بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش ژنتیک

مطالعه پلی مورفیسم تکرار GGC در اگزون شماره یک ژن *eRF3/GSPT1* و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پروستات در منطقه اصفهان

استاد راهنما :

آقای دکتر منوچهر توسلی

استادان مشاور:

خانم دکتر سیمین همتی

آقای دکتر قاسمعلی جوانمردی

پژوهشگر:

مریم حاجی بابائی

اسفند ماه ۱۳۸۹

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 کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش ژنتیک

خانم مریم حاجی بابائی تحت عنوان

مطالعه پلی مورفیسم تکرار GGC در اگزون شماره یک ژن *eRF3/GSPT1* و ارتباط آن با خطر ابتلا به سرطان پروستات در منطقه اصفهان

در تاریخ ۸۹/۱۲/۱۷ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

۱- استاد راهنمای پایان نامه آقای دکتر منوچهر توسلی خوزانی با مرتبه علمی دانشیار امضا

۲- استاد مشاور پایان نامه خانم دکتر سیمین همتی با مرتبه علمی استادیار امضا

۳- استاد مشاور پایان نامه آقای دکتر قاسمعلی جوانمردی دکترای علوم آزمایشگاهی امضا

۴- استاد داور داخل گروه آقای دکتر کامران قائدی با مرتبه علمی استادیار امضا

۵- استاد داور خارج از گروه خانم دکتر ماندانا بهبهانی با مرتبه علمی استادیار امضا

امضای مدیر گروه

گروه زیست شناسی Department Of Biology 1965

خداوند را سپاس می گویم به خاطر اینکه توفیق اندیشیدن به من عنایت فرمود و به خاطر آنانکه به من اندیشیدن آموختند.

از پدر بزرگوار و عزیزم که لحظات سخت زندگی به امید حمایت در پناه او سهل و آسان می نمود سپاسگزارم.

از مادر عزیز و مهربانم که عشق و استواری را در لحظه لحظه زندگیم جاری ساخت و سخنانش رهنمون برگزیدن راه زندگیم شد سپاسگزارم.

از همسر عزیزم که صبورانه همراه من بود متشکرم.

از یاران باصفا و بی دریغ زندگی، خواهر و برادر عزیزم ممنونم.

با سپاس بیکران از استاد عزیز و ارجمند جناب آقای دکتر توسلی که علاوه بر دانش و فضل، منش و مرام ایشان درسی آموختنی است و با دلسوزی و علاقه بسیار در تمام مراحل کار راهنمای من بودند.

از اساتید مشاور محترم سرکار خانم دکتر همتی و جناب آقای دکتر جوانمردی که در پیشبرد پایان نامه مرا یاری نمودند، جناب آقای دکتر قائدی که داوری داخل گروه من را تقبل نمودند و همچنین در طول تحصیلات شوق به شناخت را به من آموختند، سرکار خانم دکتر بهبهانی که قبول زحمت فرموده و داوری خارج گروه مرا پذیرفتند و سرکار خانم صفری عزیز سپاسگزارم.

از مدیر محترم گروه زیست شناسی جناب آقای دکتر مشتاقیان و تمامی اساتید عالیقدر گروه که در طی این سال ها از دریای علم و دانش ایشان بهره مند شدم کمال تشکر را دارم.

تقدیم به

خورشید درخشان زندگی ام، اسطوره مهربانی، سمبل صبر و صلابت و تفسیر همه بودن و زیستنم، **مادر نازنینم**

که به جانم شهد وجود بخشید، هم او که دریای بیکران محبتش را با عشق وصف ناپذیر نثارم نمود و وجودش همواره در سختی های زندگی تکیه گاهم بود. به پاس مهربی دریغش.

تقدیم به

بلندای آسمان زندگی ام، اسوه مهر، صفا و صمیمیت، **پدر مهربانم**

که فتح قله های سختی را با همت به من آموخت، هم او که حاصل یک عمر تلاش خویش را خالصانه به پایم ریخت و شکوفایی و پویندگی ام همه از پایندگی آفتاب مهر

اوست. به پاس زحمات فراوانش

تقدیم به

یار و همراه زندگی ام، مظهر محبت، صبر و فداکاری، **همسر عزیزم**

که وجودش امید زندگی است به پاس صبوری ها و مهربانی هایش

چکیده

سرطان پروستات دومین عامل مرگ ناشی از سرطان در مردان در ایران است. این بیماری از لحاظ آسیب شناسی و تظاهرات بالینی هتروژنیسیتی بالایی دارد و مارکرهای ژنتیکی مرتبط با آن کمتر شناسایی شده اند. موتاسیون ها یا تغییرات در بیان ژن فاکتورهای ترجمه ای می توانند نقش مهمی در توسعه سرطان ایفا کنند. فاکتور ختم ترجمه ای یوکاریوتی شماره ۳ (eRF3) یک GTPase وابسته به ریبوزوم و eRF1 است که در یک فرایند وابسته به GTP باعث ختم ترجمه می شود. این فاکتور همچنین در تنظیم سیکل سلولی، بازیابی ریبوزوم ها و آپوپتوز نقش دارد. دمین انتهای آمینی eRF3 دارای یک گسترش پلی گلیسین است که توسط یک قطعه تکراری $(GGC)_n$ در اگزون شماره ۱ این فاکتور کد می شود. تاکنون مطالعه ای بر روی ارتباط پلی مورفیسم ژن *eRF3* و سرطان پروستات انجام نشده است. در این مطالعه ارتباط بین پلی مورفیسم تکرار GGC در اگزون ۱ ژن *eRF3* و خطر سرطان پروستات در جمعیت اصفهان بررسی شده است. DNA با استفاده از روش رسوب نمکی از خون محیطی استخراج شد. توالی تکراری GGC با روش PCR تکثیر شد و طول محصولات توسط ژل پلی اکریل آمید و توالی یابی مستقیم تعیین شد. تعداد تکرارهای آللی ریز ماهواره $(GGC)_n$ ژن *eRF3/GSPT1* در بین ۱۳۰ بیمار با سرطان پروستات و ۱۳۴ نمونه کنترل از جمعیت اصفهان تعیین گردید. شش طول متفاوت از تکرار GGC (۷، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳ و ۱۴) مشاهده شد. در پژوهش های گذشته، ۵ آلل از این ژن شناسایی شده که برای ۱۲-۷ گلیسین کد می کنند. بین وجود آلل ۱۲-گلیسین و ایجاد سرطان های معده، پستان و کلورکتال ارتباط مستقیمی دیده شده است. در این بررسی دو آلل جدید (۱۳ و ۱۴) و دو ژنوتیپ جدید (۱۱/۱۴ و ۱۳/۱۴) در جمعیت اصفهان یافت شد که پیش از این در سایر جمعیت ها گزارش نشده بود. نتایج این تحقیق نشان داد که مردان حامل آلل ۷-گلیسین ژن *eRF3/GSPT1* در خطر افزایش یافته (OR=۲/۴۸، P=۰/۰۴۸) برای ابتلا به سرطان پروستات می باشند. علاوه بر این مشخص شد که آلل ۱۲-گلیسین و ژنوتیپ ۱۱/۱۲، نقش محافظت کنندگی در برابر سرطان پروستات دارند. به عبارت دیگر احتمال ابتلای مردان با آلل ۱۲-گلیسین (OR=۰/۴۳۶، P=۰/۰۴۹) و یا ژنوتیپ ۱۱/۱۲ (OR=۰/۱۶۵، P=۰/۰۴۷) به سرطان پروستات، به ترتیب ۲/۵ و ۶ برابر کمتر از مردان دیگر می باشد. در این مطالعه ارتباط معنی داری میان تعداد تکرار گلیسین ژن *eRF3/GSPT1* و سن شروع بیماری، توارث و درجه پیشرفت بیماری یافت نشد.

کلمات کلیدی : سرطان پروستات، فاکتور ختم ترجمه یوکاریوتی شماره۳، پلی مورفیسم، ریز ماهواره

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱- سرطان ۱

۱-۱-۱- سرطان، اختلال در کنترل رشد و تمایز سلولی ۲

۱-۱-۱-۱- انکوژن ها ۲

۱-۱-۱-۲- ژن‌های سرکوبگر تومور ۲

۱-۱-۱-۳- ژن‌های ریز RNA (Micro-RNA) ۳

۱-۲- غده پروستات ۳

۱-۲-۱- ساختار ۴

۱-۲-۲- عملکرد ۵

۱-۲-۳- رشد ۵

۱-۳- سرطان پروستات ۶

۱-۳-۱- آسیب شناسی سرطان پروستات ۶

۱-۳-۱-۱- تظاهر ۶

۱-۳-۱-۲- رشد تومور ۶

۱-۳-۱-۳- شیوع انواع بافت شناسی ۷

۱-۳-۱-۴- Tomur grading ۷

۱-۳-۲- علائم سرطان پروستات ۷

۱-۳-۳- انواع اپیدمیولوژیکی سرطان پروستات ۷

۱-۳-۴- اپیدمیولوژی سرطان پروستات ۸

۱-۳-۴-۱- نرخ فراوانی سرطان پروستات در دنیا ۸

۱-۳-۴-۲- نرخ مرگ و میر سرطان پروستات در دنیا ۹

۱-۳-۴-۳- نرخ فراوانی سرطان پروستات در ایران ۹

۱-۳-۴-۴- نرخ مرگ و میر سرطان پروستات در ایران ۱۱

۱-۳-۵- فاکتورهای خطر ۱۱

۱-۳-۶- ژنتیک سرطان پروستات ۱۳

۱-۳-۷- تشخیص سرطان پروستات ۱۴

۱-۴- فاکتور ختم ترجمه یوکاریوتی شماره ۳ (eRF3) ۱۵

عنوان **صفحه**

۱-۴-۱- تاریخچه ۱۵
۱-۴-۲- ساختار شیمیایی ۱۶
۱-۴-۳- عملکردهای سلولی پروتئین eRF3/GSPT1 ..... ۱۹
۱-۴-۳-۱- فرایند ختم ترجمه ۱۹
۱-۴-۳-۲- تخریب mRNA ۲۲
۱-۴-۳-۳- بازیابی ریبوزوم ۲۵
۱-۴-۳-۴- سازمان دهی سیتواسکلتون و جداسازی کروموزومی ۲۵
۱-۴-۳-۵- تنظیم سیکل سلولی ۲۵
۱-۴-۳-۶- اپوپتوز ۲۶
۱-۴-۳-۷- تومورزایی و ایجاد سرطان ۲۷
۱-۴-۴- *eRF3/GSPT1* و سرطان پروستات ۲۸
۱-۵- توالی های تکراری پشت سر هم یا DNAهای ماهواره ای ۲۸
۱-۵-۱- علت استفاده از STRها در ردیابی آلل ها و الگوی توارث ۲۹
۱-۵-۲- تعدادی از کاربردهای STRها ۳۰
۱-۵-۳- میکروستلایت مورد بررسی در اگزون شماره یک ژن *eRF3/GSPT1* ۳۰
۱-۶- هدف تحقیق ۳۱

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱- نمونه گیری ۳۳
۲-۲- استخراج DNA ژنومی از سلول های خون ۳۴
۲-۲-۱- مواد و بافرهای مورد نیاز ۳۴
۲-۲-۲- مواد تشکیل دهنده بافرها ۳۴
۲-۲-۳- روش استخراج DNA ژنومی از سلول های خون ۳۵
۲-۳- بررسی خلوص و غلظت DNA ژنومی استخراج شده ۳۶
۲-۳-۱- ارزیابی کیفی DNA استخراج شده ۳۶
۲-۳-۲- ارزیابی کمی DNA استخراج شده ۳۶
۲-۴- جداسازی و تکثیر لوکوس مورد نظر از DNA ژنومی استخراج شده ۳۷
۲-۵- تکنیک PCR ۳۹

عنوان **صفحه**

۲-۵-۱- مواد و وسایل مورد نیاز ۳۹
۲-۵-۲- بهینه سازی PCR ۳۹
۲-۵-۲-۱- غلظت یون منیزیم (Mg^{2+}) ۳۹
۲-۵-۲-۲- داکسی نوکلئوتید تری فسفات ها (dNTPs) ۴۰
۲-۵-۲-۳- پرایمرها ۴۰
۲-۵-۲-۳-۱- غلظت پرایمرها ۴۰
۲-۵-۲-۳-۲- دمای ذوب (TM) ۴۰
۲-۵-۲-۳-۳- بهینه سازی PCR برای دمای اتصال پرایمرها ۴۱
۲-۵-۲-۴- آنزیم DNA polymerase ۴۱
۲-۵-۲-۵- تعداد چرخه های تکثیر ۴۲
۲-۵-۳- روش انجام واکنش PCR ۴۲
۲-۵-۳-۱- شرایط استاندارد برای یک واکنش PCR ۴۲
۲-۵-۳-۲- شرایط بهینه شده برای واکنش PCR اگزون ۱ ژن *eRF3/GSPT1* ۴۳
۲-۵-۳-۲-۱- مواد و مقادیر مورد نیاز از آن ها جهت انجام PCR اگزون ۱ ژن *eRF3/GSPT1* ۴۳
۲-۵-۳-۲-۲- روش انجام تکنیک PCR ۴۴
۲-۶- ژل الکتروفورز ۴۵
۲-۶-۱- ژل آگارز ۴۶
۲-۶-۱-۱- عوامل موثر بر حرکت DNA در ژل های آگارز ۴۶
۲-۶-۱-۲- مواد و وسایل لازم برای انجام الکتروفورز افقی با ژل آگارز ۴۸
۲-۶-۱-۳- روش الکتروفورز ۵۰
۲-۶-۱-۴- آشکارسازی قطعه DNA تکثیریافته ۵۰
۲-۶-۲- الکتروفورز با استفاده از ژل پلی اکریل آمید ۵۱
۲-۶-۲-۱- پلیمریزه شدن ژل پلی اکریل آمید ۵۱
۲-۶-۲-۲- مواد مورد نیاز برای انجام الکتروفورز عمودی توسط ژل پلی اکریل آمید ۵۲
۲-۶-۲-۳- روش الکتروفورز ژل پلی اکریل آمید ۵۲
۲-۶-۲-۴- آشکارسازی نتایج الکتروفورز عمودی ۵۳
۲-۶-۲-۴-۱- رنگ آمیزی ژل پلی اکریل آمید به روش نیترات نقره ۵۳
۲-۶-۲-۴-۲- مراحل رنگ آمیزی ۵۴

عنوان **صفحه**

۲-۷- مارکرهای ژنتیکی و لزوم استفاده از آن ها ۵۵
۲-۸- استخراج DNA از ژل آگارز با استفاده از کیت استخراج DNA ۵۵
۲-۸-۱- روش کار ۵۶
۲-۹- آنالیزهای آماری ۵۷
۲-۹-۱- آزمون χ^2 ۵۸
۲-۹-۲- نسبت افزاینده (OR) ۵۸
۲-۹-۳- تفسیر نسبت افزاینده ۶۰

فصل سوم: نتایج و مشاهدات

۳-۱- نتایج کمی و کیفی مربوط به استخراج DNA ۶۱
۳-۲- تکثیر توالی تکراری GGC ژن *eRF3/GSPT1* از DNAهای استخراج شده با تکنیک PCR ۶۲
۳-۲-۱- بهینه سازی دمای اتصال پرایمرها و غلظت مناسب $Mgcl_2$ ۶۲
۳-۳- تعیین تعداد تکرار GGC محصولات PCR ژن *eRF3/GSPT1* بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ ۶۴
۳-۴- انتخاب آلل های مناسب ژن *eRF3/GSPT1* به عنوان مارکر از بین نمونه های مورد بررسی ۶۵
۳-۵- الکتروفورز محصولات PCR قبل از استخراج از ژل آگارز ۶۵
۳-۶- نتایج حاصل از عملیات تعیین توالی مارکرهای آللی ۶۵
۳-۷- تعیین تعداد تکرارهای GGC در همه نمونه ها ۶۷
۳-۸- مطالعات آماری ۶۸
۳-۸-۱- تعیین فراوانی آللی ژن *eRF3/GSPT1* ۶۸
۳-۸-۲- تعیین فراوانی ترکیبات آللی ژن *eRF3/GSPT1* ۶۹
۳-۸-۳- بررسی ارتباط پلی مورفسیم ژن *eRF3/GSPT1* و خطر ابتلا به سرطان پروستات ۷۰
۳-۸-۳-۱- بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و سن شروع بیماری ۷۳
۳-۸-۳-۲- بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و توارث بیماری ۷۶
۳-۸-۳-۳- بررسی ارتباط بین ژنوتیپ و درجه پیشرفت بیماری ۷۸

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۴-۱- بررسی آلل های مشاهده شده و میزان فراوانی هر آلل ۸۲
۴-۲- بررسی فراوانی ترکیبات آللی مشاهده شده ۸۳

عنوان **صفحه**

۴-۳- بررسی ارتباط بین نوع ژنوتیپ و خطر بروز سرطان پروستات ۸۴
۴-۴- بررسی ارتباط بین نوع ژنوتیپ و سن شروع بیماری ۸۴
۴-۵- بررسی ارتباط بین نوع ژنوتیپ و توارث پذیری بیماری ۸۵
۴-۶- بررسی ارتباط بین نوع ژنوتیپ و درجه پیشرفت بیماری ۸۶
۴-۷- نتیجه گیری کلی ۸۶
۴-۸- پیشنهادات ۸۷
پیوست ۸۸
منابع و مآخذ ۸۹

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- نواحی مختلف غده پروستات ۴

شکل ۱-۲- میزان بروز اختصاصی سن (ASR) سرطان پروستات در کشورهای مختلف ۱۰

شکل ۱-۳- فراوانی سرطان پروستات در کشورهای مختلف به ازای هر ۱۰۰/۰۰۰ نفر ۱۰

شکل ۱-۴- ساختار دمینی فاکتور ختم eRF3 در مخمر نان، همراه با پروتئین های بر هم کنش کننده با آن ۱۷

شکل ۱-۵- سازمان دهی دمین های eRF1 انسان ۱۸

شکل ۱-۶- یک مدل پیشنهادی برای عملکردهای eRF3/GSPT در سنتز پروتئین یوکاریوتی ۲۰

شکل ۱-۷-کمپلکس eRF1/eRF3/GTP کنفورماسیونی مشابه کمپلکسEF-Tu-GTP-tRNA می یابد ۲۲

شکل ۱-۸- مدلی برای فرایندهای ختم ترجمه تا تخریب mRNA به واسطه eRF3 ..... ۲۴

شکل ۱-۹- قطعه تکراری GGC واقع در اگزون شماره یک ژن *eRF3/GSPT1* ۳۰

شکل ۲-۱- توالی تکرار شونده GGC درون اگزون شماره ۱ ژن *eRF3* و جایگاه اتصال پرایمرهای Forward و Reverse بر روی توالی هدف ۳۸

شکل ۳-۱- نتایج استخراج DNA ژنومی از سلول های خون انسان به روش رسوب نمکی روی ژل آگارز ۱٪ در بافر TBE 1X ۶۲

شکل ۳-۲- تعیین دمای اتصال مناسب پرایمرها و غلظت مطلوب $Mgcl_2$ جهت تکثیر توالی تکراری اگزون شماره ۱ ژن *eRF3/GSPT1* بر روی ژل آگارز ۱٪ و در حضور مارکر ۱۰۰ جفت باز (M) ۶۳

شکل ۳-۳- نتایج PCR بر روی ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ و در حضور مارکر ۱۰۰ جفت باز (M) ۶۴

شکل ۳-۴- کروماتوگرام حاصل از تعیین توالی هر یک از مارکرهای آللی ژن *eRF3/GSPT1* ۶۶

شکل ۳-۵- تعیین ژنوتیپ (تعداد تکرارهای GGC)افراد مورد بررسی برای ژن *eRF3/GSPT1*، به کمک مارکرهای اختصاصی **شماره** ۲ (M2)، شماره ۵ (M5)، شماره ۹ (M9) و شماره ۱۰ (M10) بر روی ژل پلی آکریل آمید ۶۷

شکل ۳-۶- نمودار درصد فراوانی هر یک از آلل های ژن *eRF3/GSPT1* در بین بیماران و افراد کنترل ۷۰

شکل ۳-۷- نمودار درصد فراوانی هر یک از ترکیبات آللی ژن *eRF3/GSPT1* در بین بیماران و افراد کنترل ۷۱

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱- دستگاه های مورد استفاده در این پروژه ۳۳

جدول ۲-۲- توالی پرایمرهای Forward و Reverse برای ناحیه تکرار شونده GGC در ژن *eRF3* ۳۸

جدول ۲-۳- ترکیبات مورد نیاز برای یک واکنش PCR در شرایط استاندارد ۴۲

جدول ۲-۴- مواد و مقادیر مورد نیاز برای PCR با حجم ۲۵ میکرولیتر برای پرایمرهای eRF3-F/R ۴۳

جدول ۲-۵- بهینه سازی دمای اتصال پرایمرها ۴۴

جدول ۲-۶- برنامه بهینه شده نهایی دستگاه ترموسایکلر برای PCR ناحیه ژنی مورد نظر ۴۵

جدول ۲-۷- مواد و مقادیر مورد نیاز از آن ها برای تهیه ژل پلی اکریل آمید ۱۰٪ ۵۲

جدول ۳-۱- فراوانی آلل‌های مختلف ژن *eRF3/GSPT1* در بین بیماران، افراد کنترل و کل افراد مورد بررسی ۶۸

جدول ۳-۲- فراوانی و درصد انواع ترکیبات آللی ژن *eRF3/GSPT1* مشاهده شده در جمعیت بیماران، افراد کنترل و کل افراد مورد بررسی ۶۹

جدول ۳-۳- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۷ تکرار GGC و خطر بروز سرطان پروستات ۷۲

جدول ۳-۴- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۱۲ تکرار GGC و خطر بروز سرطان پروستات ۷۲

جدول ۳-۵- بررسی ارتباط میان وجود ژنوتیپ ۱۱/۱۲ توالی تکراری GGC و خطر بروز سرطان پروستات. ۷۳

جدول ۳-۶- تعداد افراد بیمار دارای آلل ۷ تکرار GGC و سایر آلل ها همراه با سن شروع بیماری ۷۴

جدول ۳-۷- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۷ تکرار GGC و سن شروع سرطان پروستات ۷۴

جدول ۳-۸- تعداد افراد بیمار دارای آلل ۱۲ تکرار GGC و سایر آلل ها همراه با سن شروع بیماری ۷۵

جدول ۳-۹- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۱۲ تکرار GGC و سن شروع سرطان پروستات ۷۵

جدول ۳-۱۰- تعداد افراد بیمار با آلل ۷ تکرار GGC و سایر آلل ها، همراه با وضعیت هر یک از نظر داشتن سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پروستات در خویشاوندان درجه یک و دو ۷۶

جدول ۳-۱۱- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۷ تکرار GGC و وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پروستات ۷۶

جدول ۳-۱۲- تعداد افراد بیمار با آلل ۱۲ تکرار GGC و سایر آلل ها، همراه با وضعیت هر یک از نظر داشتن سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پروستات در خویشاوندان درجه یک و دو ۷۷

جدول ۳-۱۳- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۱۲ تکرار GGC و وجود یا عدم وجود سابقه خانوادگی ابتلا به سرطان پروستات ۷۷

عنوان **صفحه**

جدول ۳-۱۴- تعداد افراد بیمار با آلل ۷ تکرار GGC و سایر آلل ها، همراه با وضعیت هر یک از نظر متاستاتیک بودن یا نبودن سرطان ۷۸
جدول ۳-۱۵- بررسی ارتباط میان وجود آلل ۷ تکرار GGC و درجه پیشرفت بیماری ۷۸
جدول ۳-۱۶- تعداد افراد بیمار با آلل ۱۲ تکرار GGC و سایر آللها، همراه با وضعیت هر یک از نظر متاستاتیک بودن یا نبودن سرطان ۷۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- سرطان :

سرطان به دسته ای از بیماری ها اطلاق می شودکه در آن گروهی از سلول ها رشد غیرقابل کنترل پیدا کرده، به بافت‌های مجاور حمله می کنند و گاهی نیز از طریق خون یا لنف به نواحی دیگر بدن جا به جا می شوند (World Health Organization, 2006).

۱-۱-۱- سرطان، اختلال در کنترل رشد و تمایز سلولی

یکی از علت های بنیادی سرطان، جهش ژنی است و عوامل سرطانزا معمولا با ایجاد جهش عمل می کنند (Jami et al., 2007). فرایند های چند مرحله ای از تغییرات پشت سرهمی که در چندین ژن رخ می دهد، فرد را برای ابتلا به سرطان مستعد می کند. این ژن‌ها اغلب جزء انکوژن ها، ژن های سرکوبگر تومور[1] و یا ژن های ریز RNA ها[2] هستند. فرایند های سلولی که ژن های مزبور در تنظیم آن ها نقش دارند عبارتند از : تحریک تقسیم سلولی، کنترل چرخه سلولی، مرگ برنامه ریزی شده سلولی (اپوپتوز) و ترمیم DNA (Croce, 2008).

۱-۱-۱-۱- انکوژن ها :

پروتوانکوژن ها، ژن هایی هستند که محصولات آن ها برای رشد و تمایز ارگانیسم ضروری و حیاتی اند. جهش در این ژن ها می تواند بیان و عملکرد آن ها را تغییر دهد و باعث افزایش مقدار یا فعالیت پروتئین حاصل شود. به این ترتیب پروتوانکوژن ها تبدیل به انکوژن شده و این تغییر، عامل بر هم خوردن تعادل در تنظیم سیکل سلولی است و سبب رشد کنترل نشده سلول می شود (Bos, 1989). به طور کلی پروتو انکوژن ها کد کننده شش گروه از پروتئین ها هستند که عبارتند از: فاکتورهای رشد، گیرنده های فاکتورهای رشد، فاکتور های رونویسی، اصلاح کنندگان کروماتین، مولکول های دخیل در انتقال پیام و تنظیم کننده های اپوپتوز (Bishop, 1991). یکی از اولین انکوژن هایی که در سرطان های انسانی کشف شد، Ras oncogene است. جهش پرتوانکوژن های خانواده Ras (شامل H-Ras، N-Ras و K-Ras) بسیار معمول است و در ۳۰-۲۰٪ از همه تومورهای انسانی دیده شده اند (Bos, 1989).

۱-۱-۱-۲- ژن های سرکوبگر تومور

این ژن ها کنترل کننده فرایندهایی هستند که اختلال در آن ها می تواند منجر به سرطان شود. بسیاری از ژن های سرکوبگر تومور کنترل کننده چرخه سلولی هستند، گروهی مسیرهای انتقال پیامی را که تنظیم کننده اپوپتوز هستند تحت تاثیر قرار می دهند و برخی نیز کدکننده پروتئین های ضد تکثیری هستند که میتوز و رشد سلولی را سرکوب می کنند. از دیگر فعالیت های این ژن ها ارتباط دادن سیکل سلولی با وقایع تخریب DNA است. اگر DNA دچار آسیب گردد، تقسیم سلولی باید متوقف شود. لذا با آسیب DNA، مسیرها و آنزیم هایی که منجر به فعال سازی ژن های سرکوبگر تومور می شوند، فعال می شوند. در این وضعیت نقش سرکوبگرهای تومور، شامل توقف چرخه سلولی، فعال سازی مسیرهای ترمیم و درصورت ممکن نبودن ترمیم DNA، انتقال سلول به فاز

[1] Tumor suppressor gene
[2] Micro-RNAs

اپوپتوز است تا آسیب یا جهش های DNA به سلول های دختری منتقل نشوند (Sherr, 2004). یکی از مهم ترین ژن های سرکوبگر تومور، *P53* است. پروتئین P53 در واقع یک فاکتور رونویسی است که توسط بسیاری از محرک های تنش زای سلولی از جمله آسیب های ناشی از کمبود اکسیژن و یا پرتوها فعال می شود و در نهایت با توقف چرخه سلولی، سلول را به سمت ترمیم یا اپوپتوز هدایت می کند (Matoba et al., 2006).

۱-۱-۱-۳- ژن های ریز-RNA (Micro-RNA)

این ژن ها بر خلاف سایر ژن های درگیر در سرطان، کدکننده پروتئین نیستند. محصولات این ژن ها یک رشته RNA واحد، درحدود ۲۳-۲۱ نوکلئوتید است که عملکرد آن ها تنظیم بیان ژن می باشد. یک مولکول microRNA می تواند به یک mRNA که دارای یک توالی نوکلئوتیدی مکمل با توالی microRNA است متصل شود. به این ترتیب microRNA مانع از ترجمه پروتئین می شود و یا سبب تخریب mRNA مزبور می شود (Calin et al., 2002). ژن های microRNA می توانند در سلول های سرطانی کاهش یا افزایش بیان پیدا کنند. ژن هایی که افزایش بیان می یابند، به واسطه کاهش بیان ژن های سرکوبگر تومور، به عنوان انکوژن عمل می کنند و آن هایی که سبب کاهش بیان انکوژن ها می شوند، به عنوان ژن های سرکوبگر تومور عمل می کنند. هم چنین کاهش بیان microRNAها بر اساس نوع ژن های تحت کنترل خود، می توانند به عنوان انکوژن یا سرکوبگر تومور عمل نمایند (Volinia et al., 2006). اعضای خانواده microRNA های LET7 که در سرطان ریه حذف شده یا کاهش بیان می یابند، انکوژن Ras را هدف قرار می دهند. حذف LET7 منجر به افزایش بیان Ras می شود (Johnson et al., 2005).

۱-۲- غده پروستات

پروستات بزرگترین غده ضمیمه[1] دستگاه تناسلی مردان است که مجرای ادرار را در گردن مثانه احاطه می کند (Kumar and Majumder, 1995). در پشت غده پروستات، سمینال وزیکل ها قرار دارند (American Cancer Society, 2010). وزن این غده در هنگام تولد فقط چند گرم است و در بیست سالگی حدود ۲۰ گرم است. ترشح پروستات مایعی یکنواخت[2] و کمی اسیدی (pH=۶/۶) با محتوای پروتئین کم (<۱٪) می باشد (Kumar and Majumder, 1995).

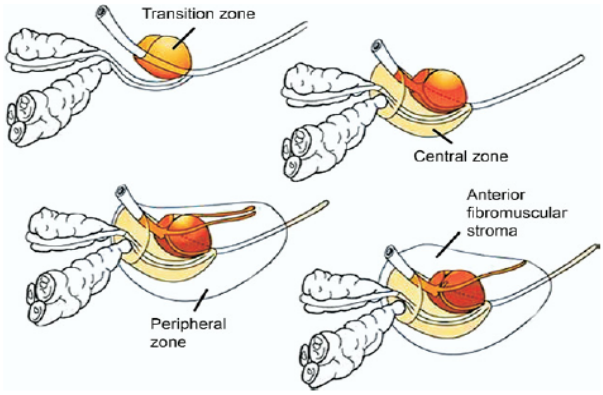
[1] accessory gland
[2] homogeneous

واژه پروستات از لغت یونانی Prohistani که به معنی ایستادن در مقابل[1] می باشد، مشتق شده است. این واژه را اولین بار Herophilus، ۳۳۵ سال قبل از میلاد بکار برد که توضیح می دهد این اندام در مقابل مثانه قرار دارد (Kirby et al., 1996).

۱-۲-۱- ساختار:

پروستات در کپسولی از یک لایه نازک بافت فیبروالاستیک قرار دارد دیواره هایی از این کپسول به طرف داخل توسعه می یابند و پروستات را به ۵ لوب تقسیم بندی می کند : یک لب جلویی، یک عقبی، یک میانی و دو لب جانبی (Kumar and Majumder, 1995). همان طور که در شکل ۱-۱ مشاهده می شود غده پروستات از ۴ ناحیه تشکیل شده است:

- ناحیه انتقالی[2]: در جوان بالغ، حدود ۱۰-۵٪ توده غده ای پروستات را تشکیل می دهد.
- ناحیه مرکزی[3]: حدود ۲۵-۲۰٪ توده غده ای پروستات نرمال را تشکیل می دهد.
- ناحیه محیطی[4]: ۷۵-۷۰٪ ساختار غده ای نرمال پروستات را تشکیل می دهد.
- ناحیه استرومای فیبری ماهیچه ای جلویی[5] غده ای نیست و حدود یک سوم کپسول پروستات را تشکیل می دهد (Crawford, 2009).



شکل ۱-۱- نواحی مختلف غده پروستات (Crawford, 2009)

[1] To stand in front of
[2] Transitional zone
[3] Central zone
[4] Peripheral zone
[5] Anterior fibromuscular stroma

۱-۲-۲- عملکرد :

غده پروستات عملکرد های مفید متعددی دارد :

- به علت حجم و ساختار عضلانی که دارد، در کنترل خروج ادرار از مثانه نقش دارد.
- مایع پروستات با کاهش اسیدیته مجرای ادرار، قابلیت زیست[1] اسپرم را حفظ می کند و تحرک اسپرم را از طریق وارد کردن یک فاکتور خاص (آلبومین) به پلاسمای سمینال تسهیل می کند و افزایش می دهد.
- اسید فسفاتاز پروستات، از طریق هیدرولیز phsphorylcholine به choline، مستقیما در تغذیه اسپرماتوزوا نقش دارد (Kumar and Majumder, 1995).
- به نظر می رسد مقدار زیاد عنصر روی در پلاسمای سمینال انسان، عمدتا از ترشح غده پروستات منشا می گیرد که به عنوان یک عامل ضد باکتری عمل می کند (Fair and Wehner, 1976).

۱-۲-۳- رشد

پروستات قبل از تولد شروع به رشد می کند و تا زمانیکه فرد به بلوغ برسد، رشد آن ادامه می یابد. این رشد توسط هورمون های مردانه (آندروژن ها) در بدن تحریک می شود. آندروژن اصلی، تستوسترون، در بیضه ها ساخته می شود (American Cancer Society, 2010). در استرومای پروستات، تستوسترون توسط آنزیم ۵ آلفا ردوکتاز به فرم فعال خود یعنی آلفا دی هیدروتستوسترون تبدیل می شود. سلول های ترشحی اپی تلیال و سلول های استرومایی دارای گیرنده های درون سلولی آندروژن هستند (Perez and Brady, 2008). دی هیدروتستوسترون به پروستات پیام می دهد که رشد کند. در بالغین تا زمانیکه هورمون های مردانه وجود دارند، پروستات در اندازه بالغ باقی می ماند. در مردان مسن تر، بخش درونی پروستات (اطراف مجرای ادرار) اغلب به رشد ادامه می دهد که منجر به حالتی می شود که بزرگ شدن خوش خیم پروستات[2] (BPH) نام دارد. در BPH بافت پروستات بر روی مجرای ادرار فشار وارد می کند و منجر به بروز مشکلاتی در عبور ادرار می شود (American Cancer Society, 2010).

[1] Viability
[2] Benign prostatic hyperplasia