دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی زیست شناسی- علوم جانوری

گرایش سلولی تکوینی

جداسازی سلول های بنیادی سرطانی از رده سلولی سرطان پستان انسانی MDA-MB-231

استادان راهنما:

دکترمهری آزاد بخت

دکتر مظفر خزاعی

استاد مشاور :

دکتر اسد ویسی رایگانی

نگارش:

تارا قنبری

تیرماه ۱۳۹۰

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

چکیده

از زمان طرح فرضیه سلول بنیادی سرطانی، سرطان به عنوان بیماری در رابطه با سلول بنیادی در نظر گرفته می شود. به سبب برخی مشکلات در جداسازی سلول های بنیادی سرطانی توسط روش های متداولی چون FACS و MACS ، استفاده از روش کشت های نهادینه همراه با بکارگیری داروهای ضد سرطان پیشنهاد شده است. در تحقیق حاضر از روش کشت نهادینه همراه با داروی وین کریستین با ویژگی مهارکنندگی میتوزی به منظور جداسازی و خالص سازی سلول های بنیادی سرطانی از رده سلولی سرطانی MDA-MB231 استفاده شد. در این مطالعه سلول های سرطانی رده MDA-MB231 در محیط کشت RPMI1640 و ۱۰ درصد سرم کشت داده شد. جهت تعیین غلظت مناسب داروی وین کریستین ، سلول ها با غلظت های ۰ ،۲ ، ۴ ، ۶ و ۸ نانوگرم بر میلی لیتر دارو تیمار شدند. تعیین هویت سلول ها با بررسی بیان ژن های oct4 ، nanog ، sox2 و nucleostemin به روش RT-PCR انجام شد. درصد MFU پس از قرارگیری سلول ها در کشت غیرچسبنده حاوی EGF ، bFGF ، LIF ، B27 ، هورمون انسولین و BSA محاسبه شد. همچنین بیان مارکر CD44 برای Mammosphere های شکل گرفته سنجیده شد.

نتایج بدست آمده نشان داد بکارگیری وین کریستین با غلظت ۴ نانوگرم بر میلی لیتر پس از ۷۲ ساعت با حذف ۸۰/۳۴ درصد سلول ها غلظت دارویی مناسب است. همچنین سلول ها پس از تیمار با غلظت ۴ نانوگرم بر میلی لیتر وین کریستین هرچهار ژن مورد بررسی را بیان کردند. نتایج حاصل از کشت غیرچسبنده و بررسی درصد MFU بین سلول ها پس از تیمار دارویی و بدون تیمار دارویی نشان داد که این میزان تشکیل MFU در سلول ها پس از تیمار به طور معنی داری بالا بود ($P<0.05$). همچنین Mammosphere های حاصل از کشت غیرچسبنده مارکر CD44 را بیان کردند. به طور کلی می توان نتیجه گرفت استفاده از کشت نهادینه همراه با داروهای ضد سرطان می تواند به عنوان روشی مناسب و در دسترسی برای جداسازی سلول های بنیادی سرطانی در شرایط آزمایشگاهی معرفی شود.

کلید واژه ها:

سلول بنیادی سرطانی ، کشت نهادینه ، وین کریستین ، رده سلولی MDA-MB231

با تشکر و سپاس از

اساتید ارجمند و عزیزم سرکار خانم مهری آزاد بخت وجناب آقای دکتر مظفر خزاعی که در تمام مراحل تحقیق با تلاش و راهنمایی مستمر خویش همواره مایه امیدواری و دلگرمی من بودند.
استاد محترم و بزرگوارم جناب آقای دکتر اسد ویسی رایگانی که در انجام این پروژه به عنوان استاد مشاور مرا یاری نمودند.
استاد عزیز و بزرگوارم جناب آقای دکتر علی امینی که به عنوان استاد مدعو زحمت قرائت پایان نامه و حضور در جلسه دفاع را کشیدند.
جناب آقای دکتر علی بیدمشکی‌پور که به عنوان ممتحن داخلی در جلسه دفاع حضور داشتند.
استاد بزرگوارم دکتر رستم قربانی که همواره مرا از راهنمایی های پر بارشان بهرهمند ساختند.
آقایان سهیل صدری ، هادی مظفری، غلامرضا بهرهمند و دکتر علی قنبری که هریک به گونه ای در طول تحقیق مرا یاری نمودند.
اساتید محترم گروه زیست‌شناسی آقایان دکتر شریفی، دکتر رستگار پویانی، دکتر قبادی که در این مدت از کلاس درس آنها استفاده بسیار نموده و مطالب فراوانی از آنها آموختم.
دوستان بسیار خوبم خانمها: حدیث زینلی ، زهرا کلهری و آقایان محمد امین حرمشاهی و موسی کهتری.
از دوستان عزیزم در مرکز تحقیقات باروری و ناباروری دانشکده علوم پزشکی کرمانشاه به دلیل همکاری بی دریغ شان در طول انجام این تحقیق تشکر ویژه‌ای دارم.
و با سپاس از دوستان در آزمایشگاه تحقیقاتی بیوشیمی دانشکده علوم پزشکی کرمانشاه و همچنین مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی که همواره مرا شرمنده محبت‌های خود نموده‌اند.
با آرزوی موفقیت برای تمام کسانی که مرا صادقانه در این دوره همراهی کرده و از هیچ کمکی فروگذار نبودند.

تقدیم به

با ارزش ترین گنجینه هستی

خانواده ام

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه **۱**

۱-۱- سرطان ۲

۱-۱- ۱- میزان وقوع سرطان ۴

۱-۱-۲- عوامل موثر در وقوع سرطان ۴

۱-۱-۲-۱- عوامل جغرافیایی و محیطی ۴

۱-۱-۲-۲- سن ۵

۱-۱-۲-۳- استعداد ژنتیکی ابتلا به سرطان ۵

۱-۲- سرطان پستان ۶

۱-۲-۱- انواع کارسینومهای پستانی ۷

۱-۳- اساس مولکولی سرطان ۸

۱-۳-۱- تغییرات فیزیولوژیک سلول برای بروز فنوتیپ بدخیمی ۹

۱-۴- مدل های شکل گیری سرطان ۱۰

۱-۴-۱- مدل خود به خودی سرطان ۱۰

۱-۴-۱- مدل سلول بنیادی سرطانی ۱۱

۱-۵- سلول بنیادی سرطانی ۱۱

۱-۵-۱- منشأ سلول بنیادی سرطانی درون بافت ۱۳

۱-۵-۲- ویژگی های مشترک بین سلول بنیادی سرطانی و سلول بنیادی طبیعی ۱۷

۱-۵-۳- تفاوت سلول بنیادی سرطانی و طبیعی ۱۸

۱-۵-۴- تکوین سلول های بنیادی سرطانی ۲۰

۱-۵-۴-۱- تغییر در کنام سلول های بنیادی سرطانی ۲۱

۱-۵-۴-۲- تغییرات در سطح داخلی سلول بنیادی ۲۲

۱-۵-۴-۲-۱- تغییرات اپی ژنتیکی در سلول بنیادی سرطانی ۲۲

۱-۵-۴-۲-۲- تغییرات ژنتیکی در سلول بنیادی سرطانی ۲۴

۱-۶- درمان سرطان ۲۶

۱-۶-۱ درمان های متداول سرطان ۲۶

۱-۶-۲- درمان تمایزی سرطان ۲۶

۱-۶-۳- سلول های بنیادی سرطانی و درمان سرطان ۲۷

۱-۶-۳-۱- هدف گیری سلول بنیادی ۲۷

۱-۶-۳-۲- انتقال دهنده های دارویی ۲۷

۱-۶-۳-۳ - مهار جایگیری سلول های بنیادی سرطانی ۲۸

۱-۷- جداسازی و شناسایی سلول های بنیادی سرطانی ۲۸

۱-۷-۱- انواع روش های جداسازی سلول بنیادی سرطانی ۳۱

۱-۷-۲- استفاده از محیط کشت های نهادینه جهت تکثیر سلول های بنیادی سرطانی ۳۴

۱-۸- وین کریستین ۳۶
۱-۹- فرضیات تحقیق ۳۸

فصل دوم : مواد و روش ها..... ۳۹
۲-۱- مواد و محلول های آزمایش ۴۰
۲-۲- وسایل اولیه مورد نیاز ۴۶
۲-۳- تجهیزات بنیادی ۴۶
۲-۴- تقسیم بندی مراحل تحقیق ۴۷
۲-۴-۱- رده سلولی MDA- MB231 ..... ۴۷
۲-۴-۲- کشت سلولهای رده MDA-MB231 ..... ۴۸
۲-۴-۲-۱- تحویل سلول به صورت زنده ۴۸
۲-۴-۲-۲- مراقبت روزمره و تعویض محیط کشت ۴۸
۲-۴-۲-۳- پاساژ و حفظ ذخیره سلولی ۴۸
۲-۴-۲-۴- ذخیره سلولها به صورت منجمد ۴۹
۲-۴-۳- شمارش سلولی ۴۹
۲-۴-۴- Doubling time Assy ۵۰
۲-۴-۵- ارزیابی میزان زنده ماندن سلول ها ۵۱
۲-۴-۵-۱- MTT Assay ۵۱
۲-۴-۵-۲- Trypan blue dye exclusion ۵۲
۲-۴-۶- تعیین هویت سلول های مقاوم به دارو با مارکر های سلول های بنیادی ۵۲
۲-۴-۶-۱- استخراج RNA ۵۳
۲-۴-۶-۲- آزمایشRT-PCR ۵۴
۲-۴-۷- Mammosphere Assay ۵۶
۲-۴-۸- بررسی بیان مارکر CD_{44} در اسفیر های بدست آمده ۵۷

فصل سوم: نتایج..... ۵۹
۳-۱- بررسی سلولی سلولهای رده MDA-MB231 ..... ۶۰
۳-۱-۱- بررسی مورفولوژی سلول ها ۶۰
۳-۱-۲-بررسی زمان دو برابر شدن سلول ها ۶۱
۳-۲- تیمار دارویی برای تعیین غلظت بهینه دارو ۶۱
۳-۲-۱- آزمونMTT ۶۱
۳-۲-۲- آزمون Trypan blue dye exclusion ۶۲
۳-۳- تعیین هویت سلول ها پس از تیمار دارویی ۶۲
۳-۴- کشت غیر چسبنده ۶۳
۳-۴-۱- بررسی مورفولوژی سلول ها در کشت غیرچسبنده ۶۳
۳-۴-۲- مقایسه شکل گیری MFU در گروه I وII ۶۳
۳-۴-۳- بررسی درصد MFU بین گروه های I وII ۶۴

۳-۵- تایید سلول های بنیادی سرطانی ۶۴

فهرست شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۱-۱ مدل های شکل گیری سرطان. مدل پیدایش خود به خودی سرطان ۱۰
شکل ۱-۲ مدل های شکل گیری سرطان. مدل سلول بنیادی سرطانی ۱۱
شکل ۱-۳ عملکرد پایه ای سلول بتیادی..... ۱۳
شکل ۱-۴ -۳ منشا احتمالی پیدایش سلول بنیادی سرطانی از سلول بنیادی طبیعی، پیش ساز وتمایز یافته۱۶
شکل ۱-۵ منشا احتمالی سلول بتیادی .از راه الحاق سلول های بنیادی مشتق از مغز استخوان با سلول بنیادی بافتی ۱۷
شکل ۱-۶ مقایسه کنام بین سلول بنیادی طبیعی و سلول بنیادی سرطانی ۲۲
شکل۱-۶ هدف گیری سلول بنیادی سرطانی..... ۲۸
شکل ۱-۷ روش جداسازی FACS ۳۱
شکل ۱-۸ روش جداسازی (MACS)..... ۳۲
شکل ۱-۹ روش جداسازی بر اساس ایجاد محیط کشت نهادینه شده ۳۳
شکل ۱-۱۰ ساختار مولکولی داروی وین کریستین..... ۳۶
شکل ۲-۲- نحوه شمارش سلولی بر روی لام نئوبار..... ۵۰
شکل ۳-۱ رده سلولی MDA-MB231 ..... ۶۹
شکل ۳-۲ نحوه شکل گیری Mammosphere در شرایط کشت غیرچسبنده..... ۷۰
شکل۳-۳ بیان رو نوشت های *Oct 4* ، *Nanog* ، *Sox 2* و *Nucleostemin* در سلول های رده سلولی MDA-MB231 پس از تیمار با داروی وین کریستین. ۷۱
شکل۳-۴ بیان آنتی ژن CD_{44} در Sphere های حاصل از کشت غیرچسبنده..... ۷۲

فهرست جداول و نمودار ها

عنوان صفحه

جدول۱-۱ برخی نشانگرهای سطحی سلول های بنیادی طبیعی و سرطانی ۱۴
جدول ۱-۲مقایسه مسیرهای مولکولی سلول بنیادی طبیعی و سرطانی..... ۲۰
جدول ۲-۱ محتویات کیت استخراج RNA ۴۴
جدول ۲-۲ محتویات کیت RT-PCR ۴۵
جدول ۲-۳ برنامه زمانی دستگاه PCR..... ۵۵
جدول ۲-۴ ویژگی پرایمرهای اختصاصی Oct 4 ، Nanog ، Sox2 ، Noclustemin ، GAPDH ۵۵
جدول۳-۱ تعیین زمان دو برابر شدن رده سلولی MDA-MB231 ..... ۶۵
نمودار۳-۱ تعیین زمان دو برابر شدن رده سلولی MDA-MB231 ..... ۶۵
جدول۳-۲ مقایسه اثر غلظت های متفاوت داروی وین کریستین بر زنده ماندن سلول ها..... ۶۶
نمودار۳-۲ مقایسه اثر غلظت های متفاوت داروی وین کریستین بر زنده ماندن سلول ها..... ۶۶
جدول۳-۳ مقایسه اثر غلظت های متفاوت داروی وین کریستین بر زنده ماندن سلول ها..... ۶۷
نمودار۳ -۳ مقایسه اثر غلظت های متفاوت داروی وین کریستین بر زنده ماندن سلول ها..... ۶۷
جدول۳-۴ بررسی میزان تشکیل MFU در کشت غیرچسبنده..... ۶۸
نمودار۳-۴ بررسی میزان تشکیل MFU درکشت غیرچسبنده..... ۶۸

ABBREVIATIONS

ALL	Acute Lymphoblastic Leukemia
AML	Acute Myeloid Leukemia
ATRA	All-Trans Retinoic Acid
ATCC	American Type Culture Collection
Bcl2	B-Cell Lymphoa2
BCR	Breakpoint Cluster Region
bFGF	basic Fibroblast Growth Factor
BMP	Bone Morphogenetic Protein
BRG1	Brahma-related gene1
BSA	Bovine Serum Albumin
CD	Cluster of Differentiation
CdKI	Cyclin dependent Kinase Inhibitor
CML	Chronic Myeloid Leukemia
CSC	Cancer Stem Cell
CXCR4	C-X-C Chemokine Receptor Type 4
DCI	Ductal Carcinoma Insitu
DCT	Differentiation Cancer Therapy
DEPC	Diethyl Pyrocarbonate
EGF	Epidermal Growth Factor
FACS	Fluorescence Activated Cell Sorting
FBS	Fetal Bovine Serum
FITC	Fluorescein Isothiocyanate
HATs	Histone Acetyl Transferase
HCAM	Homing Associated Cell Adhesion Molecule
HDACs	Histone Deacetylases
IDC	Invasive Ductal Carsinoma
IF	Immune Fluorescent
ILC	Invasive Lobular Carcinoma
LCI	Lobular Carcinoma Insitu
LIF	Leukemia Inhibitory Factor
LIF-R	Leukemia Inhibitory Factor Receptor
MACS	Magnetic Cell Sorting
MFU	Mammosphere Forming Unit
MRP	Multidrug Resistance Protein
NCBI	National Cell Bank of Iran
NEAA	Non-Essential Amino Acid
NOD-SCID	Nonobese Diabetic/Severely Compromised Immune Deficient
OCT4	Octamer-binding Transcription Factor 4
PBS	Phosphate Buffered Saline
PTEN	Phosphatase and Tensin Homolog
RT-PCR	Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction
SHH	Sonic Hedgehog Homolog
TAE	Tris Acetate EDTA
TGF-β	Transforming Growth Factor β
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor

فصل اول

مقدمه

۱-۱- سرطان[1]

سرطان عبارت رایج برای تمامی تومور های بدخیم[2] است که از واژه لاتین Cancer به معنای خرچنگ گرفته شده است ، شاید علت نام گذاری این باشد که سرطان «به هر عضوی که بچسبد مانند خرچنگ به طور سرسختانه آنرا اشغال می کنند.»(Rabbins *et al*., 2005)

بحث درباره سرطان با طرح پرسش های جامعی چون، تومور چیست؟ آیا تومور معادل سرطان است؟ و در نهایت سرطان چیست؟ همراه است. در تعاریفی جامع تر گفته می شود که واژه تومور معادل آماس یا تورم است و تومور در حقیقت یک ضایعه توپر است که به شکل یک تورم یا آماس توسط رشد غیر طبیعی سلول ها شکل می گیرد(Rabbins *et al*., 2005).

نئوپلاسم[3] معادل واژه تومور، در علم پزشکی است. نئوپلاسم توده غیرطبیعی بافتی است که در نتیجه فرایند نئوپلازی[4] ایجاد می شود. نئوپلازی به تکثیر غیرطبیعی و خارج از کنترل سلول ها گفته می شود. بنابراین اگر پدیده نئوپلازی در درون بافت طبیعی رخ دهد حاصل آن ایجاد یک نئوپلاسم یا همان تومور است. نئوپلاسم های شکل گرفته در درون بافت براساس ویژگی های متفاوت و متمایزی که دارند به دو نوع خوش خیم[5] و بد خیم که نوع بدخیم همان سرطان است دسته بندی می شوند با وجود اینکه تومور های خوش خیم سرطانی نیستند اما می توانند سبب بروز مشکلاتی شوند به طوری که می توانند رشد بسیار زیادی داشته و در نتیجه چنین رشدی بر ارگان ها و بافت های مجاورشان فشار وارد کنند. اما این به این معنی نیست که می توانند به درون بافت های دیگر وارد شوند زیرا آن ها فاقد قدرت تهاجم[6] به بافت های مجاور هستند. همچنین آنها

[1] Cancer
[2] Malignant tumors
[3] Neoplasm
[4] Neoplasia
[5] Benign
[6] Invasion

قادر به انتشار به بخش های دیگر بدن نیستند. این تومور ها هرگز زندگی فرد را تهدید نمی کنند، ویژگی هایی که در تومور های بدخیم آشکارا دیده می شود.(Rabbins *et al*., 2005)

سرطان زمانی ایجاد می شود که سلول ها در یک ناحیه از بدن شروع به رشد خارج از کنترل می کنند. انواع بسیاری سرطان وجود دارد اما همه آن ها توسط رشد خارج از کنترل سلول های غیر طبیعی ایجاد می شوند. رشد سلول سرطانی از رشد سلول طبیعی متفاوت و متمایز است. این سلول ها به جای ورود به مرحله مرگ همچنان به رشد خود ادامه می دهند و سلول های غیر طبیعی جدیدی را تولید می کنند. سلول های سرطانی همچنین می توانند به درون بافت های دیگر هجوم برند، فرایندی که سلول های طبیعی قادر به انجام آن نیستند. رشد خارج از کنترل[1] و تهاجم به بافت های دیگر عواملی هستند که از یک سلول ، سلول سرطانی می سازند. سلول های سرطانی اغلب به بخش های دیگر بدن نیز مهاجرت می کنند جایی که سلول ها شروع به رشد و ایجاد تومور های جدید می کنند که در نهایت جایگزین بافت طبیعی خواهد شد.این ویژگی متاستاز[2] نامیده می شود. متاستاز مهم ترین ویژگی تومورهای بدخیم است که معمولا در مراحل انتهایی بیماری اتفاق می افتد. در طی این مرحله سلول ها از تومور اولیه جدا شده وپس از تهاجم به بافت های مجاور وارد رگ های لنفاوی و خونی شده سپس به واسطه سیستم گردش خون در سراسر بدن گردش کرده و با ورود به بافت های طبیعی دیگر آنها را درگیر

می سازد. بافت طبیعی درگیر در فرایند متاستاز می تواند مغز، ریه، غدد لنفاوی، کبد و استخوان باشد(Hanahan *et al*., 2000).

نام گذاری تومور ها متفاوت و بر اساس نوع سلول های درگیر در بیماری است. از طرفی نام گذاری تومورهای بدخیم از خوش خیم متفاوت می باشد. به عنوان مثال اگر تومور بدخیم ایجاد شده از سلول های اپی تلیالی[3] مشتق شده باشد به تومور بدخیم ایجاد شده کارسینوما[4] گفته می شود.

اگر سلول های مزانشیمی[5] و بافت همبند[6] در شکل گیری سرطان در گیر شوند به تومور بدخیم ایجاد شده

[1] Uncontrolled growth
[2] Metastasis
[3] Epithelial cells
[4] Carsinoma
[5] Mesenchymal cells
[6] Connective tissue

(نئو پلاسم) بدخیم ایجاد شده سارکوما[1] گفته می شود. در صورت درگیری سلول های خونی لینفوما[2] و لوکمیا[3] ایجاد می شود. در مقایسه، نام گذاری تومور های خوش خیم کمی ساده تر بوده وتنها استفاده از پسوند oma به همراه نام بافت درگیر برای نام گذاری کافی است. مانند کندروما[4] ، تومور خوش خیمی که غضروف را درگیر می سازد. در این میان استثنا هایی وجود دارد مانند نام گذاری برخی سرطان ها که از پسوند oma استفاده شده است ملانوما[5] و سمینوما[6](Rabbins *et al*., 2005).

۱-۱- ۱- میزان وقوع سرطان

در برخی بررسی ها، احتمال ابتلا هر فرد به سرطان به صورت میزان وقوع آن در جامعه و میزان مرگ و میر ناشی از آن مطرح است. شایع ترین تومورها در مردان سرطان های پروستات، ریه و کولورکتال[7] هستند از طرفی در زنان سرطان های پستان[8]، ریه و کولورکتال شیوع بیشتری دارند(Jemol *et al*., 2011).

۱-۱-۲- عوامل موثر در وقوع سرطان

۱-۱-۲-۱- عوامل جغرافیایی و محیطی

تفاوت مشخصی در میزان وقوع و نیز مرگ ناشی از انواع سرطان ها در سراسر دنیا وجود دارد. برای مثال میزان مرگ ناشی از کارسینوم معده در هر دو جنس زن و مرد در ژاپن هفت تا هشت برابر بیشتر از امریکاست. در مقابل میزان مرگ ناشی از سرطان ریه در امریکا کمی بیش از دو برابر ژاپن است و در بلژیک این میزان بیشتر از امریکاست. مرگ ناشی از سرطان پوست که بیشتر به علت ملانوم است در نیوزیلند شش برابر شایع تر از ایسلند است که به احتمال زیاد این امر به تفاوت میزان در معرض نور خورشید قرار گرفتن مربوط است(Hanahan *et al*., 2000).

[1] Sarcoma
[2] Lymphoma
[3] Leukemia
[4] Chondroma
[5] Melanoma
[6] Seminoma
[7] Colorectal cancer
[8] Breast cancer

علاوه بر این خطرات ابتلا ممکن است مربوط به شیوه زندگی فردی باشد. برای مثال افزایش وزن و چاقی ممکن است علت ۱۴ درصد مرگ ناشی از سرطان در مردان و ۲۰ درصد آن در زنان باشد. مصرف زیاد الکل به تنهایی احتمال بروز کارسینوم های اوروفارنکس[1](به غیر از لب)، حنجره و مری و نیز به واسطه ایجاد سیروز الکلی احتمال بروز کارسینوم های کبد را بالا می برد. سیگار کشیدن در ایجاد سرطان های دهان، حلق، حنجره، مری، لوزالمعده و مثانه موثر شناخته شده ولی از همه مهم تر علت بیش از ۹۰ درصد مرگ ناشی از سرطان ریه می باشد(Anand *et al*., 2008).

۱-۱-۲-۲- سن

سن اثر مهمی بر احتمال ابتلا به سرطان دارد. اغلب کارسینوم ها در سال های بعد زندگی (بیشتر یا مساوی ۵۵ سالگی) اتفاق می افتند سرطان علت اصلی مرگ در بین زنان ۴۰ تا ۷۹ سال و مردان ۶۰ تا ۷۹ سال است(Rabbins *et al*., 2005).

۱-۱-۲-۳- استعداد ژنتیکی ابتلا به سرطان

امروزه مشخص شده است که علت انواع زیادی از سرطان ها از جمله شایع ترین آن ها نه تنها اثرات محیطی بلکه استعدادهای ارثی است. مثلا سرطان ریه در اغلب موارد مشخصاً به سیگار کشیدن مربوط است گر چه نشان داده شده که مرگ و میر ناشی از سرطان ریه در بستگان غیر سیگاری بیماران سرطان ریوی ، چهار برابر بیشتر از بستگان غیر سیگاری افراد شاهدمی باشد(Rabbins *et al*., 2005).

استعداد ژنتیکی سرطان را می توان سه دسته تقسیم کرد.

دسته اول سندرم های سرطان ارثی اتوزومال غالب[2] هستند. سندرم های سرطان ارثی شامل چندین سرطان شناخته شده است که به ارث بردن یک ژن جهش یافته منفرد می تواند خطر ابتلا به سرطان را به شدت افزایش دهد. استعداد ابتلا به این تومورها یک شکل ارثی اتوزومال غالب را نشان می دهد. جهش به ارث

[1] Oropharinx carsinoma
[2] Dominance Atosomal

رسیده معمولاً جهش نقطه ای در یک الل منفرد از ژن سرکوب کننده تومور[1] می باشد. رتینوبلاستوم[2] کودکی مهم ترین مثال این مورد است. دسته دوم سندرم های نقص ترمیم DNA هستند. علاوه بر حالت های پیش سرطان ارثی غالب، گروهی از حالت های مستعد کننده سرطان مجموعاً به صورت نقص در ترمیم DNA و در نتیجه ناپایداری DNA مشخص می شوند. این حالت عموماً به شکل اتوزومال مغلوب[3] به ارث می رسد. مانند گزرودرما پیگمنتوزا[4] که به صورت ناپایداری ژنتیکی[5] ناشی از نقص در ژن های ترمیم کننده DNA مشخص می شود. در نهایت آخرین مورد سرطان های خانوادگی است. به غیر از سندرم های ارثی مستعد کننده سرطان در برخی خانواده ها ممکن است سرطان با شیوع بیشتر و بدون یک شکل مشخص انتقال وراثت دیده شود. ویژگیهای مختلفی شامل، سن پایین به هنگام شروع سرطان، وجود تومور در دو یا چند نفر از بستگان نزدیک فرد مبتلا و گاهی تومورهای دو طرفه یا چند گانه سرطان های خانوادگی را مشخص می کنند(Rabbins *et al*., 2005).

۱-۲- سرطان پستان[6]

در بیشتر موارد سلول های سرطانی توده توموری ایجاد می کنند.بعضی سرطان ها مانند سرطان خون قادر به ایجاد تومور نبوده و تنها بواسطه گردش سلول های سرطانی خون در سراسر بدن رشد کرده و در نهایت ارگان های دیگر را درگیر می سازند. از جمله سرطان هایی که در بافت های توپر ایجاد می شود سرطان پستان است(Rabbins *et al*., 2005).

سرطان پستان نوعی تومور بدخیم بوده که از سلول های پستان منشا می گیرد. این توده بد خیم گروهی از سلول های سرطانی است که به بافت مجاور خود وارد شده تهاجم موضعی ایجاد کرده و یا به ناحیه مشخصی از بدن انتشار یافته وسبب ایجاد متاستاز می شود. این بیماری تقریبا به طور کامل در زنان رخ می دهد اما مردان نیز می توانند به آن مبتلا شوند. بیشتر توده های پستانی سرطانی نیستند و به صورت خوش خیم می

[1] Tumor suppressor gene
[2] Retinoblastoderm
[3] Recessive Atosomal
[4] Xeroderma pigmentosum
[5] Genetic instability
[6] Breast cancer

باشند. مانند: تغییرات فیبروسیستیک[1] این تغییربه صورت شکل گیری بافت اسکار(فیبروز) به همراه کیسه پر از مایع (سیست) بروز می کند. تغییرات فیبروسیستیک می تواند منجر به درد و آماس پستان شود، و این حالت پیش از عادت ماهیانه ایجاد می شود. از دیگر توده های خوش خیم پستانی می توان به فیبروآدنوما[2] و پاپیلومای داخل مجرایی اشاره کرد.این تومور ها حاصل رشد غیرطبیعی سلول هستند، اما سرطانی و بدخیم نبوده و به ارگان های خارج از پستان منتشر نمی شوند. پی گیری تومور های خوش خیم اهمیت داشته چرا که خانم هایی که در چنین شرایطی قرار دارند ریسک بالاتری برای پیشرفت سرطان پستان دارند (Rabbins *et al*., 2005).

۱-۲-۱- انواع کارسینومهای پستانی

کارسینوم های پستانی به کارسینوم های غیر مهاجم یا درجا[3] و کارسینوم های مهاجم[4] تقسیم می شوند.کارسینوم درجا از نظر خاستگاه، براساس شباهت فضاهای درگیر به مجاری یا لبولها، به انواع مجرایی[5] و لبولی[6] تقسیم می‌شود(Rabbins *et al*., 2005).

کارسینوم مجرایی درجا[7] معمول ترین سرطان پستان غیر مهاجم است. این کارسینوم که کارسینوم درون مجاری نیز نامیده می شود به این معناست که سلول های سرطانی درون مجاری توانایی انتشار از دیواره های مجاری به طرف بافت های مجاور پستان را ندارند و در محل ایجاد شده باقی می مانند. تقریبا تمام زنان که در مراحل ابتدایی بیماری آنها تشخیص داده می شود، می توانند درمان شوند(Rabbins *et al*., 2005).

کارسینوم درجای لبولی[8]کارسینوم درجای لبولی که به صورت نئوپلازی لبولی نیز نامیده می شود به عنوان سرطان پستان غیر مهاجم نام گذاری می شود.کارسینوم مهاجم مجرایی[9] معمول ترین و فراوانترین نوع سرطان پستان است این نوع سرطان در مجاری پستان ایجاد می شود سپس از دیواره مجاری جدا شده به

[1] Fibrocyctic
[2] Fibroadenoma
[3] In Situ Carcinoma
[4] Invasive Carcinoma
[5] Ductal Carcinoma in Situ
[6] Lobular Carcinoma in Situ
[7] In Situ Ductal Carcinoma
[8] In Situ Lobular Carcinoma
[9] Invasive Ductal Carcinoma

درون بافت چربی پستان رشد می کند در چنین زمانی توانایی انتشار به محل های دیگر در بدن را از راه خون و لنف دارد..کارسینوم مهاجم لبولاری[1] این سرطان از غدد تولید کننده شیر شروع می شود مانند کارسینوم مهاجم مجرایی قادر به انتشار به سایر قسمت های بدن است.علاوه بر کارسینوم مجرایی انواع دیگر کارسینوم های مهاجم شامل مدولری[2] کلوئیدی[3] موسینی[4] ، توبولی[5] و کارسینوم مهاجم پاپیلری[6] است (Rabbins *et al*., 2005).

۱-۳- اساس مولکولی سرطان

سرطان زایی چه در بافت خونی و چه در بافت های توپر مانند پستان ایجاد شود فرایندی چند مرحله ای در دو سطح فنوتیپی و ژنتیکی است. یک نئوپلاسم بدخیم چندین نشانه فنوتیپی شامل رشد فزاینده، تهاجم موضعی و توانایی در ایجاد متاستازهای دوردست را دارد. این ویژگی ها که مرحله به مرحله کسب می شود پیشرفت تومور[7] نامیده می شود. در سطح مولکولی، پیشرفت تومور از تجمع ژنتیکی آسیب هایی که گاهی به وسیله نقص در ترمیم DNA به وجود می آیند، حاصل می گردد.

انواعی از جهش های ژنتیکی ممکن است به وسیله فعالیت عوامل محیطی مانند مواد شیمیایی[8]، پرتوتابی[9] یا ویروس ها ایجاد شوند یا ممکن است در رده سلول زایا به ارث برسد. محیط شامل هر گونه نقص اکتسابی به وجود آمده از عوامل برون زاد یا محصولات درون زاد متابولیسم سلولی است.

چهار کلاس ژن های تنظیم کننده طبیعی، شامل پروتوانکوژن[10] های محرک رشد، ژن های سرکوب کننده مهار رشد تومور، ژن هایی که مرگ برنامه ریزی شده سلول[11] را تنظیم می کنند و ژن های درگیر در ترمیم DNA اهداف اصلی جهش ژنتیکی هستند(Hanahan *et al*., 2000).

[1] Invasive Lobular Carcinoma
[2] Medullary
[3] Colloid
[4] Musinous
[5] Tubular/Cribri Form
[6] Papillary
[7] Tumor progress
[8] Chemical reagent
[9] Radiation
[10] Proto-oncogene
[11] Apoptosis