دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی

موضوع:

اثر سینرژیسم داروهای ضد التهابی ایبوپروفن وایندومتاسین در رده ی سلول سرطانیK562 در شرایط آزمایشگاهی

اساتید راهنما:

دکتر مهدی محمدزاده

دکتر یعقوب پاژنگ

نگارش:

افسانه باپیری

۱۳۹۳شهریور

حق چاپ وتکثیر مطالب این پایان نامه برای دانشگاه ارومیه محفوظ است.

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

دو بیکران بی همتا و زلال اندیش و دو سرو قامتی که کوهر وجودشان، نسیم کلامشان و باران محبتشان را همواره بی هیچ منت و ادعا مرهمی نمودند بر

خستگی هایم و با صبر و پشتیبانی همیشگی خود در تمامی دوران زندگی ام امید موفقیت را در من زنده نگاه داشتند.

بهترین درس ها را در زمان سختی آموختم و دانستم:

صبور بودن یک ایمان است و خویشتن داری یک نوع عبادت

فهمیدم ناکامی معنی تاخیر است، نه شکست

و خندیدن یک نیایش است...

تقدیر و تشکر:

"به نام تنهایی که هیچ کس را تنها نمی گذارد"

پروردگار متعال را سپاسگذارم که به این حقیر فرصت داد که در سایه ی لطفش انجام این تحقیق را به پایان برسانم.

اینک بر خود وظیفه می دانم که از زحمات تمامی عزیزانی که مرا در اجرای هر چه بهتر این پایان نامه یاری نموده اند، از صمیم قلب تقدیر و تشکر کنم.

از پدر و مادر بسیار عزیز و گرانقدرم و برادر و خواهر دلسوزم، که همواره مشوق و پشتیبان من در تمامی جنبه های زندگی ام به ویژه تحصیل بوده اند، نهایت تشکر را دارم.

از اساتید راهنمای محترم به پاس راهنمایی هایشان در طول اجرای این مطالعه، کمال تشکر را دارم: استاد راهنمای محترم و ارجمندم جناب آقای دکتر محمدزاده که با حمایت هایشان همواره یاری رسانم بوده اند. استاد گرانقدر، مهربان و بزرگوارم جناب آقای دکتر پاژنگ که در مسیر این تحقیق دلسوزانه همراهم بوده اند و از راهنمایی های علمی و عملی شان همواره برخوردار بوده ام. همچنین از اساتید محترمی که زحمت داوری پایان نامه اینجانب را به عهده گرفتند، جناب آقای پروفسور حیدری و جناب آقای دکتر جامعی و همچنین نماینده تحصیلات تکمیلی جناب آقای دکتر اکبری دیلمقانی نهایت تشکر را دارم.

همچنین از تمامی کارشناسان و کارکنان گروه زیست شناسی برای تمامی امکاناتی که در اختیار من قرار دادند، سپاسگذارم.

از همکلاسی و همراه عزیز و دوست خوبم خانم باستانی و دوستان و هم خوابگاهی های مهربانم که در این مدت همراه و پشتیبانم بوده اند، کمال تشکر را دارم و از خداوند منان توفیق روز افزون و موفقیت در همه ی مراحل زندگی شان را خواستارم.

افسانه باپیری

فهرست مطالب:

چکیده فارسی..... ۱

فصل اول: مقدمه

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- سرطان..... ۴

۱-۲-۱- تاریخچه..... ۴

۱-۲-۲- سرطان چیست؟..... ۴

۱-۲-۳- نگرش‌های جدید در مورد سرطان..... ۵

۱-۲-۴- عوامل ایجاد کننده سرطان..... ۶

۱-۲-۵- علایم و عوارض عمومی و اختصاصی سرطان..... ۶

۱-۲-۶- نام گذاری انواع سرطان و تومور..... ۷

۱-۲-۶-۱- تومور خوش خیم..... ۷

۱-۲-۶-۲-. تومورهای بدخیم..... ۷

۱-۲-۷- پیش‌گیری و درمان..... ۸

۱-۳- سرطان خون..... ۸

۱-۳-۱- خون..... ۸

۱-۳-۲- سرطان خون ۹

۱-۳-۲-۱- لوسمی حاد ۱۰

۱-۳-۲-۱-۱- لوسمی لنفوبلاستیک حاد (ALL)..... ۱۰

۱-۳-۲-۱-۲- لوسمی میلوبلاستیک حاد (AML) ۱۱

۱-۳-۲-۲- لوسمی مزمن..... ۱۲

۱-۳-۲-۲-۱- لوسمی لنفوبلاستیک مزمن (CLL)..... ۱۲

۱-۳-۲-۲-۲- لوسمی میلوبلاستیک مزمن (CML)..... ۱۳

۱-۳-۳- مهم‌ترین علایم لوسمی..... ۱۴

۱-۳-۴- درمان لوسمی..... ۱۴

۱-۳-۵- سلول‌های K562..... ۱۴

۱-۴- آپوپتوز ۱۵

۱-۴-۱- کلیاتی در مورد مرگ برنامه‌ریزی شده..... ۱۵

۱-۴-۲- تغییرات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در آپوپتوز..... ۱۶
۱-۴-۳- تفاوت آپوپتوز و نکروز..... ۱۷
۱-۴-۴- مسیرهای آپوپتوزی..... ۱۸
۱-۴-۴-۱- مسیر خارجی یا آپوپتوز القا شده توسط گیرنده‌های مرگ..... ۱۹
۱-۴-۴-۲- مسیر داخلی یا مسیر میتوکندریایی آپوپتوز ۲۰
۱-۴-۵- آپوپتوز و سرطان..... ۲۱
۱-۵- التهاب..... ۲۲
۱-۵-۱- کلیاتی در مورد التهاب..... ۲۲
۱-۵-۲- انواع التهاب..... ۲۳
۱-۵-۳- فاکتورهای پیش‌التهابی..... ۲۴
۱-۵-۴- التهاب و سرطان..... ۲۴
۱-۵-۵- COX-2 و پروستاگلاندین‌ها..... ۲۷
۱-۵-۶- عملکرد پروستاگلاندینها..... ۳۱
۱-۵-۷- ارتباط COX و سرطان..... ۳۱
۱-۵-۸- داروهای ضد التهابی و سرطان..... ۳۲
۱-۶- سینرژیسم..... ۳۶
۱-۶-۱- اثر سینرژیسمی..... ۳۶
۱-۷- بخش هفتم: هدف از پژوهش..... ۳۷

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه‌ی سلولهای سرطانی K562 و کشت آنها..... ۳۸
۲-۱-۱- کشت سلولهای سرطانی K562..... ۳۸
۲-۱-۲- شمارش تعداد سلولها و میزان زنده بودن آنها با تریپانبلو (Viability)..... ۳۹

۲-۲- آزمون سنجش خاصیت ضد توموری ایبوپروفن و ایندومتاسین با روش MTT ۴۰
۲-۲-۱- آزمون MTT ۴۰
۲-۲-۲- اساس بررسی سیتوتوکسی با استفاده از MTT ۴۱
۲-۲-۳- تهیه‌ی غلظت‌های مختلف داروهای ایبوپروفن و ایندومتاسین ۴۱
۲-۲-۴- سنجش MTT جهت بررسی سیتوتوکسی داروهای ضدالتهابی غیر استروئیدی ۴۱
۲-۳- بررسی IC50 داروهای ایبوپروفن و ایندومتاسین توسط نرم افزار compusyn و تهیه‌ی داروهای ترکیبی ۴۳
۲-۳-۱- روش MTT جهت بررسی خاصیت ضد توموری داروهای ترکیبی تهیه شده ۴۳
۲-۴- بررسی سینرژیسم توسط نرم‌افزار Compusyn ۴۵
۲-۵- فریز کردن سلولها و ذخیرهسازی آنها در تانک ازت (۱۹۶- درجهی سانتیگراد) ۴۶
۲-۶- دفریز کردن سلول‌ها و استفاده‌ی مجدد از سلولها ۴۷
۲-۷- آزمایش سنجش میزان آپوپتوز و نکروز سلولهای K562 به روش ژل الکتروفورزDNA ۴۹
۲-۷-۱- تیمار سلولهای K562 با غلظتهای مختلف دارو ۴۹
۲-۷-۲- استخراج DNA برای سلولهای تیمار داده‌شده ۵۰
۲-۷-۳- الکتروفورز DNA ۵۱
۲-۸- رنگ آمیزی DAPI برای بررسی مرگ سلولی ۵۳
۲-۹-تجزیه و تحلیل داده‌ها ۵۴

فصل سوم: نتایج

۳-۱- نتایج آزمونMTT ۵۵
۳-۱-۱- فعالیت سلول‌کشی غلظت‌های مختلف ایبوپروفن ۵۵

۳-۱-۲- فعالیت سلول‌کشی غلظتهای مختلف ایندومتاسین..... ۵۷

۳-۲- فعالیت سلول‌کشی داروهای ترکیبی..... ۶۰

۳-۳- نتایج حاصل از بررسی اثر سینرژیسم با استفاده از نرم افزارCompusyn ۶۲

۳-۴- نتایج مربوط به سنجش میزان آپوپتوز سلولهایK562 ..... ۶۳

۳-۴-۱- بررسی آپوپتوز داروهای ضد التهابی به روش ژل الکتروفورز DNA..... ۶۳

۳-۴-۲- بررسی شکل ظاهری سلولهای K562 تیمار شده با داروهای ضدالتهابی..... ۶۴

۳-۴-۳-بررسی تغییرات مورفولوژیکی سلولهای K562 با رنگ‌آمیزی DAPI..... ۶۶

فصل چهارم: بحث و نتیجه‌گیری

۴-۱- اثر ضد سرطانی ایبوپروفن و ایندومتاسین..... ۶۷

۴-۱-۱- اثر ایبوپروفن روی رشد سلولی..... ۶۷

۴-۱-۲- اثر ایندومتاسین روی رشد سلولی..... ۶۸

۴-۲- بررسی اثر سینرژیسمی داروهای ضدالتهابی..... ۶۹

۴-۳- بررسی آپوپتوز در سلولهای K562..... ۷۱

۴-۴- نتیجه‌گیری..... ۷۳

پیشنهادات..... ۷۴

منابع ۷۵

چکیده انگلیسی..... ۷۸

فهرست شکل‌ها

شکل۱-۱. لوسمی لنفوئیدی حاد (ALL)..... ۱۱

شکل۱-۲. لوسمی میلوئیدی حاد (AML)..... ۱۲

شکل ۱-۳. لوسمی لنفوئیدی مزمن (CLL)..... ۱۲

شکل ۱-۴. الف: کروموزوم فیلادلفیلا.ب: لوسمی میلوئید مزمن(CML)..... ۱۳

شکل ۱-۵. تفاوت آپوپتوز و نکروز..... ۱۸

شکل۱-۶. مسیر داخلی و خارجی آپوپتوز..... ۲۱

شکل ۱-۷. مکانیسم‌های درگیر در گریز از آپوپتوز و سرطانزایی..... ۲۲

شکل ۱-۸. خلاصه‌ای از مکانیسم‌هایی برای درگیری التهاب در پیشرفت سرطان..... ۲۶

شکل ۱-۹. مسیر سنتز پروستاگلاندین‌ها..... ۳۰

شکل۱-۱۰. ارتباط سیکلواکسیژناز و سرطان..... ۳۲

شکل ۱-۱۱. داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی..... ۳۳

شکل ۱-۱۲. اثر مهاری NSAID..... ۳۵

شکل ۲-۱. الف) سلول‌های K562، ب) فلاسک‌های کشت سلول درون انکوباتور CO_2..... ۳۷

شکل۲-۲. الف: ریختن محلول MTT در پلیت ۹۶ خانه‌ای ب: دستگاه الیزا ریدر..... ۳۹

شکل ۲-۳. تانک‌ازت..... ۴۸

شکل ۲-۴. دستگاه الکتروفورز DNA..... ۵۳

شکل۳-۱. بررسی وضعیت مرگ سلولی، سلول‌های K562 تحت تیمار با داروهای ضد التهابی بعد از۷۲ ساعت ۶۴

شکل ۳-۲. شکل ظاهری سلول‌های K562 بعد از ۲۴ ساعت (بزرگنمایی×۴۰)..... ۶۵

شکل ۳-۳. شکل ظاهری سلول‌های K562 بعد از ۴۸ ساعت (بزرگنمایی×۴۰)..... ۶۵

شکل ۳-۴. شکل ظاهری سلول‌های K562 بعد از ۷۲ ساعت (بزرگنمایی×۴۰).....۶۶

شکل ۳-۵. سلول‌های K562 رنگ‌آمیزی شده با DAPI زیر میکروسکوب فلوئورسانس.....۶۶

فهرست جداول

جدول۱ -۱.سیگنال پیام رسانی رسپتورها پروستانوئید.....۲۹

جدول۲-۱. نسبت مواد در آماده سازی بافر TBE..... ۵۲

جدول ۳-۱. میزان CI برای غلظت‌های مختلف داروی ترکیبی توسط Compusy..... ۶۳

فهرست نمودارها

نمودار۲-۱. نمودار نشان دهنده‌ی اثر سینرژیسم داروها.....۴۵

نمودار ۳-۱. مقایسه‌ی میزان سلول کشی غلظت‌های مختلف ایبوپروفن بر روی سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۲۴ ساعت..... ۵۶

نمودار ۳-۲. مقایسه‌ی میزان سلول کشی غلظت‌های مختلف ایبوپروفن بر روی سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۴۸ ساعت.....۵۶

نمودار ۳-۳. مقایسه‌ی میزان سلول کشی غلظت‌های مختلف ایبوپروفن بر روی سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۷۲.....۵۷

نمودار ۳-۴. مقایسه‌ی میزان سلول‌کشی غلظت‌های مختلف ایندومتاسین برروی سلول‌های K562 توسط سنجشMTT بعد از ۲۴ ساعت.....۵۸

نمودار ۳-۵. مقایسه‌ی میزان سلول کشی غلظت‌های مختلف ایندومتاسین بر روی سلول‌های K562 توسط سنجشMTT بعد از ۴۸ ساعت.....۵۹

نمودار ۳-۶. مقایسه‌ی میزان سلول کشی غلظت‌های مختلف ایندومتاسین بر روی سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۷۲ ساعت.....۵۹

نمودار ۳–۷. اثر وابسته به دوز غلظت‌های مختلف داروی ترکیبی بر روی بقای سلولی در سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۲۴ ساعت..... ۶۱

نمودار ۳–۸. اثر وابسته به دوز غلظت‌های مختلف داروی ترکیبی بر روی بقای سلولی در سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۴۸ ساعت..... ۶۱

نمودار ۳–۹. اثر وابسته به دوز غلظت‌های مختلف داروی ترکیبی بر روی بقای سلولی در سلول‌های K562 توسط سنجش MTT بعد از ۷۲ ساعت..... ۶۲

نمودار ۳–۱۰. نمودار شاخص ترکیبی (CI) داروی ترکیبی در غلظت‌های مختلف توسط نرم افزار Compusyn..... ۶۳

چکیده

سیکلواکسیژناز یک آنزیم کلیدی برای تولید پروستاگلاندین‌ها می‌باشد، که دارای سه ایزوفرم مختلف COX-2, COX-1 و COX-3 می‌باشد. گزارش شده است که میزان COX-2 در سرطان‌های مختلف افزایش پیدا می‌کند. مهارگرهای COX-2 موجب القای آپوپتوز و مهار رشد سلول‌های سرطانی می‌شوند. بنابراین COX-2 ممکن است یک هدف مولکولی برای درمان سرطان باشد. برای این منظور ابتدا سلول‌های K562 کشت داده شد؛ سپس غلظت‌های مختلف از داروهای مذکور تهیه و خواص ضدتوموری آن‌ها در ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از تیمار به روش MTT سنجیده شد. درمرحله‌ی بعد باتوجه به IC_{50} داروها، ترکیبی از دو دارو در غلظت‌های مختلفی تهیه شد و اثر ضد سرطانی آنها نیز توسط روش MTT مورد سنجش قرار گرفت و غلظت سینرژیسمی آن با نرم‌افزار Compusyn بررسی گردید. همچنین برای بررسی آپوپتوز از الکتروفورز DNA و رنگ‌آمیزی DAPI استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که IC50 بدست آمده برای ایبوپروفن و ایندومتاسین به ترتیب برابر با ۳۱۵ و ۱۳۲۷ میکرو مول بر لیتر گردید. داروهای ترکیبی نیز به طور معنی‌داری موجب کاهش بقا و افزایش آپوپتوز می‌گردند و تنها در غلظت ۸۰۰ دارای اثر سینرژیسمی هستند. نتایج حاصل از الکتروفورز و رنگ آمیزی سلول‌ها نیز نشان داد که این داروها دارای اثر آپوپتوزی بودند. از نتایج بدست آمده می‌توان چنین استنباط کرد که اثر مهاری ایبوپروفن، ایندومتاسین و همچنین داروی ترکیبی بر روی سلول‌های K562 وابسته به زمان و دوز می‌باشد، که بیشترین اثر مهاری در ۷۲ ساعت بعد از تیمار و بالاترین غلظت مشاهده شد. با توجه به میزان IC50، ایبوپروفن نسبت به ایندومتاسین در غلظت بیشتری موجب کاهش بقای ۵۰ درصد از سلول-های K562 می‌شود. داروهای ترکیبی نیز نقش موثرتری در کاهش رشد سلولی دارند. بر اساس نتایج، داروهای یاد شده ممکن است برای پیشگیری و درمان لوسمی میلوئیدی مزمن موثر واقع شوند.

کلید واژه‌ها: داروهای ضد التهابی ، ایبوپروفن و ایندومتاسین، خاصیت ضدتوموری، رده‌ی سلولی K562.

فصل اول

مقدمه و کلیات

فصل اول: مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

در سی سال گذشته، پژوهشگران پیشرفت‌های قابل توجه‌ای در شناخت علل بیولوژیکی (ویروس‌ها و باکتری‌ها)، بیوشیمیایی (موادشیمیایی)، بیوفیزیکی (اشعه‌های یونی و غیریونی) سرطان‌های انسان نموده‌اند (پارسا، ۱۳۹۰). سرطان، دومین عامل برجسته‌ی مرگ در کشورهای توسعه یافته و مسؤل یک پنجم مرگ ومیرهاست (گرفمی و همکاران، ۱۳۸۸). سرطان‌زایی توسط تغییرات غیرقابل برگشت ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی شروع می‌شود و سپس توسط بی‌نظم شدن بیان ژن‌ها در سلول‌های آغازی و در نتیجه تغییر تقسیم سلولی، سلول‌های سرطانی وارد مرحله‌ی پیشرفت می‌شوند. پیشرفت سرطان یک فرایند چند مرحله‌ی است، در طی آن تغییرات ژنتیکی، انواع ویژه‌ای از فاکتورهای رشد را ایجاد می‌کنند و موجب تبدیل سلول‌های نرمال به سلول‌های سرطانی بدخیم می‌شود. رشد بدخیم توسط چند تغییر کلیدی شناخته شده است: خود کفایی سیگنال‌های رشد، غیرحساس بودن به سیگنال‌های ضد رشد، فرار از آپوپتوز، افزایش آنژیوژنز و متاستاز. این فرایندهای پیچیده توسط یک سری از سیگنال‌های مختلف ایجاد می‌شود (Lu *et al.*, 2006). امروزه بیش از ۱۰۰ نوع مختلف سرطان در دنیا شناخته شده است که از میان آنها لوسمی[1] یا سرطان خون یکی از انواع شایع و مهلک سرطان‌ها است. سرطان خون حدود ۸ درصد کل سرطان‌های جمعیت انسانی را شامل و به عنوان پنجمین سرطان شایع در جهان شناخته می‌شود. لوسمی، سرطان بافت‌های خونساز بدن، شامل مغز استخوان و دستگاه لنفاوی بوده که توسط سلول‌های سفید خون و لنف به وجود می‌آید. سلول‌های سفید خونی معمولا در صورت نیاز بدن، به طریقی منظم و کنترل شده رشد می‌کنند و تقسیم می‌شوند. اما در بیماری لوسمی در این روند اختلال ایجاد شده و رشد سلول‌های خونی از کنترل خارج می‌شوند (زند و همکاران، ۱۳۸۹). سرطان‌های خون با توجه به منشأ سلولی به میلوئید و لنفوئید و با توجه به سیر بیماری به مزمن و حاد تقسیم‌بندی می‌شوند. بر این اساس سرطان خون به چهار گروه طبقه‌بندی می‌گردد، که شامل: لوسمی لنفوبلاستیک حاد[2] (ALL)، لوسمی میلوئید حاد[3] (AML)، لوسمی لنفوبلاستیک مزمن[4] (CLL) و لوسمی میلوئید مزمن [5](CML) است (حجازی و همکاران، ۱۳۸۹).

1. Leukemia
2. Acute Lymphoblastic Leukemia
3. Acute Myeloid Leukemia
4. Chronic Lymphoblastic Leukemia
5.Chronic Myeloid Leukemia

تاکنون چندین رده‌ی سلولی از لوسمی میلوئیدی که یکی از آن‌ها K562 حاصل شده است. این سلول‌ها از نوع غیرچسبنده و گرد بوده که تشابه زیادی به دو گروه متفاوت اریتروسیت‌ها (Andersson *et al*., 1979) و گرانولوسیت‌ها (Klein *et al*., 1976) را دارند. لوسمی میلوئیدی مزمن (CML) به دلیل یک جابه‌جایی دو طرفه بین ژن ab1 بر روی کروموزوم ۹ و ژن bcr بر روی کروموزوم ۲۲ در سلول‌های بنیادی خونی چند توان[۶] ایجاد می‌شود (O'Dwyer, 2002). یکی از ویژگی‌های سلول‌های سرطانی توانایی‌شان در گریز از آپوپتوز می‌باشد که نتیجه‌ی آن بلوکه کردن مسیر سیگنالی مرگ سلولی است. هدف مهم پیشرفت داروهای ضدسرطانی آسان کردن آپوپتوز در سلول‌های نئوبلاستیک[۷] است (Meng *et al*., 2006).

التهاب یک فرایند بیولوژیکی ضروری همراه با حذف فاکتورهای ناقص، ترویج ترمیم بافت‌های آسیب دیده و برقراری حافظه می‌باشد که میزبان را قادر می‌سازد در برخورد دیگر سریع‌تر و اختصاصی‌تر عمل کند (Stables *et al*., 2011). اگر التهاب در اثر اختلال در مسیر کنترل بر طرف نشود و ادامه داشته باشد موجب آشفتگی در ریز محیط[۸] سلول‌ها، تغییرات ترجمه‌ای در پروتئین‌های حیاتی درگیر در چرخه‌ی سلولی، تعمیر DNA، آپوپتوز و تغییر در ژن‌های مرتبط با سرطان می‌شود (Eiro *et al*., 2012). اکنون پیشرفت سرطان را به سلول‌های التهابی و انواع واسطه‌های دیگر مانند سایتوکاین‌ها، کموکاین-ها و آنزیم‌ها که روی هم رفته یک ریزمحیط التهابی را فراهم می‌کنند، نسبت می‌دهند. در هر حال مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که بیماری‌های التهابی مزمن مرتبط با افزایش خطر سرطان هستند (Lu *et al*., 2006). افزایش سیکلواکسیژناز[۹] ۲ (COX-2) در سرطان‌های مختلف مشاهده شده است. COX-2 یکی از ایزوفرم‌های COX که در بیوسنتز پروستاگلاندین‌ها نقش دارد و تولید پروستاگلاندین‌ها در محیط تومور تقسیم، تحرک و آنژیوژنز را تحریک می‌کنند (Eiro *et al*., 2012). بنابراین این آنزیم‌ها به عنوان یک هدف مولکولی برای درمان سرطان در نظر گرفته می‌شوند (Nakamura *et al*., 2004). داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی[۱۰] (NSAID) دارای اثر ضد تقسیمی و پیش آپوپتوزی از طریق مهار COX-2 در سلول‌های مختلف سرطانی هستند (Chao *et al*., 2005). اثر پیش آپوپتیک NSAID از طریق کاهش مولکول‌های ضد آپوپتوز القا شده توسط COX-2 می‌باشد (Nakamura *et al*., 2004). این داروها مانند آسپرین، خطر لوسمی (Kasum *et al*., 2003)، سرطان روده و سایر سرطان‌ها را کاهش می‌دهند (Hwang *et al*., 2002). همچنین یافته‌های بدست آمده از مطالعات محققان نشان می‌دهد که داروهای ضدالتهابی از طریق مهار آنزیم COX و همچنین مسیر مستقل از COX می‌توانند

1.Totipotent Blood Stem Cells
2.Neoplastic
3.Microinviroment
4. Cyclooxygenase-2
5. nonsteroidal anti - inflammatory drugs

در درمان و پیشگیری سرطان موثر باشند مثلا سلکوکسیب[11] مهارگر انتخابی COX-2 القا کننده آپوپتوز در سلول‌های سرطانی پروستات از طریق یک هدف دیگری نسبت به COX-2 است (Nakanishi *et al*., 2001).

۱-۲- سرطان

۱-۲-۱- تاریخچه

قدیمی‌ترین توصیف سرطان را در نوشته‌های مصری می‌توان یافت که در آن به غده یا تومور سینه اشاره شده است و مربوط به ۱۵۰۰ تا ۳۰۰۰ سال پیش از میلاد مسیح است. قدیمی‌ترین نمونه‌ی سرطانی هم حدود ۱۶۰۰ تا ۱۹۰۰ سال قبل از میلاد در بازمانده‌ی جمجمه‌ی زنی مشاهده شده است. اسکلت مومیایی شده‌ای در پرو، آثاری از سرطان پوست را نشان می‌دهد که مربوط به ۲۴۰۰ سال پیش است. شواهد نشان می‌دهد که احتمالاً بقراط یونانی اولین کسی است که این بیماری را تشخیص داده، تفاوت غده‌ی خوش‌خیم و بدخیم را توصیف نموده و آن را نام گذاری کرده است و چون غده‌ی سرطانی و رگ‌های خونی اطراف آن به خرچنگ شباهت دارد، به همین دلیل بقراط اسم این بیماری را خرچنگ می‌گذارد که به یونانی کارکینوس[12] نامیده می‌شود و در ترجمه‌ی آن به انگلیسی carcinos نوشته شده و امروزه هم carcinoma نامیده می‌شود (شیخ‌نژاد، ۱۳۸۹).

۱-۲-۲- سرطان چیست؟

سرطان یک بیماری ژنتیکی است که ۲۷۷ نوع بیماری را شامل می‌شود، در نتیجه تقسیم غیرقابل کنترل سلول‌ها می‌باشد و عمدتاً توسط فاکتورهای محیطی ایجاد می‌شود (پارسا، ۱۳۹۰). پس از بیماری‌های قلبی عروقی که سالانه، مرگ و میر افراد زیادی را به خود اختصاص می‌دهد، سرطان دومین علت مرگ و میر در کشورهای توسعه یافته است (Go *et al*, 2001). مرگ و میر ناشی از سرطان در طول ۱۰۰ سال گذشته سیر صعودی داشته است. طبق مطالعات صورت گرفته سرطان عامل ۱۳ درصد مرگ و میرها بوده و از هر ۳ مرد یک نفر و از هر ۴ زن یک نفر قبل از ۷۵ سالگی بطور مستقیم به آن مبتلا خواهند شد (Grusoy *et al*., 2006). سرطان یک بیماری است که روابط و نظم بین سلولی را مختل می کند و باعث اختلال در عملکرد بیان ژن های حیاتی و کلیدی می شود. این بی‌نظمی‌های مولکولی در چرخه تقسیم سلولی اثر دارند و منجر به ناکامی در تمایز یافتن سلول‌ها می‌شوند. چهار دسته از ژن‌های کلیدی که در هدایت سلول‌های سرطانی نقش دارند،

1.Celecocsib
2. karkinos

شامل ژن‌های توده‌زا[13] (انکوژن ها)، ژن‌های مهارکننده توموری، ژن‌های ترمیم کننده و ژن‌های مرگ برنامه ریزی شده هستند. چنان‌چه یک جهش ژنتیکی در آن‌ها تولید شود، یاخته‌های طبیعی از مسیر خود خارج می‌شوند و تحت تاثیر جریان‌های جدید قرار می‌گیرند که به سوی سلول‌های سرطانی شدن پیشرفت می کنند (پارسا، ۱۳۹۰). سرطان‌زایی یک فرایند چند مرحله‌ای است که در پی آسیب‌های ژنتیکی یا اپی‌ژنتیکی وارد شده به سلول‌های مستعد ایجاد می‌شود. مرحله اول، قرار گرفتن سلول‌های طبیعی در معرض عوامل سرطان‌زای شیمیایی، فیزیکی و یا میکروبی می‌باشد. مرحله دوم با افزایش تکثیر و یا طولانی شدن عمر سلول‌های اولیه نسبت به سلول‌های طبیعی همراه است که احتمال ایجاد جهش‌های آندروژن و تماس با عوامل آسیب رسان به DNA را افزایش می‌دهد و بالاخره مرحله سوم که مرحله پیشرفت تومور نامیده می‌شود، با تکثیر بیشتر سلول‌های تغییر شکل یافته اولیه، افزایش حجم تومور، ایجاد ناهمگونی در میان کلونی‌های تشکیل شده و متاستاز (رگ‌زایی) همراه است (کبیری و همکاران، ۱۳۸۹). بالاترین درصد سرطان‌ها به ترتیب عبارت است از سرطان شش، سرطان معده، سرطان روده، سرطان جگر، سرطان سینه در خانم‌ها و سرطان پروستات درآقایان و بالاترین درصد سرطان در کودکان، خون، مغز و غدد لنفاوی است (پارسا، ۱۳۹۰).

۱-۲-۳- نگرش های جدید در مورد سرطان

سرطان یک بیماری نیست بلکه مجموعه‌ای متجاوز از یک صد بیماری گوناگون می‌باشد که تنها وجه اشتراک‌شان رشد بی رویه وخارج از نظم سلول‌های بدن می‌باشد. بیماری‌های سرطانی اگرچه جزو بیماری‌های غیر واگیردار طبقه‌بندی می‌شوند و از فردی به فرد دیگر قابل انتقال نیستند ولی در حقیقت یک بیماری خانوادگی به حساب می‌آیند. سیر طبیعی بیماری‌های سرطانی به طور کلی و به خصوص در مراحل مقدماتی بسیار کند است. غالب بیماری‌های سرطانی در مراحل اولیه فاقد علایم بالینی هستند و تنها در برنامه‌های غربالگری می‌توان از وجود آن‌ها اطلاع پیدا کرد. بیماری‌های سرطانی از لحاظ طبقه-بندی جزو بیماری‌های چند علیتی[14] به حساب می‌آیند و برای ایجاد هر کدام از آن‌ها مجموعه‌ای از عوامل گوناگون لازم است که ترکیب و اهمیت آن‌ها در زمان‌ها و مکان‌های متفاوت تا حدودی فرق می‌کند. تحقیقات در سرطان‌شناسی امروزه به ما کمک کرده است که نه فقط عملکرد بیماری سرطان را بهتر بفهمیم بلکه بهترین راه حل معالجه این بیماران را فراهم سازیم (ناصری، ۱۳۸۴).

1.Oncogene
2. Multi factorial

۱-۲-۴- عوامل ایجاد کننده سرطان

در محیط زیست دنیای امروز بیش از یک صد هزار نوع ترکیب‌های شیمیایی وجود دارد که تنها ۳۵۰۰۰ تا از آنها آنالیز شده-اند و نزدیک به سیصد تا از آن‌ها تولید سرطان می‌کنند و هنوز ۶۵۰۰۰ تا از ترکیب های شیمیایی باقیمانده در طبیعت آزمایش نشده‌اند. ۹۳ درصد سرطان‌ها زاییده محیط زیست است، ۳۰ درصد از دودسیگار، ۳۵ درصد از رژیم غذایی، ۲۵ درصد از بیماری‌های عفونتی و ۱۰ درصد از اشعه‌های یونی و غیریونی. بسیاری از عوامل محیطی که تولید سرطان می‌کنند قابل جلوگیری هستند مانند سیگار کشیدن، مشروبات الکلی، هوای آلوده، رژیم غذایی ناسالم، عدم تحرک و بیماری‌های عفونی در صورتی که ازدیاد سن و ژنتیک خانوادگی قابل تغییر وجلوگیری نیست (پارسا، ۱۳۹۰).

سرطان افزون بر ترکیب‌های شیمیایی، پرتوهای آفتاب، امواج کوتاه و ویروس‌ها و باکتری‌ها هم در تولید سرطان‌ها نقش مهمی را دارند. عوامل خطر بیماری‌های سرطانی را می‌توان به دو گروه تقسیم کرد: یکی عوامل مربوط به میزبان مثل سن و جنس ساختار ژنتیکی که تقریبا غیرقابل دستکاری و تغییر هستند و دیگری عوامل خطر محیطی و خارجی مثل دود سیگار، پرتوهای یون‌ساز ، مواد شیمیایی، سمی و غیره که می‌توان آنها را پس از شناسایی یا کاملا از محیط خارج کرد و یا مواجه انسان با آن‌ها را به حداقل کاهش داد. در حال حاضر بیماری‌های سرطانی محدود به بعضی جوامع پیشرفته نبوده و در تمام جهان به صورت یک مشکل بهداشتی قابل توجه درآمده‌اند، اگرچه در جوامع در حال توسعه هنوز در سایه‌ی بیماری‌های عفونی، عوارض ناشی از سوء تغذیه و خطرات محیط زیست قرار دارند (ناصری، ۱۳۸۴).

۱-۲-۵- علائم و عوارض عمومی و اختصاصی سرطان

فاصله زمانی دوره پنهانی یا خفته بین مواجهه اولیه با مواد سرطان‌زا و ظهور علائم بالینی سرطان ممکن است ۱۵ تا ۲۵ سال و در برخی موارد تا ۴۰ سال به طول انجامد. لذا توصیف تغییرات بیوشیمیایی و مولکولی درگیر در پیشرفت سرطان مشکل است. با وجود این، در طول ۵۰ سال گذشته پیشرفت اساسی در جهت درک فرایند پیچیده سرطان‌زایی حاصل شده، هر چند که راز پیچیده آن هنوز هم به طور کامل گشوده نشده است (کبیری و همکاران، ۱۳۸۹).

علائم عمومی سرطان شامل: کاهش ناگهانی وزن، تب، خستگی، درد و تغییرات پوستی می‌باشد. ممکن است هیچ یک از این علائم، ناشی از سرطان نباشد و ناهنجاری‌های دیگری دلیل بروز این عوارض باشد، اما دانستن این عوارض کمک می‌کند که توجه بیش‌تری به آن‌ها داشته باشیم و در اولین فرصت برای انجام آزمایش‌های بیش‌تر و دقیق‌تر به پزشک مراجعه کنیم (شیخ‌نژاد، ۱۳۸۹).

علائم اختصاصی سرطان نیز شامل: تغییر در مدفوع ادرار، زخم‌هایی که بهبود نمی‌یابد، خون‌ریزی‌های غیرعادی، برجستگی‌ها

و دانه‌های متراکم(غده)، سوء هاضمه و مشکل بلعیدن غذا، خال و زوائد دیگر و سرفه‌های مداوم و گرفتگی صدا می‌باشد (شیخ‌نژاد،۱۳۸۹).

۱-۲-۶- نام گذاری انواع سرطان و تومور

بافت‌های سرطانی به ۶ گروه تقسیم می‌شوند: خون، غدد لنفاوی، سارکوما (بدخیمی یاخته‌های بافت همبندی)، کارسینوما (بدخیمی یاخته‌های بافت پوششی)، سلول‌های جنینی، سلول‌های جنسی (پارسا، ۱۳۹۰).

تومورها را بر اساس خصوصیات بافت‌شناسی، سرعت رشد تومور و درجه بدخیمی آن به دو دسته تقسیم‌بندی می‌کنند: تومورهای خوش‌خیم و بدخیم.

۱-۲-۶-۱- تومورهای خوش‌خیم

تومورهای خوش‌خیم به آهستگی رشد کرده و به بافت‌های دیگر تهاجم نمی‌برند. تومورهای خوش‌خیم به ندرت تهدید کننده حیات بیمار هستند زیرا تنها در محدوده خاصی از بدن رشد می‌کنند و به همین دلیل اندازه این تومورها محدود می‌باشد، مگر اینکه در فضای محدودی مانند جمجمه رشد کنند که در این صورت سریعاً می‌توان آن را جراحی کرد. این تومورها قبل از اینکه به تومور بدخیم تبدیل شود باید از بین بروند (فخرایی، ۱۳۸۹). با وجود اعمال فشار این نوع تومورها بر بافت‌های مجاور، امکان توقف رشد آن‌ها نیز وجود دارد. سلول‌های توموری خوش‌خیم معمولاً به سلول‌های بافتی که از آن مشتق شده‌اند شباهت دارند. با برداشتن کامل این نوع تومورها به کمک عمل جراحی، احتمال برگشت آن‌ها بسیار اندک می‌باشد (Mianababi *et al*., 2004).

۱-۲-۶-۲- تومورهای بدخیم

تومورهای بدخیم به صورت تصاعدی رشد کرده و اگر از رشد آن‌ها ممانعت به عمل نیاید، به روش‌های مختلف باعث مرگ بیمار می‌گردند. سلول‌های تشکیل‌دهنده این نوع تومورها از سلول‌های تومورهای خوش‌خیم تمایز یافتگی کمتری دارند. تومورهای بدخیم غالباً به سایر بافت‌ها انتشار می‌یابند و در نقاط گوناگونی از بدن پراکنده می‌شوند، به همین دلیل حیات افراد مبتلا را به مخاطره می‌اندازند. انتشار تومورهای بدخیم با تهاجم مستقیم به بافت‌های مجاور و تشکیل تومورهای ثانویه در اندام‌هایی که دور از محل تومور اولیه باشند، صورت می‌گیرد (فخرایی، ۱۳۸۹).

۱-۲-۷- پیش گیری و درمان

سرطان‌ها از آغاز پیدایش بشر وجود داشته‌اند، ولی در چند دهه اخیر، پیشرفت‌هایی در علوم پزشکی مولکولی رایانه توانسته است که نه تنها علل و ساز و کارهای این بیماری مهلک بررسی شوند، بلکه در تشخیص زودرس و معالجه آن عملکرد بهتری داشته باشند. در حال حاضر، بیش از ۵۰ درصد بیماری‌های سرطانی معالجه می‌شوند، به ویژه اگر این بیماری‌ها در مراحل آغازین تشخیص داده شوند. بیماری‌های سرطانی با چند روش: جراحی، شیمی‌درمانی، پرتودرمانی، ایمنودرمانی، ژن‌درمانی و یا تلفیقی از آن‌ها معالجه می‌شوند (پارسا، ۱۳۹۰). این بیماری در صورت عدم درمان کشنده است، بنابراین تشخیص و درمان زود هنگام آن از اهمیت به‌سزایی برخوردار می‌باشد (فخرایی، ۱۳۸۹).

۱-۳- سرطان خون

۱-۳-۱- خون

خون بافتی است که در آن انواع مختلفی از سلول‌ها جهت انجام عملکردهای خاص با هم در ارتباطند و به طور فیزیکی به هم مرتبط نیستند. در واقع سلول‌های خونی در یک مایع به صورت سوسپانسیون می‌باشند که پلاسما نامیده می‌شود. در نمونه‌ی از خون، ۵۵ درصد حجم خون را پلاسما و ۴۵ درصد بقیه را سلول‌ها تشکیل می‌دهد. پلاسما خودش ۹۰ درصد آب است و ۱۰ درصد باقی‌مانده شامل موادی مانند اکسیژن، کربن‌دی‌اکسید، مواد مغذی، هورمون‌ها، مواد زائد متابولیسم، پروتئین‌های مهم برای لخته خون و پاسخ‌های ایمنی و الکترولیت‌های مورد نیاز برای تعادل آب و عملکرد غشای سلولی می‌باشد. جمعیت سلول‌های خونی نیز شامل چندین ترکیب متفاوت می‌باشد: اریتروسیت یا گلبول قرمز خون، لکوسیت یا گلبول سفید خون و پلاکت‌ها. برخلاف سایر سلول‌ها مانند سلول‌های ماهیچه‌ای و مغز، سلول‌های خونی نیمه‌ی عمر کوتاهی دارند. سلول‌های خونی کهنه، می‌میرند و از باقی مانده‌ی آن‌ها ترکیبات مهمی بازگردانی می‌شوند و مواد زائد حذف می‌شود. زیرا بدن سلول خونی جدید را می‌سازد و جایگزین می‌کند.

تشکیل و پیشرفت سلول‌های خونی در مغز استخوان، ماده‌ی اسفنجی داخل استخوان انجام می‌شود که به این فرایند هماتوپویزیس[15] گفته می‌شود. همه‌ی سلول‌های خونی از سلول‌های پایه[16] که در مغز استخوان قرار دارند، منشا می‌گیرند. سلول‌های حاصل از تقسیم سلول پایه شامل دو دسته‌ی میلوئیدی و لنفوئیدی می‌باشد. سلول پایه‌ی میلوئیدی شامل

1.hematopoiesis
2.stem cells