دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم جانوری

پایان‌نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست شناسی گرایش بیوشیمی

عنوان

بررسی اثرات مهار رشد و کشندگی سلول مشتقاتی از خانواده پیرانوپیریدین‌ها بر روی رده ی سلولی K562 لوسمی میلوئید انسان

استادان راهنما

دکتر مجید مهدوی

دکتر محمدرضا رشیدی

استاد مشاور

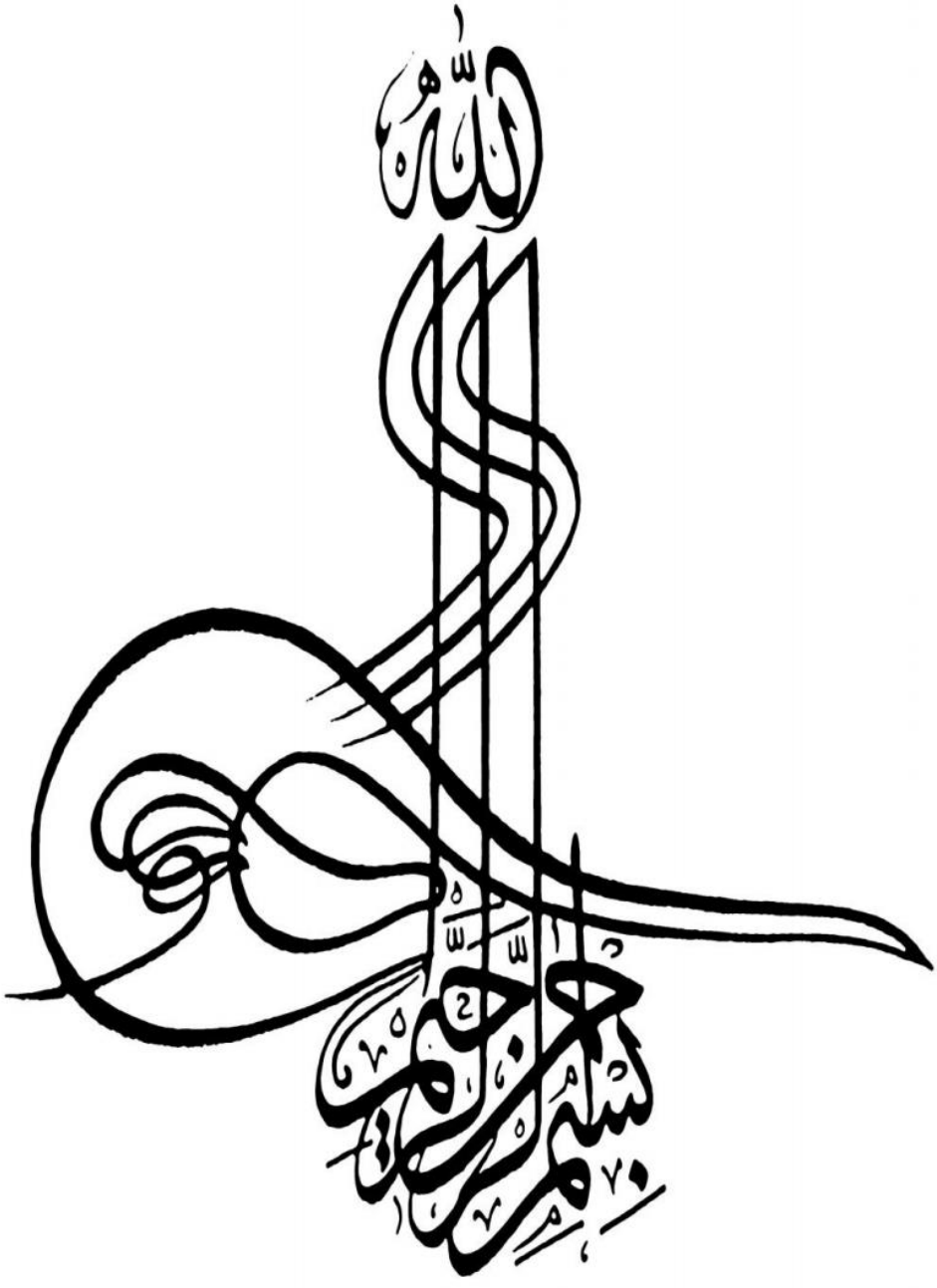
دکتر محمد علی حسینپور فیضی

پژوهشگر

محمد رهنمای پردول

بهمن ماه ۱۳۹۱

مرکز تحقیقات ریزفناوری دارویی دانشگاه علوم پزشکی تبریز


الله
بسم الله الرحمن الرحيم

تقدیم به...

پدر و مادرم

که از نگاهشان صلابت، از رفتارشان محبت و از صبرشان ایستادگی آموختم.

تقدیم به تک تک اعضای خانواده‌ام که

لحظات ناب باور بودن، لذت و غرور دانستن، جسارت خواستن، عظمت رسیدن و تمام تجربه‌های یکتا و زیبای زندگیم، مدیون حضور سبز آن‌هاست.

و تقدیم به ...

همه کسانی که لحظه‌ای بعد انسانی و وجدانی خود را فراموش نمی‌کنند و بر آستان گران سنگ انسانیت سر فرود می‌آورند و انسان را با همه تفاوت‌هایش ارج می‌نهند.

ای هستی بخش، وجود مرا بر نعمات بی کرانت توان شکر نیست ذره ذره وجودم‌برای تو و نزدیک شدن به تو می‌تپد.

الهی مرا مدد کن تا دانش اندکم نه نردبانی‌باشد برای فزونی تکبر و غرور، نه حلقه‌ای برای اسارت و نه دست مایه‌ای برای تجارت،بلکه گامی باشد برای تجلیل از تو و متعالی ساختن زندگی خود و دیگران.

حال‌که توفیق جمع آوری و تهیه این مجموعه را یافته‌ام بر خود واجب می‌دانم از تمامی‌عزیزانی که در طی انجام این پژوهش از راهنمایی و یاری‌شان بهره‌امند گشته‌ام تشکر وقدردانی کنم و برای ایشان از درگاه پروردگار مهربان آرزوی سعادت و پیروزی نمایم.

در ابتدا صمیمانه‌ترین تقدیرها تقدیم به خانواده عزیز و مهربانم که همواره حامی‌و مشوقم بوده‌اند و پیمودن روزهای سخت و آسان زندگی‌ام بدون دعای خیر، و برکت‌وجودشان غیرممکن بود.

از اساتید راهنمای ارجمند که با سعه‌صدر و صبوری مرا راهنمایی نموده و با ارائه نظرات سازنده و رهنمودهای بی دریغشان در پیشبرد این پایان نامه سعی تمام مبذول داشتند، کمال تشکر را دارم.

از داور محترم که زحمت بازخوانی و داوری این مجموعه را به‌عهده

داشتند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از کلیه اساتید گران‌قدر گروه که در دوران تحصیل از محضرشان کسب فیض نمودم، تشکر می‌نمایم.

و در نهایت از تمامی دوستان و هم کلاسی‌های عزیزم که در طول این مدت افتخار آشنایی و مصاحبت با آن‌ها را داشتم، به پاس محبت‌های بی دریغشان سپاسگزارم.

نام خانوادگی: رهنمای پردول **نام**: محمد

عنوان پایان‌نامه: بررسی اثرات مهار رشد و کشندگی سلول تعدادی مشتق‌های از خانواده خانواده پیرانو پیریدین ها بر روی رده‌ی سلولی K562 اریترولوکمی انسان

استادان راهنما: دکتر مجید مهدوی و دکتر محمدرضا رشیدی

استاد مشاور: دکتر محمدعلی حسین‌پورفیضی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: زیست شناسی – گرایش بیوشیمی

دانشگاه: تبریز **دانشکده**: علوم طبیعی **تاریخ فارغ التحصیلی**: بهمن ماه ۱۳۹۱ **تعداد صفحات**: ۱۱۸

کلید واژه‌ها: پیرانوپیردین‌ها، مهار رشد ، آپاپتوز، لوسمی

چکیده: لوسمی سرطانی است که از سلول های مغز استخوان شروع شده و اثر آن در خون تجلی می یابد. انواع مختلفی از سرطان خون گزارش شده است که در این میان می‌توان به لوسمی میلوئید حاد (AML) و لوسمی میلوئید مزمن(CML)اشاره کرد. در دهه‌های گذشته اکثر روش‌های درمان سرطان خون شامل شیمی درمانی و پرتو درمانی بوده است. با این حال شیمی درمانی با مشکلاتی همراه است که از آن جمله می توان به اثرات جانبی ترکیبات درمانی اشاره کرد. مقاومت به دارو مشکل بالقوه‌ای دیگر است. این موارد لزوم ارائه‌ی ترکیبات دارویی جدید که اثرات جانبی کمتر و پتاسیل تومور کشی بیشتری داشته باشند را برای درمان سرطان توجیه می‌کند. در این میان می‌توان به استفاده از مشتقات خانواده‌ی پیرانوپیردینی اشاره کرد. پیرانوپیردین‌ها ترکیباتی هستند که حاصل جوش خوردن حلقه پیران و پیردین می‌باشندپیرانوپیردین حاصل اتصال حلقه پیران با پیردین است و این مشتقات آنالوگ‌های فضایی فلونوییدها هستند مشتقات متنوعی از آنها سنتز شده و خصوصیت های دارویی متفاوتی از قبیل ضدباکتریای، ضد قارچی، ضد جلبکی، ضد التهابی، خاصیت مهارکنندگی آنزیم اینتگراز آنزیم ویروس HSV-1 وخاصیت ضد سرطانی برخی از این مشتقات برروی رده های سلولی سرطانی متفاوت به اثبات رسیده است. این ترکیبات می توانند روی سلول‌های مختلف اثرات سلول کشی داشته باشند و یا سبب توقف چرخهٔ سلولی و رشد سلولی شوند. در مطالعه حاضر اثر برخی از مشتقات پیراپیردینی بر رشد، زیستایی، آپاپتوز و سلولی K562 به عنوان مدلی برای CML مورد مطالعه قرار گرفته است. به این منظور رده‌ی سلولی K562 انسانی پس از کشت، تحت تأثیر

ترکیبات پیرانو پیربدینی(TPM.P , P.P,N.P.P ,4-C.P.P) در غلظت و زمان‌های مختلف قرار گرفت. از آزمون دفع رنگ تریپان بلو وMMT برای بررسی اثرات مهار رشدی و زیستایی این ترکیبات استفاده شد آزمون قطعه قطعه سدن DNA ،تشخیص آپاپتوز با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنس،بررسی چرخه سلولی با رنگ آمیزی پروپیدیوم یودید (PI)، بادستگاه فلوسایتومتری و تست ا Annexin-V/PI با استفاده از دستگاه فلوسایتومتریمورد مطالعه قرار گرفت. داده‌های بدست آمده با استفاده از آزمون آماری student-t-test و نرم افزار excel 2010 مورد ارزیابی قرار گرفت و داده‌های با ارزش $P<0.05$ معنا دار در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از مطالعات حاضر نشان داد که: ۱) مشتقات پیرانوپیردینی مورد نظر سبب مهار رشد وابسته به غلظت و زمان در سلول‌های K562 می‌شوند، ۲) این مشتقات پیرانوپیردینی باعث کاهش زیستایی و القاء آپاپتوز بصورت وابسته به غلظت و زمان می‌شوند، ۳) این ترکیبات دارای فعالیت ضد توموری ضعیف تا متوسط بوده و IC50 آنها از ۱۲۰ تا ٤٠ میکرومولار می‌باشد و در بین آنها ۸-(٤- کلروبنزیدین)-۲- آمینو-٤- (٤-کلروفنیل)-٥، ٦ ،۷، ۸ – تتراهیدرو-٦- فنیل- H٤ –پیرانو- -[۳،۲-c] پیردین -۳- کربونتریل [4-C.P.P] بالاترین فعالیت را نشان داد. ٤) مطالعه ساختار-فعالیت نشان داد ترکیبات دارای استخلاف (بطور ویژه گروه الکترون کشنده) روی حلقه بنزن و حلالیت بیشتر اثر مهار رشدی بیشتری اعمال می‌کنند. با توجه به اثرات مهار رشد، و آپاپتوز توسط مشتقات پیرانوکرومنی در رده‌ی سلولی K562، این ترکیبات را می‌توان به عنوان عوامل جدید و موثر برای مطالعات بیشتر در درمان لوسمی پیشنهاد کرد.

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱تعریف سرطان ۱

۱-۲تنظیم چرخه سلولی در یوکاریوت‌ها..... ۳

۱-۲-۳نقطه محدود کننده ٤

۱-۲-۲مرحله G2 ..... ٥

۱-۲-۳نقاط بازرسی سلول..... ۸

۱-۲-۳-۱نقطه بازرسی G1 ..... ۸

۱-۲-۳-۲نقطه بازرسی G2 ..... ۹

۱-۲-۳-۳نقطه بازرسی دوک میتوزی..... ۹

۱-۲-٤بازدارنده‌های بازدارنده سایکلین-کینازها (CKI)..... ۱۰

۱-۳آپوپتوز..... ۱۱

۱-۳-۱مورفولوژی آپوپتوز..... ۱۲

۱-۳-۲مکانیسم آپوپتوز..... ۱٤

۱-۳-۲-۱مسیرهای سیگنالینگ خارج سلولی..... ۱٥

۱-۳-۲-۲مسیر درون سلولی آپوپتوز..... ۱٦

۱-۳-۲-۳مسیر گرانزیمB(GrB) ۱۸

۱-۳-۳کاسپازها..... ۲۰

۱-۳-۳-۱کاسپازها و مرگ سلولی..... ۲۰

۱-٤اصول طبقه بندی سرطان..... ۲۱

۱-٤-۱سرطان خون یا لوکمی..... ۲۲

۱-٤-۱-۲ لوکمی میلوئید مزمن (CML)..... ۲۳

۱-٤-۱-۳ مراحل و میزان بقای بیماران مبتلا به CML..... ۲٦

۱-٤-۱-٤ آناتومیBcr-Abl ۲۷

۱-٤-۱-٤-۱مکانیسم‌های مسیر پیام رسانی میتوژنیک.Bcr-Ab..... ۲۹

۱-٤-۱-٤-۲ فعال سازی مسیر پیام رسانی میتوژنیک ۳۱

۱-٤-۱-٤-۳ رده سلولی K562 ..... ۳٤

۱-٤-۲ راهکارهای درمانی لوکمی..... ۳۵

۱-٤-۲-۱ شیمی درمانی..... ۳۵

۱-٤-۲-۲ پیوند مغز استخوان..... ۳٦

۱-٤-۲-۳ درمان با اینترفرون آلفا..... ۳۷

۱-٤-۲-٤ تمایز درمانی ۳۷

۱-٤-۲-۵ هدف درمانی..... ۳۸

۱-٤-۲-٥-۱ سلول‌های بنیادی.....۳۹

۱-٤-۲-٥-۲ درمان با siRNA.....٤۱

۱-٥ سرطان سینه.....٤۲

۱-٥-۱ چهار کلاس مولکولی اصلی توسط بیان ژن برجسته می باشند این دسته بندی توسط پروآ انجام شده است.....٤۳

۱-٥-۱-۱ سرطان های سینه basal-liKe.....٤۳

۱-٥-۱-۲ سرطان های سینه luminal-A.....٤۳

۱-٥-۱-۳ سرطان های سینه luminal-B.....٤۳.

۱-٥-۱-٤ سرطان های دارای HER-2.....٤۳

۱-٥-۲رده سلولی MCF-7.....٤٤

۱-٦ ترکیبات هتروسیکلیک.....٤٥

فصل دوم : مواد و روش‌ها

۲-۱مواد..... ٥۰

۲-۲ روش‌ها..... ٥۲

۲-۲-۱ کشت سلولی..... ٥۲

۲-۲-۱-۱وسایل لازم کشت سلولی..... ٥۲

۲-۲-۱-۲مواد مورد نیاز کشت سلول..... ۵۳

۲-۲-۱-۲-۱ آنتی بیوتیک‌های پنی سیلسن و استرپتومایسین..... ٥٤

۲-۲-۱-۲-۲ سرم جنین گاوی..... ٥٤

۲-۲-۱-۲-۳ محلول تریپسین/ EDTA..... ٥٥

۲-۲-۱-۳ روش کشت سلولی..... ٥٥

۲-۲-۱-۳-۱یخ زدایی سلول‌ها..... ٥٥

۲-۲-۱-۳-۲ مراحل تعویض محیط کشت سلول‌ها..... ٥٦

۲-۲-۱-۳-۳ ذخیره کردن سلول‌ها در بانک سلول..... ٥٧

۲-۲-۱-۳-۳-۱ مواد مورد نیاز جهت یخ زده کردن سلول‌ها..... ٥٧

۲-۲-۱-۳-۳-۲ روش ذخیره‌ی سلول‌ها در بانک سلول..... ٥٧

۲-۲-۳ آزمون دفع رنگ تریپان بلو..... ٥٩

۲-۲-۳-۱ تهیه ی رنگ تریپان بلو..... ٥٩

۲-۲-۳-۲ هموسایتومتر..... ٦٠

۲-۲-۳-۳ شمارش سلول‌ها توسط لام هموسایتومتر..... ٦١

۲-۲-۳-٤ بررسی اثرات ترکیبات پیرانوپیردینی بر روی رشد و زیستایی سلول‌هایK562 با استفاده از آزمون دفع رنگ تریپان بلو..... ٦٢

۲-۲-٤ بررسی اثرات پیرانوپیردین‌ها بر رشد و زیستایی سلول های K562 و MCF-7با آزمون MTT..۹۲

۲-۲-٤-۱ مواد لازم..... ٦۳

۲-۲-٤-۲ تهیه محلول MTT ٦۳

۲-۲-٤-۳ تهیه محلول DMSO و سورنسون بافر..... ٦۳

۲-۲-٥ روش انجام آزمایش..... ٦٤

۲-۲-٦ تشخیص آپاپتوز با استفاده از آزمون ریخت شناسی، بیوشیمیایی و فلوسایتومتری..... ٦٥

۲-۲-٦-۱ مطالعه آپاپتوز با استفاده از میکروسکوپ فلوروسنس..... ٦٦

۲-۲-٦-۱ تهیه‌ی محلول آکریدین اورنج/ اتیدیوم برماید..... ٦٦

۲-۲-٦-۲ بررسی آپاپتوز توسط فلوسایتومتری با رنگ آمیزی پروپیدیوم یودید.(PI) ٦۷

۲-۲-٦-۲- ۱ روش آماده سازی و انجام رنگ آمیزی PI ٦۷

۲-۲-٦-۳ بررسی آپاپتوز توسط فلوسایتومتری با Annexin-V/PI.....٦۸

۲-۲-٦-۳-۱ روش آماده سازی و انجام Annexin-V..... ۷۰

۲-۲-۷ آزمون قطعه قطعه شدن DNA..... ۷۱

۲-۲-۷-۱ الکتروفورز ژل آگارز..... ۷۱

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱ نتایج..... ۷٤

۳-۱-۱ اثرات مشتقات پیرانوپیردینی بر رشد رده‌ی‌های سلولی K562 و MCF-7 ..... ۷٤

۳-۱- ۲ اثرات مشتقات پیرانوپیردین برروی شکل ظاهری سلول‌های سرطانی K562 و MCF-7 ..... ۸۱

۳-۱-۳ اثر پیرانوپیردین‌ها بر روی چرخه سلولی..... ۸۲

۳-۱-٤ بررسی القاء آپاپتوز در سلول‌های K562 و MCF-7 توسط پیرانو پیردین‌ها..... ۸٤

۳-۱-۵ بررسی القاء آپاپتوز در سلول‌های K562 و MCF-7 توسط پیرانو پیریدین‌ها..... ۸۵

۳-۱-٦ بررسی القاء آپاپتوز با استفاده از آزمون قطعه قطعه شدن DNA ۸٦

۳- ۲ بحث و نتجه‌گیری..... ۹۰

فهرست شکل‌ها

شکل ۱-۱ مراحل مختلف چرخه سلولی DNA ٤

شکل ۱-۲ تغییرات مورفولوژیکی قابل رویت در سلول‌های آپاپتوزی و ایجاد اجسام آپوپتوتیک..... ۱۳

شکل ۱-۳ مسیرهای مختلف آپاپتوزی ۱۸

شکل ۱-٤ سرطان خون..... ۲۱

شکل ۱-۵ سلسله مراتب تشکیل سلول‌های خون..... ۲۳

شکل ۱- ٦ ایجاد کروموزوم Ph، ژن و پروتئین Bcr-Abl و تشکیل سلول‌های CML ۲٤

شکل ۱-۷ محل‌های نقطه شکست درون ژن‌هایABL و BCR و ساختار mRNAهای کایمر حاصل

شکست‌های مختلف..... ۲۸

شکل ۱- ۸مکانیسم‌های دخیل در بیماری‌زایی CML ۲۹

شکل ۱- ۹مسیرهای پیام رسانی میتوژنیک در سلول‌های بدخیم حامل Bcr-Abl..... ۳۱

شکل ۱-۱۱ مکانیسم عمل ایماتینیب..... ۳۷

شکل ۱-۱۱ مراحل مختلف سلول درمانی..... ۳۸

شکل ۱-۱۲ساختارهای متفاوت حلقه پیران..... ٤٤

شکل ۱-۱۳ حلقه پیردین..... ٤٥

شکل ۱- ١٤ حلقه پیردون و فرایند لاکتام ,لاکتیم ٥٠

شکل ۱-۱٥ پیرانو[۳،۲-c] پیردین..... ٥٥

شکل ۲-۱ هود لامینار..... ٥٧

شکل ۲-۲ پلیت ۹٦ تایی..... ٦١

شکل ۲-۳ لام نئوبار (بالا سمت راست) محل شمارش در لام (بالا سمت چپ) تصاویر مشاهده شونده با میکروسکوپ(پایین) ٦٦

شکل ۲-٤ دستگاه اسپکتروفوتومتر چند چاهکی..... ۷۱

شکل ۲-٥ دستگاه فلوسایتومتری..... ۷۱

شکل ۳-۱ اثر مهاری C.P.P-٤ برروی سلول‌های با غلظت‌ها مختلف در زمان‌های ۲٤ ، ٤۸، ۷۲ ساعت و

نتایج به صورت درصد رشد نسبت به کنترول نمایش داده شده است.....۷۲

شکل ۳-۲ اثر مهاری C.P.P-٤ برروی سلول‌های K562 با غلظت‌ها مختلف در زمان‌های ٢٤ ، ٤٨، ٧٢ ساعت و نتایج به صورت درصد رشد نسبت به کنترول نمایش داده شده است.....۷۲

شکل ۳-۳ مهار رشد سلول‌های K562 توسط ترکیب P.P در زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷۳

شکل ۳-٤کنترل مهار رشد سلول‌های K562 توسط ترکیب P.P Nدر زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷۳

شکل ۳- ٥ مهار رشد سلول‌های MCF-7 توسط ترکیب C.P.P-٤در زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷٤

شکل ۳- ٦مهار رشد سلول‌های MCF-7 توسط ترکیب TPM.Pدر زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷٤

شکل ۳-۷مهار رشد سلول‌های MCF-7 توسط ترکیب P.Pدر زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷۷

شکل ۳-۸ مهار رشد سلول‌هایMCF-7 توسط ترکیب P.P.N در زمان‌های٢٤، ٧٢،٤٨ ساعت.....۷۷

شکل ۳-۹ تغییرات مورفولوژی سلول‌های K562و MCF-7 تحت تاثیر داروی C.P.P 4- در مقایسه با کنترل تیمارشده با غلظت ۳۰ و ٤٠ میکرومولار بعد از ٤٨ ساعت.....۷۹

شکل ۳-۱۰ اثر ترکیب C.P.P-٤ بر چرخه ی سلولی رده های سلولی K562 و MCF-7 در غلظت‌های ۳۰و ٤٠ میکرومولار در٤٨ و ٧٢ ساعت.....۸۱

شکل۳-۱۱ اثرات مشتقات پیرانوپیردونی بر قطعه قطعه شدن DNA در سلول‌های K562 و MCF82

شکل ۳-۱۲ نمودارهای آنالیز فلوسایتومتری با آنکسینV /پروپیدیوم یدید(PI) برروی سلول‌های MCF-7 در زمان ها ٤٨،٢٤و ٧٢ ساعت.....۸٤

شکل ۳-۹ نمودارهای آنالیز فلوسایتومتری با آنکسینV /پروپیدیوم یدید(PI) برروی سلول‌های K562 در

زمان های ٤٨،٢٤و ٧٢ ساعت.....٨٥

فهرست جدول‌ها

جدول ٢-١ ساختار و نام شیمیایی ترکیبات پیرانوپیریدین‌های مورد بررسی.....٤٩

جدول٣-١مهار رشد سلول‌های K562 بوسیله ترکیبات پیرانوپیردینی به صورت وابسته به زمان و غلظت.....٧٥

جدول ٣-٢ مهار رشد سلول‌های MCF-7 بوسیله ترکیبات پیرانوپیردینی به صورت وابسته به زمان و غلظت....٧٦

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱ تعریف سرطان

سـرطان، علت یک پنجم مرگ و میرها را در هر سـال در ایالات متحده تشـکیل می‌دهد. در دامنه میان ۱۰۰ تا ۳۵۰ نفر از ۱۰۰۰۰۰۰ انسـان در هر سـال بر اثر سـرطان می میرند. سرطان معمولاً در نتجه نقص در مکانیسـم‌هایی اسـت که رشـد و تکثیر سلول‌ها را کنترول می‌کنند. در طی پدیده تکوین عادی و در سرتاسر زندگی بزرگسالی، سیستم های پیچیده کنترول ژنتیکی، تعادل میان تولد و مرگ سلول را در پاسخ به پیام‌های رشـد، پیام های مهار رشد و پیام های مرگ تنظیم می کنند. سرعت تولد و مرگ سلول، اندازه بدن بزرگسالان را مشخص می کند و در عین حال سرعت رشد، این اندازه را تحت تاثیر قرار می‌دهد. در برخی از بافت های بافت های بالغ، تکثیر سـلولی به صـورت یک فرایند تجدید کننده بافت، به صورت پیوسته انجام می شود. به عنوان مثال سـلول‌های روده چند روز زنده‌اند، سـپس می میرند و دوباره جایگزین می شوند؛ انواع ویژه‌ای از سلول های سفید خونی به سرعت جایگزین می شوند و سلول های پوست عموماً تنها ۲-٤ هفته زنده مانده و سـپس می میرند. سلول های اکثر بافت های بالغ در حالت عادی تکثیر نمی شود مگر در طی فرایندهای التیام دهنده. چنین سـلول های پایایی (مثل هپاتوسـیت ها، سـلول های ماهیچه قلبی، نورون ها) می توانند در طی دوره‌های طولانی یاحتی در طول عمر یک موجود زنده به صـورت عملکردی باقی بمانند. سرطان زمانی رخ می‌دهند، که مکانیسـم‌های حفظ کننده سـرعت رشـد نرمال، اختلال پیدا کنند و سـبب افزایش تقسیم سلول شـوند. فقدان تنظیم سـلولی که منشـاء اکثر یا تمامی انواع سرطان است در نتیجه آسیب ژنتیکی می باشد که اغلب دراثر مواد شـیمیایی شروع کننده تومور، هورمون‌ها و گاهی ویروس ها ایجاد می شوند. بروز جهش در دو دسـته وسـیع از ژن‌ها، پروتو- انکوژن‌ها[1] و ژن‌های سـرکوب کننده تومور (TSGs)[2]، در آغاز سـرطان

[1]Proto-oncogenes
[2]Tumor-suppressor genes

نقش دارند. جهش‌هایی که پروتو–انکوژن‌ها رشـد را به انکوژن[1] تبدیل می‌کنند، سـبب می‌شوند، که این ژن در فرایند شـروع رشد فعالیت افزایندای یابد. سایر مواردی که سبب افزایش بیان ژن می شوند یا سبب تولید یک محصـول با فعالیت بالا می کردند نیز چنین اثری خواهند داشـت. ژن های سرکوب کننده تومور نیر در حالت عادی از رشـد جلوگیری می‌کنند. بنابرین جهش‌هایی که سـبب غیر فعال شدن این ژن‌ها می‌کردند به سـلول اجازه می دهند به طور مطلوبی تقسـیم گردد. سـومین دسـته ای ژنی که فوق العاده تخصـصی هستند ژن های کرتاکر[2] هستند که اغلب با سرطان ارتباط دارند ژن های کارتاکر در حالت عادی سبب حفظ سلامت زنوم می‌شـوند زمانی که این ژن‌ها غیر فعال می‌شـوند سـلول‌ها با سـرعت زیادی دچار جهش‌های فراوانی می گردند که فرایند کنترول رشـد مختل کرده و منجر به سـرطان می‌شـوند. اکثر ژن‌های این سـه دسـته پروتئین‌ها را کد کرده که در تنظیم تولد سـلول مثل ورود و پیشـرفت چرخه سـلولی با در مرگ سـلول به واسـطه آپاپتوز نقش دارند پروتئین‌هایی را کد می کنند که در ترمیم آسـیب‌هایی وارده به DNA نقش دارند عموماً سـرطان ها در نتجه جهش هایی هستند که بر اثر قرار گرفتن در معرض کارسینوژن ها مواردی که در محیط پراکنده هسـتند ایجاد می گردند که که این مواد شـامل ترکیبات شـیمیایی و تشـعشـعات دادیو اکتیو می باشند. اکثر سلول های سرطانی فاقد یک یا چندین سیستم ترمیمی DNA هستند که فقدان این سیستم ها، ممکن اسـت بتوانند تعداد زیادی جهش‌هایی که در این سلول‌ها رخ می‌هد را توضیح دهند. آنزیم‌های ترمیم کننده DNA مسـتقیماً تکثیر سـلولی را مهار نمی‌کنند، اما سـلوهایی که توانایی ترمیم خطاها، شـکاف‌ها یا شـکست در انتهای DNA را از دست داده‌اند، در بسیاری از ژن‌ها (آنهای که در کنترول رشد و تکثیر سلول حیاتی‌اند)، دچار جهش های فراوانی می‌شوند. بنابراین جهش‌هایی که در ژن‌های کارتاکر از قبیل ژن‌های کد

[1]Oncogenes
[2] Caretaker genes

کننده آنزیم‌های ترمیم DNA می‌شـوند، مانع از این می‌شوند که سلول‌ها به تصحیح جهش‌هایی بپردازند که سبب غیرفعال شدن ژن‌های سرکوب کننده تومور یا فعال شدن انکوژن‌ها می‌گردند. جهش‌های مولد سرطان اکثراً در سـلول‌های سوماتیک و نه در سلول‌های زایا رخ می‌دهند که سلول سوماتیک جهش یافته نمی‌تواند نسـل بعـدی را به وجود آورد. برعکس، جهش های ارثی ویژه‌ای وجود دارند که در رده زایا اتفاق افتند و سـبب افزایش احتمال بروز سـرطان در برخی مواقع می‌شـوند. جهش سوماتیک می‌توانند با جهش‌های ارثی شـریک شـده و سـبب بروز سـرطان شـوند. بنابراین فرایند ایجاد سرطان که انکوژنز[1] یا تومورژنز[2] نام دارد حاصل فعل انفعال میان ژنتیک و محیط است[۱،۲،۳]

۱-۲ تنظیم چرخه سلولی در یوکاریوت ها

تنظیم و کنترل چرخه سـلولی برای تمایز طبیعی سـلول های موجودات پر سلولی ضروری است و این کنترل با تنظیم زمان دو واقعه اسـاسـی سـلول، یعنی همانندسـازی DNA و تقسـیم سـلولی امکان پذیر است.(۱-۱) کنترل کنندگان اصلی این وقایع، پروتئین کینازهای هترو دایمری هستند که دارای یک زیرواحد تنظیمی و یک زیرواحد کاتالیتیک می باشـند که با نام CDK- سـایکلین به معنای کیناز وابسته به سایکلین نیز شـناخته می‌شـوند.[3] (CDK) این کینازها بدون اتصال به یک سایکلین، قادر به فعالیت کینازی نیستند و هم چنین نوع سایکلین مشخص کننده نوع پروتئینی است که توسط زیرواحد کینازی فسفریله می شود.

اکثر سلول ها در فاز G0 قرار دارند و در انواعی که این توقف موقتی است، در صورت تحریک توسط عواملی همچون فاکتورهای رشـد، قادر به بازگشـت به چرخه هسـتند. پروتئین کینازهای هترو دایمری

[1] Ontogenesis
[2] Tumoriogenesis
[3] Cyclin Depandant Kinase