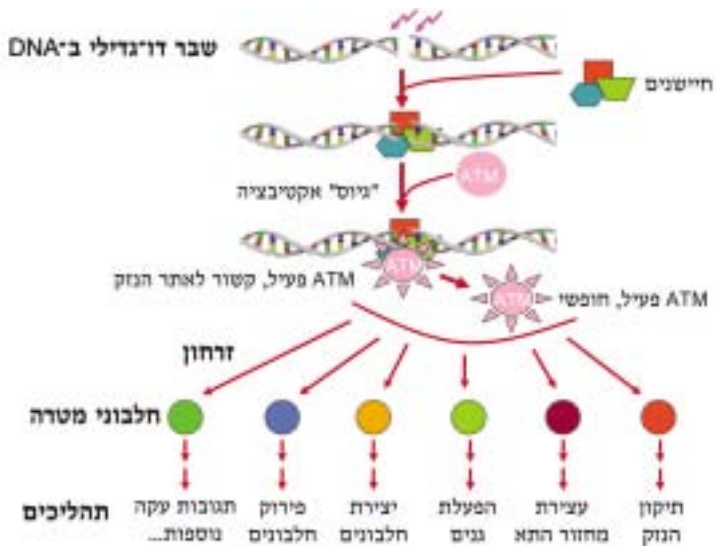
האם זהו סוף המירוץ? התקשרתי אל חוקר שעמד בראש אחת הקבוצות האחרות במירוץ. "בידינו גן שבו מצאנו מוטציות אצל חולי A-T", אמרתי לו בלשון טכנית ויבשה ככל האפשר. בקו הטלפון נשתררה דממה, ואז נשמע קולו: "אני שמח בשבילך - ועצוב בשביל קבוצתנו..."

## המפקח הכללי

קראנו לו ATM (=A-T mutated), וזהו גם שמו של החלבון המקודד על ידו.<sup>2</sup> לא היה פנאי למנוחה על זרי הדפנה. היה ברור לנו שזיהוי הגן אינו סוף דבר, אלא רק סוף ההתחלה. הגילוי סימן את תחילתו של מסע ארוך נוסף, והפעם - להבנת תפקידיו של החלבון ATM, שהרי הגן אינו אלא תבנית ליצירת חלבון, והחלבון הוא האחראי לאותה פונקצייה נעלמה הפגומה אצל החולים. מהו אפוא תפקידו של החלבון ATM בתא?

כדי לחקור שאלה זאת היה עלינו לעבור מתחום הגנטיקה המולקולרית, שבו התמחינו במשך שנים ארוכות, לתחום הביולוגיה של התא, במיוחד כימיה של חלבונים. בסיועם המסור של חברים במוסדות מחקר אחרים התחלנו שוב





**תמונה 4.** הפעלת מערך התגובה התאי לשברים דו־גדיליים ב־DNA על ידי ATM. חלבונים המשמשים חיישנים חשים בנזק, מגייסים את ATM לאתר הנזק וגורמים להפעלתו. חלק ממולקולות ATM נותרות צמודות לאתר השבר, וחלקן מצויות בגרעין התא באורח חופשי. ATM המשופעל מזרחן שורה של חלבוני מטרה וגורם בכך לשינוי בפעילותם, ובעקבות זאת – לשינוי בתהליכים שחלבוני מטרה אלה ממלאים בהם תפקיד מרכזי.

### להבין את A-T

לכל המידע הרב על תפקידיו של החלבון ATM תרומה להבנתנו את המערכת החשובה המגיבה לנזקי DNA, אולם האם התקדמנו בהבנת הבסיס למחלה A-T, מטרטנו מלכתחילה? הפגם בהפעלת מערך התגובות לשברים דו־גדיליים ב־DNA מסביר את רגישותם של חולי A-T לקרינה מייננת, את אי־היציבות הגנומית, המובילה לנטיית יתר לסרטן, ואף את הפגם במערכת החיסון (הבשלתם של תאי מערכת החיסון כרוכה ביצירת שברים מתוכננת באתרים מסוימים ב־DNA, ונוכחות ATM חשובה להתבצעות התקנה של תהליך זה). עם זאת, החוקרים התקשו להסביר את הניוון העצבי של חולי A-T. מקובל היה להניח שהתגובה לנזקי DNA קריטית בתאים מתחלקים, ועיקר מטרטתה – תיקון ה־DNA לפני הכפלתו. תאי עצב בוגרים אינם מתחלקים, ומשום כך היו שהניחו כי הם אינם זקוקים למערכת הגנה כה משוכללת מפני נזקי DNA. אף נמצאו חוקרים שטענו כי בתאי עצב מצוי ATM מחוץ לגרעין והוא ממלא בהם תפקיד אחר, שאינו קשור לתגובה לנזקי DNA. מובן כי טענה מעין זו מנתקת את כל המידע

זיהוי פעילותו של ATM היה המפתח להבנת תפקידו, ובמיוחד להבנת יכולתו לשלוט בתהליכים רבים בתא. נניח ש־ATM מסוגל לזרזן בעת ובעונה אחת חלבוני מטרה רבים ולשנות בכך את תפקודם. נניח עוד שכל חלבון מטרה הוא ציר מרכזי בתהליך תאי כלשהו, ולפיכך השינוי בתפקודו יוביל לשינוי באותו תהליך. לפנינו מנגנון בקרה פשוט אך רב עוצמה, העושה את ATM לבקר־על של תהליכים רבים: הוא מזרחן את חלבוני המטרה שלו ומשנה באחת תהליכים רבים בתא (תמונה 4). מהם אפוא חלבוני המטרה של ATM? ומהו האות שיגרום לו לזרזן אותם?

עבודתנו (ועבודה אחרת, בלתי תלויה, של קבוצה אמריקאית) הביאה לראשונה לזיהוי של מטרה ספציפית לפעולתו של ATM<sup>3</sup> – החלבון p53. לחלבון מפורסם זה תפקיד מפתח בתגובת התא לנזקי DNA. בין השאר הוא מפקח על תהליך חשוב בתגובה זו – עצירה זמנית של מחזור התא, המאפשרת את תיקון ה־DNA בטרם יעבור הכפלה. זרחונו של p53 על ידי ATM הוא אחד משלל השינויים הכימיים החלים בחלבון זה בעקבות נזקי DNA, הגורמים לעלייה ברמתו ולזירוז פעילותו כבקר של פעילות גנים. זיהוי p53 כמטרה לפעולתו של ATM קישר, כמובן, את ATM אל תגובת התא לנזקי DNA, אך האומנם יש לנזקי DNA השפעה על פעילותו של ATM? האם ATM "חש" בנזקי DNA ופועל בתגובה להופעתם? ומהו נזק ה־DNA הספציפי המאותת ל־ATM? התשובות שהתקבלו מן הניסויים היו ברורות: טיפול בתאים בגורמי שברים דו־גדיליים ב־DNA גרם להתגברותה של פעילות הזרחון של ATM ("אקטיביזציה").<sup>3</sup> בהמשך מצאנו כי ATM אף "מגויס" לאתרי הנזק ב־DNA ונאחז בהם בחזקה.<sup>4</sup> אולם הוא לא הראשון החש בנזק. בשנת 2003 זיהינו את המתווך העיקרי בהפעלתו של ATM בעקבות גרימת שברים דו־גדיליים ב־DNA – קומפלקס חלבוני המשמש חיישן, החש בשבר ב־DNA ומגייס את ATM לאתרי הנזק ובתוך כך מסייע בהפעלתו.<sup>5</sup>

מי הם שאר חלבוני המטרה של ATM? נתונים ממעבדתנו וממעבדות רבות אחרות מראים כי מדובר בחלבונים רבים, המעורבים בשלל תהליכים בתא.<sup>6,7</sup> תגובת התא לנזקי DNA היא בעצם רשת מורכבת של תגובות שלובות זו בזו ומפוקחות יחד על ידי ATM, השולט בהן ביד רמה בעזרת זרחון חלבוני המפתח של כל אחת מהן (תמונות 4, 5). כיום עוסקת מעבדתנו בזיהוי ענפים נוספים ברשת מסועפת זו, בעזרת שיטות ביוכימיות, מערכי DNA ממוזערים, גישות ביו־אינפורמטיות ועכברים שבוצעו בהם מניפולציות גנטיות.<sup>8-12</sup>

התקדמות המחלה.<sup>15</sup> דרך אפשרית לכך היא הגברת פעולתם של חלבונים שימלאו את מקומו של ATM, ולו באורח חלקי, בהפעלת תגובת התא לנזקי DNA. אנו מכירים לפחות חלבון אחד העשוי להיות מטרה לפעולתה של תרופה כזאת. חיפוש התרופה דורש טכנולוגיה רבת תפוקה (high throughput) שתאפשר סריקת מאגרי תרופות גדולים כדי לזהות מולקולה הגורמת לתאים חסרי ATM להפעיל בכל זאת את תגובת הנזק, ולו חלקית.

קייץ 2007 יציין מלאות שלושים שנה לביקורנו אצל המשפחה מחבל לכיש. במשך השנים האלה נשאלתי לא אחת מדוע אני מקדיש את עבודתי למחלה כה נדירה, שמעטים שמעו את שמה. שתי תשובות לי לשאלה הזאת. התשובה האחת מתייחסת למחויבותנו לחולים במחלות נדירות, שאינה אמורה להיות פחותה מן המחויבות לחולים במחלות נפוצות, בעלות "פרופיל ציבורי" בולט יותר; השנייה אומרת בפשטות: גם אילו היה חולה אחד ויחיד במחלה זו בעולם, די היה בו להצביע על אותה חידה ביולוגית-רפואית, שעל קיומה העידו שני הילדים בקיץ 1977 ומעידים כל חולי A-T באשר הם - חוליה חסרה בהבנתנו את הביולוגיה של האדם, שהמחלה הזאת מכריזה עליה וקוראת לנו לגלותה (תמונה 6). החולה שלפנינו אומר לנו בלא מילים: "הבן מה קורה לנו, ואז עזור לנו".



**תמונה 5.** הדגמת התגובה לנזקי DNA התלויה ב-ATM. תאים בתרבית רקמה הוקרנו בקרינה מייננת והוגבו עם נוגדן, המזהה את זרחנו של אחד מחלבוני המטרה של ATM. כאשר חל הזרחון הנוגדן, המסומן בצבען אדום, מגיב עם החלבון המזרחן, וגרעיני התאים נצבעים באדום עז. התגובה מובחנת בתאים בריאים לאחר הקרנתם, אך אינה מופיעה בתאים של חולה A-T.



**תמונה 6.** ממחלה תורשתית לתובנות ביורפואיות חדשות. החץ המרוסק מייצג את תקוות החוקרים לסגור את המעגל באמצעות פיתוח דרכי טיפול בחולים בעזרת המידע שהושג על תפקידיו של החלבון שעליו ממונה גן המחלה.

הרב, שהושג עד עתה על תפקידיו של החלבון, מן התסמין המרכזי של המחלה! תוצאות שקיבלנו בשנים האחרונות עוררו את חשדנו שלא כך הם פני הדברים. סדרת ניסויים במעבדתנו ובמעבדתו של שותפנו, פרופ' ארי ברזילי מאוניברסיטת תל-אביב, הראתה כי אכן, גם בתאי עצב יושב ATM בגרעין וגם בהם הוא מפקח על תגובת התאים לשברים דו-גדיליים ב-DNA.<sup>13,14</sup> אמנם תאים אלה אינם מתחלקים, אך דווקא משום כך, בגלל מספרם הסופי, חשובה ביותר שמירת יציבות הגנום שלהם. יתרה מזו: ה-DNA בתאים אלה חשוף ללחץ מתמיד של רדיקלים חמצניים, הנוצרים במהלך חילוף החומרים האינטנסיבי שלהם. למעשה, תאים אלה "ראויים" בהחלט למערכת הגנה יעילה מפני נזקי DNA, ובהיעדרה מצטברים בהם, ככל הנראה, נזקי DNA המכריעים אותם לבסוף. עתה, כאשר אנו יודעים כי תסמיניה העיקריים של המחלה אכן נובעים מן הפגם בתגובה לנזקי DNA, ניתן לחשוב על חיפוש תרופות אשר יצליחו "לפצות" את תאי הגוף, ולו במעט, על היעדר פעולתו של ATM, ובכך יאטו את קצב

רון שמיר ופרופ' גידי רכבי. תודה מיוחדת לעמיתי ורעי פרופ' משה אורן. תודות לעמיתי בחוג לגנטיקה מולקולרית של האדם ולביוכימיה באוניברסיטת תל-אביב על עידודם ותמיכתם, וכן להנהלת אוניברסיטת תל-אביב ולראשי הפקולטה לרפואה ע"ש סאקלר ולעובדיה, שלא חסכו בסיוע, ככל שהשיגה ידם. תודות לקרנות המחקר שמימנו את מחקרנו, ולמשפחות חולי A-T בארץ ובעולם, המסייעות בידנו כל העת ומצפות בכל יום להבאת תוצאות המחקר אל מיטת החולה. אנו מקווים שרגע זה, גם אם יתמהמה – בוא יבוא.

מאמר זה מוקדש לזכרו של מדריכי בהשתלמות הבת-ר דוקטורט, פרופ' סם לאט (Samuel A. Latt), דמות מופת לרעיו ולתלמידיו.

## שלמי תודה

אני מבקש להודות מקרב לב לאנשי מעבדתנו לדורותיהם, ובראשם ד"ר יעל זיו, על עבודתם הברוכה ועל המסירות לשליחותנו. תודות למורי דרכי: פרופ' אליעזר ליפשיץ, פרופ' מימון כהן, פרופ' יחיאל בקר ופרופ' פרנסיס קולינס. תודות לשותפינו למחקר, שסימנו לנו אבני דרך במסעותינו: ד"ר נחמה סמורודינסקי, ד"ר יובל רייס, פרופ' ארי ברזילי, פרופ'

- <sup>1</sup> Savitsky K, Bar-Shira A, Gilad S, Rotman G, Ziv Y, Vanagaite L, Tagle DA, Smith S, Uziel T, Sfez S, et al. A single ataxia telangiectasia gene with a product similar to PI-3 kinase. *Science* 1995; 268:1749-53.
- <sup>2</sup> Savitsky K, Sfez S, Tagle DA, Ziv Y, Sartiell A, Collins FS, Shiloh Y, Rotman G. The complete sequence of the coding region of the ATM gene reveals similarity to cell cycle regulators in different species. *Hum Mol Genet* 1995; 4:2025-32.
- <sup>3</sup> Banin S, Moyal L, Shieh S, Taya Y, Anderson CW, Chessa L, Smorodinsky NI, Prives C, Reiss Y, Shiloh Y, Ziv Y. Enhanced phosphorylation of p53 by ATM in response to DNA damage. *Science* 1998; 281:1674-7.
- <sup>4</sup> Andegeko Y, Moyal L, Mittelman L, Tsarfaty I, Shiloh Y, Rotman G. Nuclear retention of ATM at sites of DNA double strand breaks. *J Biol Chem* 2001; 276:38224-30.
- <sup>5</sup> Uziel T, Lerenthal Y, Moyal L, Andegeko Y, Mittelman L, Shiloh Y. Requirement of the MRN complex for ATM activation by DNA damage. *Embo J* 2003; 22:5612-21.
- <sup>6</sup> Shiloh Y. ATM and related protein kinases: safeguarding genome integrity. *Nat Rev Cancer* 2003; 3:155-68.
- <sup>7</sup> Shiloh Y. The ATM-mediated DNA-damage response: taking shape. *Trends Biochem Sci* 2006; 31:402-10.
- <sup>8</sup> Pereg Y, Shkedy D, de Graaf P, Meulmeester E, Edelson-Averbukh M, Salek M, Biton S, Teunisse AF, Lehmann WD, Jochemsen AG, Shiloh Y. Phosphorylation of Hdmx mediates its Hdm2- and ATM-dependent degradation in response to DNA damage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:5056-61.
- <sup>9</sup> Ziv Y, Bielopolski D, Galanty Y, Lukas C, Taya Y, Schultz DC, Lukas J, Bekker-Jensen S, Bartek J, Shiloh Y. Chromatin relaxation in response to DNA double-strand breaks is modulated by a novel ATM- and KAP-1 dependent pathway. *Nat Cell Biol* 2006; 8:870-6.
- <sup>10</sup> Rashi-Elkeles S, Elkon R, Weizman N, Linhart C, Amariglio N, Sternberg G, Rechavi G, Barzilai A, Shamir R, Shiloh Y. Parallel induction of ATM-dependent pro- and antiapoptotic signals in response to ionizing radiation in murine lymphoid tissue. *Oncogene* 2006; 25:1584-92.
- <sup>11</sup> Elkon R, Rashi-Elkeles S, Lerenthal Y, Linhart C, Tenne T, Amariglio N, Rechavi G, Shamir R, Shiloh Y. Dissection of a DNA-damage-induced transcriptional network using a combination of microarrays, RNA interference and computational promoter analysis. *Genome Biol* 2005; 6:R43.
- <sup>12</sup> Ziv S, Brenner O, Amariglio N, Smorodinsky NI, Galron R, Carrion DV, Zhang W, Sharma GG, Pandita RK, Agarwal M, Elkon R, Katzin N, Bar-Am I, Pandita TK, Kucherlapati R, Rechavi G, Shiloh Y, Barzilai A. Impaired genomic stability and increased oxidative stress exacerbate different features of Ataxia-telangiectasia. *Hum Mol Genet* 2005; 14:2929-43.
- <sup>13</sup> Biton S, Dar I, Mittelman L, Pereg Y, Barzilai A, Shiloh Y. Nuclear ataxia-telangiectasia mutated (ATM) mediates the cellular response to DNA double strand breaks in human neuron-like cells. *J Biol Chem* 2006; 281:17482-91.
- <sup>14</sup> Dar I, Biton S, Shiloh Y, Barzilai A. Analysis of the ataxia telangiectasia mutated-mediated DNA damage response in murine cerebellar neurons. *J Neurosci* 2006; 26:7767-74.
- <sup>15</sup> Shiloh Y, Andegeko Y, Tsarfaty I. In search of drug treatment for genetic defects in the DNA damage response: the example of ataxia-telangiectasia. *Semin Cancer Biol* 2004; 14:295-305.