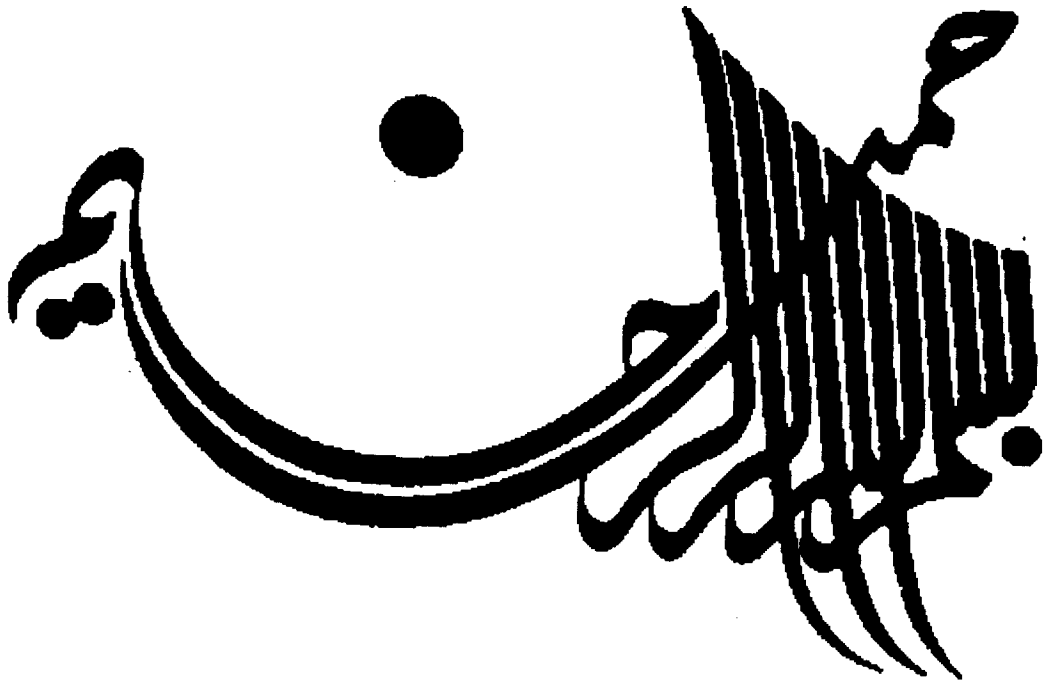

٢٩٥٨٤

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تحویل مدارک

**دانشگاه تربیت مدرس**

**دانشکده علوم پایه**

۱۱۸۰ /۱۱/ ۱۴

**پایان نامه دوره کارشناسی ارشد بیوشیمی**

016152

# بررسی مولکولی انکوژنهای دخیل در ایجاد سرطان پستان

نگارش:

زهره زهرائی

۳۹۵۸۴

استاد راهنما:

دکتر سید کاظم بیدکی

استادان مشاور:

دکتر پرویز عبدالمالکی

دکتر محمد اسماعیل اکبری

**تیر ماه ۱۳۸۰**

# تأییدیه اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیئت داوران نسخهٔ نهایی پایان نامه خانم/آقای زهره زهرائی

تحت عنوان: **بررسی مولکولی آنکوژنهای دخیل در ایجاد سرطان پستان**

را از نظر فرم و محتوات بررسی نموده و آنرا برای اخذ درجه کارشناسی ارشد مورد تایید قرار دادند.

| اعضای هیأت داوران | نام و نام خانوادگی | رتبهٔ علمی | امضاء |
|---|---|---|---|
| ۱- استاد راهنما | آقای دکتر سیدکاظم بیدکی | استادیار | |
| ۲- استاد مشاور | آقای دکتر پرویز عبدالمالکی | استادیار | |
| ۳- استاد مشاور | آقای دکتر محمداسماعیل اکبری | دانشیار | |
| ۴- استاد ناظر | آقای دکتر مهدی اربابی | استادیار | |
| ۵- استاد ناظر | آقای دکتر سیدجواد مولی | استادیار | |
| ۶- نماینده تحصیلات تکمیلی | آقای دکتر سیدجواد مولی | استادیار | |

**بسمه تعالی**

# آیین نامهٔ چاپ پایان نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبین بخشی از فعالیتهای علمی – پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

**مادهٔ ۱** در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود ، مراتب را قبلا به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

**مادهٔ ۲** در صفحهٔ سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

***«کتاب حاضر، حاصل پایان نامهٔ کارشناسی ارشد / رسالهٔ دکتری نگارنده در رشتهٔ*** بیوشیمی ***است که در سال*** ۱۳۸۰ ***در دانشکدهٔ*** علوم پایه ***دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی سرکار خانم / جناب آقای دکتر*** سید کاظم بیدکی ،***مشاورهٔ سرکار خانم / جناب آقای دکتر*** پرویز عبدالمالکی ***و مشاورهٔ سرکار خانم / جناب آقای دکتر*** محمداسماعیل اکبری ***از آن دفاع شده است.»***

**مادهٔ ۳** به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

**مادهٔ ٤** در صورت عدم رعایت مادهٔ ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

**مادهٔ ۵** دانشجو تعهد و قبول می‌کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می‌تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند؛ به علاوه به دانشگاه حق می‌دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادهٔ ٤ را از محل توقیف کتابهای عرضه شدهٔ نگارنده برای فروش،تأمین نماید.

**مادهٔ٦** اینجانب **زهره زهرائی** دانشجوی رشته **بیوشیمی** مقطع **کارشناسی ارشد** تعهد فوق و ضمانت اجرایی ان را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

***نام و نام خانوادگی:*** زهره زهرائی

***تاریخ و امضاء:***

تقدیم به پدر و مادر بزرگوارم

همسر عزیزم

و دختر کوچکم درسا

و تقدیم به تمامی پویندگان راه علم

# قدردانی

**هیچ چیز را ندیدم، مگر آنکه خدا را قبل از آن و بعد از آن و با آن دیدم.**

**حضرت علی (ع)**

طی مراحل اجرای پایان نامه از مساعدت‌ها و راهنمایی‌های ارزشمند آقای دکتر سیدکاظم بیدکی بهره‌مند بوده‌ام که بدین طریق از ایشان قدردانی می‌نمایم. همچنین ازآقای دکتر پرویز عبدالمالکی که با راهنمایی‌های خود مرا یاری نمودند سپاسگزارم. اجرای این پایان نامه بدون مساعدتهای استاد ارجمند آقای دکتر محمداسماعیل اکبری، که بزرگوارانه یاریم نمودند، میسر نبود که بدین وسیله از ایشان تشکر می‌کنم. از جناب آقای دکتر حسین نادری منش و اساتید محترم گروه زیست شناسی که طی این دوره از محضرشان استفاده نموده‌ام تشکر می‌نمایم.

از سرکارخانم فضل زرندی، مسئول محترم آزمایشگاه بیوشیمی که در طول تحصیل از کمک‌های ایشان برخوردار بوده‌ام تشکر نموده و آرزوی موفقیت برایشان دارم. از سرکار خانم خرمشاد و سرکار خانم افشار که صمیمانه یاریم نمودند،تشکر می‌کنم. از دانشجویان گروه زیست‌شناسی و سایر دانشجویان که در به پایان رساندن این کار نقش داشتند، بویژه خانم پروین امیری ، آقای دکتر رضا حسن ساجدی و آقای محمد صفاریون قدردانی می‌نمایم. از کلیه دوستان دوره کارشناسی ارشد خصوصا خانم فرشته شمسی پور و خانم فاطمه مرادیان سپاسگزاری نموده و برای تمامی این عزیزان آرزوی توفیق بیشتر در کلیه سطوح زندگی را دارم.

**زهره زهرائی**

**تیرماه ۸۰**

# چکیده

یکی از مکانیسم‌های فعال شدن پروتوانکوژنها و ایجاد تومور تکثیر ژنی است. بررسی این تغییرات ژنتیکی به فهم ژنتیک تومور کمک کرده و اطلاعات مفیدی در مورد مراقبت بهتر از بیمار در اختیار ما قرار می‌دهد. ژن int-2 که فاکتور رشد فیبروبلاست ۳ (FGF-3) را کد می‌کند، در چندین فرآیند سلولی نظیر تکثیر سلولی، رگ زایی، بهبود زخم، تکامل جنین و پیشرفت تومور نقش دارد و باتوجه به اینکه جنبه‌های ژنتیکی و ملکولی این انکوژن در بیماران ایرانی تحقیق نشده است، این بررسی صورت پذیرفت.

برای تعیین ازدیاد ژن int-2 و ارتباط آن با سایر فاکتورهای پیش آگهی از تکنیک سریع، حساس و غیررادیواکتیو dqPCR در بیماران مبتلا به سرطان پستان و افراد سالم به عنوان کنترل، استفاده شد. پس از استخراج DNA از بافت توموری، میزان ازدیاد ژن int-2 ، بوسیله تکثیر همزمان آن با ژن اینترفرون گاما (Single copy gene) در واکنش PCR تحت شرایط مناسب تعیین شد. محصول PCR روی ژل پلی آکریل آمید برده شد و از نظر میزان تکثیر قطعات ژنی مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که ازدیاد ژن int-2 در ۳۳٪ موارد وجود دارد که با نتایج گزارش شده از جمعیت‌های دیگر (۲٤٪ - ۸) هماهنگی دارد و ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن int-2 و stage بالاتر وجود دارد. بیماران دارای ازدیاد ژن int-2 ، DFS (Disease Free Survival) پایین‌تری نسبت به بیماران فاقد ازدیاد ژن int-2 دارند و احتمال عود محلی در آنها بیشتر است. در نتیجه به نظر می‌رسد تعیین ازدیاد ژن int-2 به عنوان یک فاکتور پیش آگهی مستقل، قبل از درمان می‌تواند کمک مؤثری در مراقبت و درمان بهتر بیماری بنماید.

همچنین ازدیاد ژن int-2 در بیماران مبتلا به دیابت نیز مورد بررسی قرار گرفت و در ۹۰/۷٪ موارد ازدیاد ژن int-2 مشاهده شد. هرچند مکانیسم دقیق عمل این انکوژن در خصوص بروز دیابت روشن نیست اما، مطالعات نشان داد در بیماران دیابتی، ارتباط معنی‌داری بین ازدیاد ژن int-2 و مصرف انسولین بعنوان دارو وجود دارد که شاید مصرف انسولین به نحوی با ازدیاد ژن int-2 مرتبط باشد و از آنجا که محصول ژن int-2 یک فاکتور رگ زایی محسوب می‌شود ممکن است در عوارض رتینوپاتی دیابتیک و مراحل رگ زایی در شبکیه چشم افراد دیابتی دخیل باشد.

# فهرست مطالب

**عنوان** **صفحه**


فهرست جداول ..... V

فهرست نمودارها ..... VII

فهرست شکل‌ها ..... VIII

❑ **فصل اول : مقدمه**

۱-۱- سرطان ..... ۱

۱-۲- انواع سرطان ..... ۲

۱-۳- مراحل پیدایش سرطان ..... ۳

۱-٤- عوامل ایجاد سرطان ..... ۵

۱-۵- خصوصیات سلول‌های سرطانی ..... ۷

۱-۶- ژن‌های مؤثر در پیدایش سرطان ..... ۸

۱-۶-۱- ژنهای مؤثر در ترمیم DNA ..... ۸

۱-۶-۲- ژنهای سرکوبگر تومور ..... ۱۰

۱-۶-۳- انکوژنها ..... ۱۰

۱-۶-۳-۱- عملکرد پروتوانکوژنها ..... ۱۲

۱-۶-۳-۱-۱- فاکتورهای رشد ..... ۱۲

۱-۶-۳-۱-۲- گیرنده‌های فاکتورهای رشد ..... ۱۳

۱-۶-۳-۱-۳- انتقال دهنده‌های درون سلولی پیام ..... ۱۵

۱-۶-۳-۱-٤- پروتوانکوژنهای هسته‌ای و فاکتورهای نسخه برداری ..... ۱۷

۱-۶-۳-۱-۵- پروتئین‌های کنترل کننده چرخه سلولی ..... ۱۷

۱-۶-۳-۲- فعال شدن پروتوانکوژن‌ها و تبدیل آنها به انکوژن ..... ۱۹

۱-۶-۳-۲-۱- تغییرات ساختمانی ..... ۲۰
۱-۶-۳-۲-۲- فقدان مکانیسم کنترل ..... ۲۱
۱-۶-۳-۲-۳- ازدیاد ژنی ..... ۲۱
۱-۶-۳-۳- فاکتورهای رشد فیبروبلاست ..... ۲٤
۱-۷- سرطان پستان ..... ۲۷
۱-۸- عوامل خطر در سرطان پستان ..... ۲۹
۱-۹- شاخص‌های پیش آگهی در سرطان پستان ..... ۳۰
۱-۹-۱- وضعیت غدد لنفاوی زیربغل ..... ۳۰
۱-۹-۲- اندازه تومور اولیه ..... ۳۱
۱-۹-۳- نمای نسجی سرطان پستان ..... ۳۱
۱-۹-٤- مرحله بندی بالینی ..... ۳۲
۱-۹-۵- سن ..... ۳۲
۱-۹-۶- گیرنده‌های استروئید ..... ۳۲
۱-۹-۷- نسبت قد و وزن ..... ۳۲
۱-۹-۸- تغییرات ژنتیکی ..... ۳۲
۱-۹-۸-۱- تغییرات سیتوژنتیکی ..... ۳۵
۱-۹-۸-۲- غیرفعال شدن ژنهای سرکوبگر تومور ..... ۳۵
۱-۹-۸-۳- ازدیاد ژنی ..... ۳۵
۱-۱۰- روش‌های تشخیص سرطان پستان ..... ۳۷
۱-۱۱- روش‌های درمان سرطان پستان ..... ۳۷
۱-۱۲- دیابت شیرین ..... ۳۸
۱-۱۲-۱- دیابت وابسته به انسولین ..... ۳۹
۱-۱۲-۲- دیابت غیروابسته به انسولین ..... ۳۹
۱-۱۳- عوارض بیماری دیابت شیرین ..... ٤۰

۱-۱۳-۱- عوارض حاد بیماری دیابت شیرین ..... ٤٠
۱-۱۳-۲- عوارض ثانویه و مزمن بیماری دیابت شیرین ..... ٤١
۱-١٤- انسولین و ارتباط آن با فاکتورهای رشد ..... ٤١

## ❑ فصل دوم : مواد و روشها

۲-۱- مواد و محلول‌های لازم ..... ٤٤
۲-۲- روشها ..... ٤٨
۲-۲-۱- تهیه نمونه ..... ٤٨
۲-۲-۲- آماده سازی نمونه‌ها ..... ٥٢
۲-۲-۲-۱- برش‌گیری و پارافین زدایی بلوکهای پارافینی ..... ٥٢
۲-۲-۲-۲- جداسازی سلول‌های لنفوسیت از خون محیطی افراد دیابتی و شاهد ..... ٥٣
۲-۲-۳- استخراج کامل DNA ..... ٥٣
۲-۲-۳-۱- استخراج DNA از نمونه‌های پارافینی ..... ٥٣
۲-۲-۳-۲- استخراج کامل DNA از بافت جامد ..... ٥٤
۲-۲-۳-۳- استخراج کامل DNA از خون محیطی ..... ٥٥
۲-۲-٤- تعیین کمیت و کیفیت DNA ..... ٥٦
۲-۲-٥- تکثیر DNA به روش MULTIPLEX PCR ..... ٥٧
۲-۲-٥-۱- اصول PCR ..... ٥٧
۲-۲-٥-۲- روش عملی PCR ..... ٥٩
۲-۲-٦- الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید ..... ٦١
۲-۲-۷- مقایسه شدت باندها روی ژل پلی آکریل آمید ..... ٦٢
۲-۲-۸- تجزیه و تحلیل آماری ..... ٦٢

❑ **فصل سوم : نتایج**

۳-۱- سرطان..... ۶۵

۳-۲- دیابت..... ۷۲

❑ **فصل چهارم : بحث و پیشنهادات ..... ۷۸**

منابع و مأخذ..... ۸۱

ضمائم..... ۸۷

چکیده انگلیسی..... ۹۶

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

# فهرست جداول

**جدول** **صفحه**


جدول ۱-۱- عوامل فیزیکی و شیمیایی مؤثر در ایجاد سرطان انسان..... ۶

جدول ۱-۲- ویروس های مؤثر در ایجاد سرطان انسان ..... ۶

جدول ۱-۳- ژنهای مسئول ترمیم mismatch در باکتری، مخمر و انسان ..... ۹

جدول ۱-٤- نقش پروتوانکوژنها در سلول : فاکتورهای رشد ..... ۱۲

جدول ۱-۵- نقش پروتوانکوژنها در سلول: گیرنده‌های فاکتورهای رشد ..... ۱۳

جدول ۱-۶- نقش پروتوانکوژنها در سلول: انتقال دهنده‌های پیام ..... ۱۶

جدول ۱-۷- نقش پروتوانکوژنها در سلول: انکوژنهای هسته‌ای ..... ۱۷

جدول ۱-۸- مکانیسم‌های فعال شدن پروتوانکوژنها ..... ۲۰

جدول ۱-۹- انکوژن‌های amplify شده در تومورهای انسان..... ۲۳

جدول ۱-۱۰- پیامدهای فنوتیپی و بیولوژیکی تغییرات ژنتیکی خاص در تومورهای پستان..... ۳٤

جدول ۲-۱- ویژگی‌ها و شاخصهای پیش آگهی بیماران سرطانی مورد مطالعه .. ٤۹

جدول ۲-۲- ویژگی‌های بیماران دیابتی مورد مطالعه..... ۵۰

جدول ۲-۳- برنامه PCR برای تکثیر بخشهایی از ژن Int-2 و γ-INF در نمونه‌های پارافینی..... ۶۰

جدول ۲-٤- برنامه PCR برای تکثیر بخشهایی از ژن Int-2 و γ-INF در نمونه‌های خون و بافت تازه..... ۶۰

جدول ۲-۵- رنگ‌آمیزی ژل پلی آکریل آمید بوسیله نیترات نقره ..... ۶۱

جدول ۳-۱- ارتباط ازدیاد ژن int-2 با سایر فاکتورهای پیش آگهی ..... ۷۰

جدول ۳-۲- ارتباط ازدیاد ژن int-2 با سایر ویژگی‌ها دربیماران دیابتی..... ۷۵

# فهرست نمودارها

**نمودار** **صفحه**

نمودار ۳-۱- ارتباط ازدیاد ژن int-2 و DFS..... ۷۱

نمودار ۳-۲- ارتباط ازدیاد ژن int-2 و Stage ..... ۷۱

نمودار ۳-۳- ارتباط ازدیاد ژن int-2 و عود محلی ..... ۷۱

نمودار ۳-٤- ارتباط ازدیاد ژن int-2 و نوع داروی مصرف شده در

بیماران دیابتی..... ۷۶

# فهرست شکلها

**شکل** **صفحه**


شکل ۱-۱- مراحل پیشرفت تومور ..... ٤

شکل ۱-۲- مراحل پیشرفت سرطان کولون ..... ٤

شکل ۱-۳- جایگاه محصولات انکوژنی روی سلول ..... ۱۱

شکل ۱-٤- تحریک اتوکراین رشد سلول ..... ۱۳

شکل ۱-۵- دایمریزاسیون و اتوفسفریلاسیون گیرنده‌های پروتئین
تیروزین کیناز ..... ۱٤

شکل ۱-۶- مکانیسم فعال شدن انکوژن Tel/PDGFR ..... ۱۵

شکل ۱-۷- نحوه فعال شدن کنیازهای ERK/MAP..... ۱۶

شکل ۱-۸- فاکتور نسخه برداری AP-1 ..... ۱۷

شکل ۱-۹- القاءِ سایکلین‌های نوع D..... ۱۸

شکل ۱-۱۰- عملکرد پروتئین انکوژنی PML/RARα..... ۱۹

شکل ۱-۱۱- ازدیاد DNA..... ۲۲

شکل ۱-۱۲- خانواده فاکتورهای رشد فیبروبلاست ..... ۲۶

شکل ۱-۱۳- سرطان موضعی پستان ..... ۲۸

شکل ۱-۱٤- طبقه بندی TNM..... ۳۳

شکل ۱-۱۵- گیرنده‌های تیروزین کیناز ..... ٤۲

شکل ۳-۱- الگوی PAGE محصولات PCR ژن Int-2 و γ-INF..... ۶۵

شکل ۳-۲- الگوی PAGE محصولات PCR ژن Int-2 و γ-INF در دو گروه افراد
سرطانی و سالم ..... ۶۶