

۱۵۸۵۷۱ - ۲۰۱۸.۵۷



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی علوم سلولی ملکولی

گرایش ژنتیک

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های 765 G/C - و 8473 T/C + ژن $COX-2$ با

سرطان ریه در جمعیت ایران

استاد راهنما:

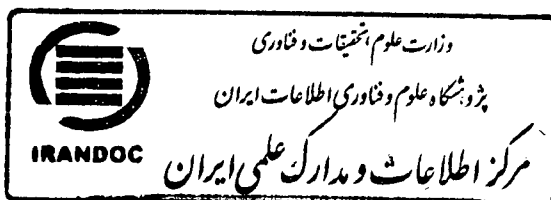
دکتر مجید متولی باشی

استاد مشاور:

دکتر زهره حجتی

پژوهشگر:

مسعود عسکری مال شیخ



شهریور ماه ۱۳۸۸

۱۵۸۵۷۱

۱۳۹۰ / ۳ / ۱۶

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه اصفهان است.



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه ی کارشناسی ارشد رشته ی علوم سلولی ملکولی گرایش ژنتیک

آقای مسعود عسکری مال شیخ

تحت عنوان

بررسی ارتباط پلی مورفیسم های +8473T/C و -765G/C در ژن COX-2 با

سرطان ریه

در تاریخ ۸۸/۶/۲۴ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای اول پایان نامه دکتر مجید متولی باشی

با مرتبه ی علمی استادیار

امضا

۲- استاد مشاور پایان نامه دکتر زهره حجتی

با مرتبه ی علمی استادیار

امضا

۳- استاد داور داخل گروه دکتر کامران قاندى

با مرتبه ی علمی استادیار

امضا

۴- استاد داور خارج از گروه دکتر حمید میر محمد صادقی

با مرتبه ی علمی دانشیار

امضا

امضای مدیر گروه

۱۹/۵/۱۶



به نام خداوند جان و خرد

کزین برتر اندیشه برنگذرد

حمد بی حدّ و سپاس بی عدّه خداوند جان آفرین ، یکتای ربّ العالمین ، مالک یوم الدّین ،
هادی صراط المستقیم و باز دارنده از راه گمراهان و ضالّین؛

خالقی که انسان را از ماء دافق به وجود آورد و راز زندگی اش را در خطوط و رواجب
انگشتانش قرارداد و فرمود : بلی قادرین علیّ أنّ نسوّی بَنَانَهُ، آفریدگاری که : یُحیی العِظَامَ
و هِیَ رَمِیمٌ؛

توانایی که دریک طرفه العین زکاف و نون پدید آورد کونین
رحمانی که :

ادیم جهان سفره ی عام اوست براین خوان یغما چه دشمن چه دوست
رحیمی که به واسطه ی لطف بی قیاس و نعمت بی حساب دوستانش را برکشید و
دشمنانش را مقهور و ذلیل گردانید؛

بنده نوازی که بی منّ و اذی می دهد و هیچ گاه از بنده اش نا امید نبوده است، ستّاری که
می بیند و می پوشاند ، غفّاری که به ملاً اعلی از کروبسی و روحانی می گوید: من از زاری
بنده ام شرمسارم : یا ملائکتی قد استحییّت من عبّدی

کرم بین و لطف خداوندگار گنه بنده کرده است و او شرمسار

و درود و رحمت خداوند بر اشرف آدمیان و افضل عالمیان و تتمه ی دور زمان ، حبیب و
صفی خدای رحمان و مایه ی رحمت و هدایت بشر و هدیّ و رَحْمَةٌ للعالمین . همان که
عامل فیض رحمانی بر لاهوت و ناسوت است و « لولاک لَمَا خَلَقْتَ الْاَفْلاکَ » درشان او
نازل شد، خاتم و خاتم انبیاست و سلاله ی پاکش از آغاز تا قیام قائم نسل بشر را سراج
منیرند و هادی بشیر .

الهی و ربّی! شرمسارم از این که بر درگاهت عذر آورم، چرا که عدم ارجح از منیت است و
در برابر جلال مطلق نمی توان دم از وجود زد تا به مقام اعتذار پای نهاد:

که جایی که دریاست من کیستم چو او هست حقا که من نیستم

الهی ! خود فرمودی که یأس از رحمت اوصاف کافران است : اِنَّهُ لَا یَیْأَسُ مِنْ رَوْحِ اللهِ الْاِ
لْقَوْمِ الْکَافِرُونَ، و لطف بی منتهایت و فضل عمیمت مرا امیدوار می دارد به این که : اِنَّهُ
لَطِیْفٌ خَبِیرٌ وَ وَّاسِعٌ عَلِیمٌ و براین باورم که :

بنده همان به که زتقصیر خویش عذر به درگاه خدای آورد

ور نه سزاوار خداوندیش کس نتواند که به جای آورد

ای باری و خالق کلّ وجود! سراسر ملک وجودم مایملک توست و تو را مالک بی چون
خود می دانم و دراین کهنه رباط از تو استعانت می جویم و از تو می خواهم که علمی نافع
به من عطا کنی و با تمام وجود می گویم:

قطره ی دانش که بخشیدی زپیش متصل گردان به دریا‌های خویش

الهی! همین ناچیز را از لطف بی حساب تو می دانم و با یقین کامل و اخلاص درنیت و
ایمان قلبی خاضعانه ندا می دهم: هَذَا مِنْ فَضْلِ رَبِّي.

الهی! ما را به عدلت وامگذار و نور فضلت را بر ما شایع و موسع گردان، و عاملنا بِفَضْلِكَ و لا
تُعاملنا بَعْدَ لِكَ.

الهی! سر ارادت ما را از آستان معصومان و پاکانت مهجور مدار و خاک آستانش را نکهت
روح فزای ما قرار بده.

(آمین ربّ العالمین)

تقدیر و سپاس :

درود بی بدیل و تحیاتِ وافر جزیل به ساحت مقدّس و نجیب اساتید فرزانه و ارجمندم،
کاملانی جامع که سوختند تا خامی را پخته سازند، کیمیاگرانی که با اکسیر وجودشان، مس
وجودم را به گوهری زرین مبدل ساختند و با تقدیر فراوان و سپاس بی منتها از زحمات
بی شائبه و خالصانه ی آنان که در تمامی آنات تحصیل، روشنگر، هادی و راهنمای این
مرید طالب بودند، فرشتگانی که با دو بال علم و اخلاق سایه گستر وجودم بودند؛ خالصانه و
خاضعانه از آنان سپاسگزارم، عزّت و کامیابی آنان از درگاه ایزد متّان مطلوب و مأمول قلبی
این ضعیف خواهد بود.

تقدیر و تشکر فراوان :

از استاد راهنما جناب آقای دکتر مجید متولی باشی و استاد مشاور سر کار خانم دکتر زهره
حجتی که با راهنماییهای ارزنده و عجین ساختن علم و اخلاق راههای جدیدی برای کسب
دانش و اخلاق به من نشان دادند.

کمال تشکر

از خانم دکتر سیمین همتی و خانم دکتر راضیه اکبری که جهت جمع آوری نمونه ها کمک شایانی به من کردند.

تقدیم به :

پدر و مادر عزیزم

دو قطب عالم عشق و عاطفه که وجودم از پرتو وجودشان گرمی و اثر یافت و با ذوب شدن وجودشان درخت کیان و هستی ام آبیاری شد و نهایت آمالشان رفعت و سربلندی و عزت این حقیر بود، خاضعانه سرتعظیم در برابر شان و شوکتشان فرود می آورم و بردستان سرشار از محبت و پاهای استوارشان بوسه می زنم.

برادرانم

ستارگان آسمان اخوت و صمیمیت که لمحات و درخشش آنان کورسوی امیدم را روشن کرده و مایه ی سرفرازی و عزتمندی ام بودند و نیز سنگ زیرین بارگران خانواده، تا مصائب تحصیل را براین حقیر سهل و راحت نمودند.

خواهرم

تک ستاره مهر و محبت خواهری که وجود پر عاطفه و سرشار از محبت او گرما بخش زمستان محبت می باشد.

تقدیم ویژه به

همسر مهربان و با وفایم

که معنا و مفهوم عشق را برایم تفسیر کردند و با خود دنیایی پر از عشق و محبت هدیه آوردند و در طول زندگی مشترکمان و بخصوص در این مقطع از تحصیل مایه ی استظهار، دلگرمی و تفوق بر خستگی ها و دشواری ها بودند، کسی که مایه ی تشفی سختی های ایام پرمشقت تحصیل بودند و جان گرامی را سپر خستگی ها و مصائب ناشی از عدم حضور در محیط خانواده کردند تا فراغ بال مرا تأمین نمودند.

و

فرزندان عزیزم

که ثمره زندگی و پنجره امید به آینده مان می باشند و گنجینه اسرار الهی در زندگی مان بوده و مشکلات زندگی را با خنده ها و بازی های شان بر ما آسان می نمایند.

چکیده

سیکلو اکسیژنازها، از خانواده ی اکسیژنازها هستند که در انسان دو نوع آن به نام سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ وجود دارد. سیکلو اکسیژناز ۱ همیشه بیان می شود اما بیان سیکلو اکسیژناز ۲ بسته به شرایط فیزیولوژیک بدن تغییر می کند، این آنزیم ها دارای دو نوع فعالیت سیکلو اکسیژنازی و پراکسیدازی بوده که با این دو نوع فعالیت پروستاگلندین ها را بوجود می آورند. پروستاگلندین ها نقش های متعددی در بدن دارند از جمله فعالیت در سیستم ایمنی، تنظیم قطر رگها در سیستم گردش خون، کمک به فعالیت های دستگاه گوارش و فرایند تصفیه خون در کلیه، التهاب، درد، تقسیم سلولی و رگرایی می باشند. مطالعات گویای افزایش سطح این مواد در برخی از سرطان ها در مراحل گسترش و متاستاز می باشد. بر این اساس پلی مورفیسم های مؤثری در ژن سیکلو اکسیژناز ۲ شناخته و ارتباط بعضی از آنها بواسطه افزایش بیان در سرطان های مختلفی مثل روده بزرگ، حنجره، پروستات، معده و ریه مشاهده شد. پلی مورفیسم های $-765G/C$ و $+8473T/C$ باعث افزایش بیان آنزیم شده و ارتباط آن ها در سرطان های مختلفی از قبیل ریه مطالعه شده است. پلی مورفیسم $-765G/C$ بر میزان بیان از طریق تغییر جایگاه اتصال فاکتور رونویسی sp1 و پلی مورفیسم $+8473T/C$ در پایداری mRNA ایفای نقش دارند، به طوری که به ترتیب آلل G و آلل C در این پلی مورفیسم ها منجر به افزایش سطح آنزیم سیکلو اکسیژناز و بنابراین افزایش ریسک سرطان می گردند. هدف از مطالعه نمونه - شاهد حاضر ارزیابی اثر پلی مورفیسم های مذکور بر گسترش و متاستاز سرطان ریه می باشد. بدین منظور ۱۲۰ نمونه مبتلا به سرطان ریه و ۱۱۰ نمونه کنترل بوسیله تکنیک RFLP-PCR تعیین ژنوتیپ گشتند. مطالعات آماری نشان می دهد که ژنوتیپ CC پلی مورفیسم $+8473T/C$ در گروه بیماران ($45/84\%$) نسبت به گروه کنترل ($30/45\%$) فراوانی بیشتری داشته، همچنین آلل C پلی مورفیسم $+8473T/C$ در بیماران متاستازی فراوانی بیشتری نشان داد. بنابراین آلل فوق می تواند بعنوان ریسک فاکتور متاستازی در نظر گرفته شود. ژنوتیپ GG پلی مورفیسم $-765G/C$ در بیماران ($62/5\%$) نسبت به گروه کنترل ($55/45\%$) افزایش معنی دار آماری از خود نشان نداد. اما وقتی که بیماران به دو گروه متاستازی و غیر متاستازی تقسیم شدند ارتباط ضعیفی بین ژنوتیپ GG پلی مورفیسم G/C با متاستاز مشاهده شد. با آنالیز گروههای مختلف بیماران مشاهده شد که به ترتیب در مردان سیگاری، زنان سیگاری، مردان غیر سیگاری و در نهایت زنان غیر سیگاری برای پلی مورفیسم $+8473T/C$ افزایش ریسک وجود دارد اما در پلی مورفیسم $-765 G/C$ فقط برای گروه متاستازی افزایش ریسک مشاهده گردید. در مجموع مطالعه اپیدمیولوژی حاضر برای اولین بار در ایران نشان داد که ژنوتیپ CC پلی مورفیسم $+8473T/C$ به عنوان یک فاکتور تسهیل کننده، با ریسک گسترش و متاستاز سرطان ریه در گروههای مختلف جنسیت و استعمال دخانیات به ویژه مردان سیگاری مرتبط می باشد و ژنوتیپ GG پلی مورفیسم $-765 G/C$ به طور نسبتاً ضعیفی با متاستاز سرطان ریه در ارتباط می باشد.

کلمات کلیدی: ژن سیکلو اکسیژناز، پراکسیدازی، پروستاگلندین، پلی مورفیسم $+8473T/C$ و $-765 G/C$ ، تکنیک RFLP-PCR، متاستاز و سرطان ریه.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول : مقدمه و مروری بر منابع

- ۱-۱ خانواده سیکلواکسیژنازها..... ۱
- ۲-۱ - ساختار ژنتیکی سیکلواکسیژنازهای انسانی..... ۲
- ۳-۱ - ساختار آنزیم های COX-1 و COX-2..... ۸
- ۱-۳-۱ پپتید نشانه آمین انتهایی..... ۱۳
- ۲-۳-۱ دمین دیمیریزاسیون..... ۱۳
- ۳-۳-۱ دمین گذرنده از غشا..... ۱۳
- ۴-۳-۱ دمین کاتالیتیکی..... ۱۴
- ۱-۴-۳-۱ جایگاه پراکسیدازی..... ۱۴
- ۲-۴-۳-۱ جایگاه سیکلواکسیژنازی..... ۱۴
- ۴-۱ پلی مورفیسم های ژن COX-2..... ۱۶
- ۵-۱ عملکرد آنزیم های سیکلواکسیژناز..... ۱۸
- ۱-۵-۱ بیو سنتز پروستاگلندین ها..... ۱۹
- ۱-۵-۱ نحوه تولید پروستاگلندین ها..... ۱۹
- ۲-۱-۵-۱ مهارکننده های آنزیم های پروستاگلندین سنتاز..... ۲۰
- ۱-۵-۱-۲-۱ مهارکننده های ضد التهابی غیر استروئیدی (NSAID) ترکیبی (مصنوعی)..... ۲۱
- ۱-۵-۱-۲-۲ داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی رقابتی..... ۲۱
- ۱-۵-۱-۳-۲ مهارکننده های تب بر یا ضد درد..... ۲۲
- ۲-۵-۱ کنترل تقسیم سلولی..... ۲۲
- ۳-۵-۱ مهار آپوپتوز سلولی..... ۲۳
- ۶-۱ پروستاگلندین ها..... ۲۴
- ۱-۶-۱ بیوسنتز پروستاگلندین ها..... ۲۵
- ۲-۶-۱ مسیر های متابولیسمی آراشیدونیک اسید..... ۲۶
- ۳-۶-۱ عملکرد پروستاگلندین ها..... ۲۷
- ۷-۱ تنظیم بیان ژن COX-2..... ۲۷

۲۸	۱-۷-۱ تنظیم به وسیله فاکتورهای التهابی.....
۲۸	۲-۷-۱ تنظیم فعالیت از طریق پروستاگلندین ها
۲۹	۲-۷-۱ رادیکالهای آزاد و نیتریک اکسید.....
۲۹	۴-۷-۱ تنظیم به وسیله سیگنالهای درون سلولی.....
۳۱	۸-۱ سیکلو اکسیژناز ها و بیماریهای درگیر
۳۲	۱-۸-۱ التهاب و پیشرفت تومور
۳۲	۲-۸-۱ رگرایی.....
۳۴	۹-۱ سرطان
۳۴	۱-۹-۱ فراوانی سرطان.....
۳۷	۲-۹-۱ عوامل مؤثر در سرطان
۳۷	۱-۲-۹-۱ عوامل محیطی.....
۳۷	۲-۲-۹-۱ عوامل ژنتیکی.....
۳۸	۳-۹-۱ متاستاز
۳۹	۴-۹-۱ سرطان ریه.....
۴۱	۱-۴-۹-۱ ارتباط سیگار و سرطان ریه.....
۴۳	۲-۴-۹-۱ ارتباط ژنهای سیکلواکسیژناز با توسعه سرطان ریه.....
۴۳	۱۰-۱ اهمیت مطالعه حاضر.....

فصل دوم : مواد و روشها

۴۵	۱-۲ دستگاهها
۴۵	۲-۲ مواد
۴۸	۳-۲ روشها
۴۸	۱-۳-۲ استریل کردن وسایل و مواد
۴۸	۲-۳-۲ تهیه محلولها
۴۹	۱-۲-۳-۲ تهیه Tris-HCl.....
۴۹	۲-۲-۳-۲ تهیه اتیلن دی آمینو تتراستیک اسید(EDTA)

۴۹	تهیه ۳-۲-۳-۲ (TE) Tris- HCl-EDTA
۴۹	تهیه بافر TBE ۴-۲-۳-۲
۵۰	اتیودیوم بروماید ۵-۲-۳-۲
۵۰	ژل آگارز ۶-۲-۳-۲
۵۱	استخراج DNA از خون ۷-۲-۳-۲
۵۱	DNA مارکرهای ۸-۲-۳-۲
۵۱	بافر ۶X فرو برنده DNA (لودینگ بافر X ۶) ۹-۲-۳-۲
۵۲	تکنیک ها ۴-۲
۵۲	الکتروفورز ۱-۴-۲
۵۲	طراحی پرایمر ۲-۴-۲
۵۵	تکنیک PCR ۳-۴-۲
۵۵	اهمیت تکنیک PCR ۱-۳-۴-۲
۵۶	مراحل انجام PCR ۲-۳-۴-۲
۵۷	اساس کار تکنیک RFLP-PCR ۴-۴-۲
۵۷	تعیین جایگاه محل برش آنزیمی ۱-۴-۴-۲
۶۱	آنالیزهای آماری ۵-۴-۲
۶۱	محاسبه فراوانی آلل ها ۱-۵-۴-۲
۶۲	آزمون X^2 ۲-۵-۴-۲
۶۳	نسبت افزایشده (OR) ۳-۵-۴-۲
۶۳	مطالعات اپیدمیولوژی ۴-۵-۴-۲
۶۴	تفسیر نسبت افزایشده ۵-۵-۴-۲

فصل سوم : نتایج

۶۵	نتایج نمونه گیری ۱-۳
۶۵	استخراج DNA از خون ۲-۳
۶۷	نتایج طراحی پرایمر ۳-۳
۶۸	تکنیک PCR ۴-۳

- ۳-۵ تکنیک RFLP - PCR..... ۷۰
- ۳-۶ آنالیزهای آماری..... ۷۲
- ۳-۶-۱ مشخصات افراد کنترل و سرطانی..... ۷۲
- ۳-۶-۲ تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های G/C و T/C ژن *COX-2* در افراد کنترل و بیمار..... ۷۳
- ۳-۶-۳ طرح و کلیات آنالیزهای آماری..... ۷۵
- ۳-۶-۳-۱ کلیات آنالیزهای پلی مورفیسم T/C..... ۷۵
- ۳-۶-۳-۲ کلیات آنالیزهای پلی مورفیسم G/C..... ۷۶
- ۳-۶-۴ آنالیزارتباط پلی مورفیسم های G/C ناحیه پروموتوری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروههای مختلف بیماران در مقایسه با افراد کنترل..... ۷۶
- ۳-۶-۴-۱ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در افراد بیمار..... ۷۶
- ۳-۶-۴-۲ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک توسعه سرطان ریه در گروه متاستاز ی..... ۷۸
- ۳-۶-۴-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک توسعه سرطان ریه در گروه متاستاز در مقایسه با گروه غیرمتاستاز..... ۸۰
- ۳-۶-۴-۴ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه بیماران سیگاری..... ۸۲
- ۳-۶-۴-۵ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین گروههای جنسی..... ۸۴
- ۳-۶-۴-۵-۱ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در مردان بیمار..... ۸۴
- ۳-۶-۴-۵-۲ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در زنان بیمار..... ۸۶
- ۳-۶-۴-۶ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بین گروههای سنی..... ۸۸
- ۳-۶-۴-۶-۱ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتوری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه سنی کمتر از ۶۰ سال یا دارای ۶۰ سال..... ۸۸

- ۳-۶-۴-۲ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه سنی بیشتر از ۶۰ سال ۹۰
- ۳-۶-۴-۷ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتری ژن *COX-2* با ریسک توسعه سرطان ریه در گروه‌های متاستازی + سیگاری ۹۲
- ۳-۶-۴-۸ آنالیز مقایسه ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR و پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در بیماران سیگاری ۹۴
- ۳-۶-۵ نتایج کلی آنالیز ارتباط بین پلی مورفیسم های G/C ناحیه پروموتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه‌های مختلف ۹۶
- ۳-۶-۵-۱ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم T/C ناحیه 3'-UTR ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه‌های مختلف ۹۶
- ۳-۶-۵-۲ آنالیز ارتباط پلی مورفیسم G/C ناحیه پروموتری ژن *COX-2* با ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه‌های مختلف ۹۶

فصل چهارم : بحث و نتیجه گیری

- ۴-۱ بررسی تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های T/C ، G/C ژن *COX-2* در نمونه های بیمار و کنترل ۱۰۴
- ۴-۱-۱-۱ بررسی نتایج مورفیسم T/C ۱۰۴
- ۴-۱-۱-۲ بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C ۱۰۵
- ۴-۲ بررسی تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* در نمونه های متاستازی و کنترل ۱۰۶
- ۴-۲-۱ بررسی نتایج پلی مورفیسم T/C +8473 ۱۰۶
- ۴-۲-۲ بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C -765 ۱۰۷
- ۴-۳ بررسی تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* در نمونه های سیگاری بیمار و کنترل ۱۰۷
- ۴-۳-۱ بررسی نتایج پلی مورفیسم T/C +8473 ۱۰۷
- ۴-۳-۲ بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C -765 ۱۰۸
- ۴-۴ بررسی تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* در گروه های سنی ۱۰۸

۱-۴-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم T/C +8473	۱۰۸
۲-۴-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C -765	۱۰۹
۵-۴	بررسی تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن COX-2 در گروههای جنسی	۱۰۹
۱-۵-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم T/C +8473	۱۰۹
۲-۵-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C -765	۱۰۹
۶-۴	بررسی توأم استعمال دخانیات و جنسیت	۱۱۰
۱-۶-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم T/C +8473	۱۱۰
۲-۶-۴	بررسی نتایج پلی مورفیسم G/C -765	۱۱۰
۷-۴	بررسی نقاط قوت و ضعف مطالعه حاضر	۱۱۰
۸-۴	نتیجه گیری کلی	۱۱۱
۹-۴	پیشنهاداتی برای مطالعات آتی	۱۱۲
۱	پیوست ۱	۱۱۳
۲	پیوست ۲	۱۱۵
۳	پیوست ۳	۱۲۴
۴	پیوست ۴	۱۲۸
۵	پیوست ۵	۱۲۹
۶	پیوست ۶	۱۳۶
منابع و مآخذ		۱۳۷

فهرست شکل ها

عنوان	صفحه
شکل ۱-۱: ساختار ژن، mRNA و پروتئین سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲ انسانی.....	۴
شکل ۲-۱ الف ناحیه ۵' ژن سیکلو اکسیژناز ۲ انسانی از محل شروع رونویسی تا ۸۳۱ نوکلئوتید بلا دست آن.....	۵
شکل ۲-۱ ب ناحیه ۳' ژن سیکلو اکسیژناز ۲ انسانی.....	۷
شکل ۳-۱ پلی آدنیلایسیون متناوب hnRNA ژن COX-2.....	۹
شکل ۴-۱ مقایسه ساختار پروتئینی COX-1 و COX-2.....	۱۱
شکل ۵-۱ ساختار کریستالوگرافی COX-1 و COX-2.....	۱۵
شکل ۶-۱ ساختار کریستالوگرافی جایگاه فعال سیکلو اکسیژناز ۱ و ۲.....	۱۵
شکل ۷-۱ جایگاه پلی مورفیسم ها در نواحی مختلف ژن COX-2.....	۱۷
شکل ۸-۱ مکانیسم عمل COX-2 در تولید پروستاگلندین ها.....	۲۰
شکل ۹-۱ تحریک رشد سلولی تومور در زمان افزایش مقدار آنزیم سیکلو اکسیژناز.....	۲۳
شکل ۱۰-۱ مهار آپوپتوز بوسیله COX-2.....	۲۴
شکل ۱۱-۱ مکانیسم تولید پروستاگلندین ها.....	۲۵
شکل ۱۲-۱ مسیرهای متابولیسمی آراشیدونیک اسید.....	۲۶
شکل ۱۳-۱ مکانیسم تنظیم سیکلو اکسیژناز ۲.....	۳۰
شکل ۱۴-۱ تنظیم بیان سیکلو اکسیژناز از طریق سیگنالهای درون سلولی.....	۳۱
شکل ۱۵-۱ نقش پروستاگلندین ها در رگزایی، تحریک تقسیم سلولی، رشد تومور و متاستاز.....	۳۳
شکل ۱۶-۱ نمودار درصد مرگ و میر سرطان در جهان.....	۳۵
شکل ۱۷-۱ مراحل متاستازی شدن سلولهای سرطان.....	۳۹
شکل ۱۸-۱ ارتباط بین مصرف سیگار و مرگ و میر در جمعیت آمریکا.....	۴۲
شکل ۱۹-۱: تعداد بیماران مبتلا به سرطان های پروستات، ریه، معده، روده بزرگ و خون طی سال های ۱۳۸۷-۱۳۸۴.....	۴۴
شکل ۱-۲ نمونه ای از دستگاه الکتروفورز افقی.....	۵۲
شکل ۲-۲ نحوه طراحی پرایمر.....	۵۴
شکل ۳-۲ الف مراحل اصلی PCR.....	۵۵
شکل ۳-۲ ب: شکل شماتیک تعداد DNA تولید شده از یک مولکول DNA در پنج سیکل.....	۵۶

- شکل ۲-۳ ج نمونه ای از دستگاه PCR..... ۵۶
- شکل ۲-۴ الف : نحوه پیدا کردن محل برش آنزیمی قطعه ۶۸۱ جفت بازی..... ۵۸
- شکل ۲-۴ ب. شکل ۲-۴ ب : نحوه پیدا کردن محل برش آنزیمی قطعه ۴۰۶ جفت بازی..... ۵۹
- شکل ۲-۵ الف: جایگاه شناسایی آنزیم *Tso I* و قطعات ایجاد شده..... ۶۰
- شکل ۲-۵ ب: جایگاه شناسایی آنزیم *Aci I* و قطعات ایجاد شده..... ۶۱
- شکل ۳-۱ DNA استخراج شده نمونه های بیمار و سالم..... ۶۷
- شکل ۲-۳ الف مراحل بهینه سازی PCR از لحاظ شرایط دمایی..... ۶۸
- شکل ۲-۳ ب مراحل بهینه سازی PCR از لحاظ غلظت $MgCl_2$ ۶۹
- شکل ۲-۳ ج محصول PCR از ناحیه 3'-UTR ژن سیکلواکسیژناز به طول 681bp با شرایط بهینه..... ۶۹
- شکل ۳-۳ ۳ قطعات DNA های تکثیر شده از ناحیه پروموتری ژن سیکلواکسیژناز ۲ با شرایط بهینه..... ۷۰
- شکل ۳-۴. الکتروفورز محصولات RFLP- PCR ناحیه 3'-UTR ژن سیکلواکسیژناز ۲..... ۷۱
- شکل ۳-۵. الکتروفورز محصولات RFLP- PCR ناحیه پروموتری ژن سیکلواکسیژناز ۲..... ۷۱
- شکل ۳-۶: فراوانی آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم های C/G و T/C در افراد کنترل و بیمار..... ۷۵
- شکل ۳-۷: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروه کنترل و بیمار..... ۷۸
- شکل ۳-۸: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروه متاستاز و گروه کنترل..... ۸۰
- شکل ۳-۹: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروه متاستاز و گروه غیرمتاستاز..... ۸۲
- شکل ۳-۱۰: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* بیماران سیگاری و گروه کنترل..... ۸۳
- شکل ۳-۱۱: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* مردان بیمار و گروه کنترل..... ۸۵
- شکل ۳-۱۲: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروه زنان بیمار و گروه کنترل..... ۸۷

- شکل ۳-۱۳: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* بیماران دارای ۶۰ سال یا کمتر از آن و گروه کنترل..... ۸۹
- شکل ۳-۱۴: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* بیماران بیشتر از ۶۰ سال و گروه کنترل..... ۹۱
- شکل ۳-۱۵: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروه افراد متاستازی + بیمار ان سیگاری و گروه کنترل..... ۹۳
- شکل ۳-۱۶: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C با G/C ژن *COX-2* بیماران سیگاری و دارای متاستاز و گروه کنترل..... ۹۵
- شکل ۳-۱۷: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل در آزمون ۱ (برای پلی مورفیسم T/C : TT vs CC و برای پلی مورفیسم G/C : GG vs CC)..... ۹۸
- شکل ۳-۱۸: OR نسبت آزمون کای ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل در آزمون ۱ (برای پلی مورفیسم ناحیه 3'-UTR T/C : TT vs CC و برای پلی مورفیسم ناحیه پروموتری G/C : GG vs CC)..... ۹۸
- شکل ۳-۱۹: OR آزمون کای نسبت ژنوتیپی پلی مورفیسم های T/C و G/C ژن *COX-2* گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل در آزمون ۱ (برای پلی مورفیسم ناحیه 3'-UTR T/C : TT vs CC و برای پلی مورفیسم ناحیه پروموتری G/C : GG vs CC)..... ۹۹

فهرست جدول ها

عنوان	صفحه
جدول ۱-۱ محل و مقدار همسانی اگزونهای سیکلواکسیژناز ۱ و سیکلواکسیژناز ۲.....	۳
جدول ۲-۱ بعضی از مهمترین پلی مورفیسم های سیکلواکسیژناز ۲.....	۱۸
جدول ۳-۱ فراوانی بروز و مرگ و میر سرطان در جهان.....	۳۶
جدول ۴-۱ مراحل رشد تومور ریه.....	۴۱
جدول ۱-۲ دستگاههای مورد استفاده در آزمایشگاه.....	۴۶
جدول ۲-۲ مواد مورد نیاز الکتروفورز.....	۴۶
جدول ۳-۲ مواد (محلول های) مورد نیاز استخراج DNA (این مواد در آزمایشگاه و با ترکیب کردن مواد پایه تهیه شدند).....	۴۷
جدول ۴-۲ مواد مورد نیاز PCR.....	۴۷
جدول ۵-۲ مواد مورد نیاز RFLP- PCR.....	۴۸
جدول ۶-۲ ماده مورد نیاز بافر TBE.....	۵۰
جدول ۷-۲ توالی پرایمر ها و ویژگی آنها.....	۵۳
جدول ۸-۲ الف شرایط PCR.....	۵۶
جدول ۸-۲ ب مواد مورد نیاز PCR.....	۵۷
جدول ۱-۳ مشخصات افراد کنترل و بیمار.....	۷۳
جدول ۲-۳ فراوانی آلی و ژنوتیپی پلی مورفیسم های G/C با T/C ژن COX-2 در افراد کنترل و بیمار.....	۷۴
جدول ۳-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفسم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 و ریسک ابتلا به سرطان ریه در گروه بیمار.....	۷۷
جدول ۴-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفسم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در گروه متاستاز.....	۷۹
جدول ۵-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفسم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در گروه متاستاز در مقایسه با گروه غیر متاستاز.....	۸۱
جدول ۶-۳ آنالیز ارتباط پلی مورفسم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در بیماران سیگاری.....	۸۳

- جدول ۷-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در مردان بیمار..... ۸۵
- جدول ۸-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در زنان بیمار..... ۸۷
- جدول ۹-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با ریسک ابتلا به سرطان ریه در افراد دارای ۶۰ سال سن یا زیر سال ۶۰..... ۸۹
- جدول ۱۰-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با ریسک ابتلا به سرطان ریه در افراد بالای سال ۶۰..... ۹۱
- جدول ۱۱-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در افراد بیمارسنگاری + افراد بیمار متاستازی..... ۹۳
- جدول ۱۲-۳: آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه در افراد سیگاری متاستازی..... ۹۵
- جدول ۱۳-۳ آنالیز ارتباط پلی مور فسیم های G/C ناحیه پرو موتری و T/C ناحیه 3'-UTR ژن COX-2 با توسعه سرطان ریه بین گروههای مختلف در مقایسه با گروه کنترل..... ۹۷