بسم الله الرحمن الرحیم

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع از رساله دکتری

خانم راضیه زارعی رشته **ایمنی شناسی پزشکی** رساله **دکتری** خود را با عنوان « **تنظیم محور سایتوکاینی IL-17/IL-23 و سلولهای تنظیم کننده T در بیماران مبتلا به سرطان معده درمان شده با غضروف کوسه ماهی و ویتامین A** » در تاریخ **۱۳۹۲/۴/۵** ارائه کردند.

بدینوسیله اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجه دکتری پیشنهاد می‌کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	امضاء
استاد راهنمای اصلی	دکتر زهیر صراف	
استاد راهنمای دوم	دکتر ابوالقاسم عجمی	
استاد مشاور	دکتر داریوش مسلمی	
استاد مشاور	دکتر امراله مصطفی زاده	
استاد ناظر	دکتر علی اکبر پور فتح اله	
استاد ناظر	دکتر طوبی غضنفری	
استاد ناظر	دکتر جمشید حاجتی	
استاد ناظرو نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر معصومه ابتکار	

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجوی مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب و یا نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده‌ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده‌ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین‌نامه‌های مصوب انجام شود.

ماده ۴- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵- این آیین‌نامه در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/۴/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/۴/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

«اینجانب **راضیه زارعی** دانشجوی رشته **ایمنی‌شناسی پزشکی** ورودی سال تحصیلی **۱۳۸۷** مقطع **دکتری تخصصی** دانشکده **علوم پزشکی** متعهد می شوم کلیه نکات مندرج در آیین نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس را در انتشار یافته های علمی مستخرج از پایان نامه / رساله تحصیلی خود رعایت نمایم. در صورت تخلف از مفاد آیین نامه فوق الاشعار به دانشگاه وکالت و نمایندگی می دهم که از طرف اینجانب نسبت به لغو امتیاز اختراع بنام بنده و یا هرگونه امتیاز دیگر و تغییر آن به نام دانشگاه اقدام نماید. ضمناً نسبت به جبران فوری ضرر و زیان حاصله براساس برآورد دانشگاه اقدام خواهم نمود و بدینوسیله حق هرگونه اعتراض را از خود سلب نمودم ».

امضا

تاریخ

۹۲/۱۰/۱۷

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 می شوند:

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

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

«کتاب حاضر، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد/ رساله دکتری نگارنده در رشته **ایمنی‌شناسی پزشکی** است که در سال **۱۳۹۲** در دانشکده **علوم پزشکی** دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی مشترک **آقای دکتر زهیرمحمدصراف و آقای دکتر ابوالقاسم عجمی** و مشاورهٔ **آقای دکتر داریوش مسلمی و آقای دکتر امراله مصطفی زاده** از آن دفاع شده است».

ماده ۳: به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تادیهٔ کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند 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 ۴ را از محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

ماده ۶: اینجانب **راضیه زارعی** دانشجوی رشته **ایمنی‌شناسی پزشکی** مقطع **دکتری تخصصی** تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: راضیه زارعی

تاریخ و امضاء: ۹۲/۱۰/۱۷

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم پزشکی

رساله

دوره دکتری تخصصی (Ph.D) در رشته ایمنی‌شناسی پزشکی

عنوان

تنظیم محور سایتوکاینی IL-17/IL-23 و سلول‌های تنظیم کننده T در بیماران مبتلا به سرطان معده درمان شده با غضروف کوسه ماهی و ویتامین A

نگارش

راضیه زارعی

اساتید راهنما

دکتر زهیرمحمد صراف- دکتر ابوالقاسم عجمی

اساتید مشاور

دکتر داریوش مسلمی – دکتر امراله مصطفی زاده

بهار ۱۳۹۲

تقدیم به:

پدر و مادر مهربانم، که در تمام سال‌های پرفراز و نشیب امار و به پیش زندگیم، یار و پشتیبان همیشگیم در لحظه لحظه آن بوده‌اند. هر آنچه دارم همگی از ذره ذره زحمات بی وقفه، بی شائبه و خستگی ناپذیر آنهاست. بلکه این رساله، سپاس کوچکی برای رنج بسیار بزرگ آنها باشد.

و

به همسر و پسر دلبندم که همراهی و همدلی آنان نیروی بزرگی به گامهایم بخشید. باشد که این تلاش، توشه‌ای شود در دست فرزندم، هر آنجا که آن را بر زمین نهادم، بردارد و محکمتر بسوی آینده رود.

تشکرو قدردانی

از زحمات بی دریغ و رهنمودهای آقایان دکتر زهیرمحمد (حسن) صراف استاد راهنمای اول محترم و استاد تمام دانشگاه تربیت مدرس، دکتر ابوالقاسم عجمی استاد راهنمای دوم محترم و استاد تمام دانشگاه علوم پزشکی ساری، دکتر داریوش مسلمی استاد مشاور اول محترم و دانشیار دانشگاه علوم پزشکی بابل، دکتر امراله مصطفی زاده استاد مشاور دوم محترم و استادیار دانشگاه علوم پزشکی بابل، دکتر محسن تهرانی عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ساری، هادی حسین نتاج- کارشناس ارشد ایمونولوژی، عراز محمد میرابی- کارشناس ارشد ایمونولوژی، سرکار خانم فرشیده عابدیان-کارشناس ارشد ایمونولوژی در دانشگاه علوم پزشکی ساری، آقای دکترعابدیان عضو هیئت علمی دانشگاه علوم پزشکی ساری، آقای دکترمهدی مهدوی عضو هیئت علمی انستیتو پاستور تهران، آقای امیرزکی پور کارشناس علوم آزمایشگاهی دانشگاه آزاد چالوس و سرکار خانم رودگری کارشناس علوم آزمایشگاهی بیمارستان شهید رجائی بابلسر قدردانی شایان بعمل می‌آید.

چکیده:

مقدمه: سرطان معده، به ترتیب سومین و چهارمین سرطان شایع در ایران و جهان و دومین سرطان کشنده در سراسر جهان است. تاثیر غضروف کوسه ماهی بر روی پاسخ‌های ایمنی ازجمله بالانس ایمونیتی Th1/Th2 و یا بالانس سلول‌های Foxp3 Treg با مسیر IL-23/IL17 در انسان مبتلا به تومور مورد مطالعه قرار نگرفته است. اما تاثیر ویتامین A در بالانس بین سلول‌های Foxp3 Treg با محور IL-23/IL-17 و یا دخالت آنها در رشد تومورهای انسانی نتایج متضادی گزارش شده است. از اینرو، در این مطالعه اثر این دو دارو بر روی بالانس این مسیرهای ایمنی همراه با مسیر سایتوکاینی Th1/Th2 در بیماران مبتلا به سرطان معده را مورد بررسی قرار داده‌ایم.

مواد و روش‌ها: ۴۹ بیمار مبتلا به سرطان معده عمدتا از نوع intestinal وحداقل یک ماه پس از اتمام درمانهای استاندارد، بصورت در دسترس انتخاب و به طور تصادفی به چهار گروه تحت درمان با غضروف کوسه ماهی، ویتامین A، غضروف کوسه ماهی بعلاوه ویتامین A و گروه کنترل (placebo) تقسیم شده‌اند. گروه درمانی اول با ۶۰ عدد کپسول ۱۵۰ میلی‌گرمی غضروف کوسه ماهی و گروه دوم با ۶۰ عدد قرص ۱۰mg ویتامین A، گروه سوم با هر دو داروی فوق تحت درمان قرارگرفتند.گروه کنترل هیچ دارویی دریافت نکرد. یک هفته پس از مصرف دارو با جداسازی سلول‌های تک هسته‌ای گردش خون بیماران و با کشت این سلول‌ها در مجاورت آنتی‌ژن مختص تومور سلول‌های Treg با فلوسایتومتری و از مایه رویی PBMCs کشت داده شده، سایتوکاین‌های TGF-β، IFN-γ، IL-4، IL-17 و IL-23 به روش الیزا اندازه‌گیری شدند. جهت شناسایی قابلیت تکثیر لنفوسیت‌ها در برابر آنتی‌ژن مختص تومور آزمایش MTT بعمل آمد.

یافته‌ها: با توجه به P<۰/۰۵ در گروهی که غضروف کوسه ماهی را دریافت کردند ، در مقایسه با گروه کنترل ، میزان IFN-γ افزایش، IL-4 و IL-17A گردش خون بیماران کاهش یافت. در بیمارانی که ویتامین A دریافت کردند میزان سلول‌های Treg، TGF-β، IL-4 و IL-17A افزایش یافت. در گروه سوم فقط IL-23 کاهش یافت.

نتیجه گیری نهایی: براساس یافته ها بنظر میرسد غضروف کوسه ماهی بتواند با کاهش ایمونیتی Th2 و افزایش فعالیت سلول‌های Th1 از طریق افزایش IFN-γ ، فعالیت ضدتوموری را در این گروه از بیماران تقویت کند. ولی ویتامین A احتمالا بیشتر در جهت حفظ هموستاز ایمنی در بیماران مبتلا به سرطان معده موثر باشد. اما در گروه سوم IL-23 کاهش یافت. از این‌رو، پیشنهاد می‌شود مصرف همزمان این دو دارو دوز مناسب برای کاهش اثر التهابی IL-23 را فراهم می‌سازد که می‌تواند در پیشگیری از رشد تومور مفید باشد.

واژگان کلیدی: غضروف کوسه ماهی، ویتامین A، سلول‌های Treg، سایتوکاین‌های TGF-β، IFN-γ، IL-4، محور IL-23/IL-17، سرطان معده.

فهرست علائم و اختصارات

APL:	acute promyelocytic leukemia
CIA:	collagen induced arthritis
DMSO:	di methyl sulfoxid
EAE:	experimental autoimmune encephalomeylitis
ERK1/2:	extracellular signal-regulated kinase1/2
IRF-4	Interferon regulatory factor-4
HAT:	Histone acetyltransferase
HDAC:	Histone deacetylase
HIF1α:	hypoxia inducible factor 1 alpha
LAG-3:	Lymphocyte Activating Gene-3
MDSC:	myeloid derived suppressor cell
NKC:	natural killer cell
NOS-2:	nitric oxid synthetase-2
PDL-1:	program death ligand-1
RAR:	retinoid nuclear receptor
RXR:	retinoid X receptor
VEGF:	vascular endothelial growth factor

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده ۱

۱-۱. سرطان معده..... ۲

۱-۲. پاسخ‌های ایمنی درسرطان معده..... ۲

۱-۳. سلول‌های $CD4^{+}CD25^{+}FOXP3^{HI}$T REGULATORY..... ۳

۱-۴. نقش ویتامین A در سرطان معده و تمایز سلول‌های ایمنی..... ۴

۱-۵. سلول‌های TH17 و محور IL-23/IL-17..... ۱۸

۱-۶. نقش ضد توموری غضروف کوسه ماهی..... ۲۰

فصل دوم: مواد و روش ها..... ۲۳

۲-۱. انتخاب بیماران..... ۲۴

۲-۲. مراحل و ترتیب انجام آزمایشات..... ۲۶

۲-۳. آزمایش MTT..... ۲۷

۲-۴. اندازه گیری سایتوکاین‌ها به روش الیزا..... ۲۹

۲-۵.حساسیت کیت سایتوکاین ها..... ۳۱

۲-۶. طرزتهیه محلول RPMI 1640..... ۳۱

۲-۷. طرزتهیه بافرPBS..... ۳۲

۲-۸. طرزتهیه محلول EDTA..... ۳۲

۲-۹. شمارش PBMCS..... ۳۳

۲-۱۰.طرز تهیه محلول MTT..... ۳۳

۲-۱۲. اندازه گیری سلولهای TREG با فلوسایتومتری ۳۴

۲-۱۳. رنگ آمیزی درون سلولی برای Foxp3 ..... ۳۴

فصل سوم: نتایج و یافته ها..... ۳۶

۳-۱.چکیده از روشها..... ۳۷

۳-۲. نتایج آزمایشات MTT ۳۷
۳-۳. نتایج آزمایشات الیزای سایتوکاین ها ۴۰
۳-۴. تغییرات سایتوکاین ها در گروه ویتامینA ۴۰
۳-۵. تغییرات سایتوکاین‌ها در گروه غضروف کوسه ماهی ۴۳
۳-۶.تغییرات سایتوکاین ها در گروه ویتامینA+ غضروف کوسه ماهی ۴۶
۳-۷. تغییرات سایتوکاین ها در گروه کنترل ۴۹
۳-۸. نتایج فلوسایتومتری سلول‌های TREGدر هریک از گروه‌ها ۵۱
۳-۹. کیفیت زندگی بیماران ۶۴

فصل چهارم: بحث، نتیجه گیری و پیشنهادها ۶۷
۴-۱. بحث و نتیجه‌گیری ۶۸
۴-۲.مطالعات گذشته در باره اثر ویتامین A ۶۹
۴-۳. اثر ویتامین A بر روی پاسخهای ایمنی بیماران مبتلا به سرطان معده ۷۰
۴-۴. نتیجه گیری نهایی از اثرات ایمنی ویتامینA در این مطالعه ۷۹
۴-۵. اثرغضروف کوسه ماهی بر بیماران مبتلا به سرطان معده ۸۱
۴-۶. مطالعات گذشته در باره اثر غضروف کوسه ماهی بر روی سایتوکاین ها ۸۲
۴-۷. مطالعات گذشته در باره اثر غضروف کوسه ماهی در سرطان ۸۲
۴-۸. نتیجه گیری نهایی در باره اثر غضروف کوسه ماهی در این مطالعه ۸۵
۴-۹.اثر مصرف همزمانی ویتامین A+ غضروف کوسه ماهی در این مطالعه ۸۵
۴-۱۰. نتیجه گیری نهایی در باره گروه کنترل ۸۶
۴-۱۱. کیفیت زندگی بیماران ۶ ماه پس از درمان ۸۶
۴-۱۲. پیشنهادها برای مطالعات آینده ۸۸

فهرست منابع و ماخذ ۹۰
چکیده انگلیسی ۹۷

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول (۳-۱) ویژگی های بیماران انتخاب شده..... ۳۷

جدول (۳-۲) میانگین ±انحراف معیارجذب نوری نمونه تحریک نشده و گروههای درمانی تحریک شده ۳۸

جدول (۳-۳) میانگین ±انحراف معیار سایتوکاین ها در گروه ویتامین A..... ۴۰۴

جدول (۳-۴) میانگین ±انحراف معیار سایتوکاین ها قبل و بعد درمان در گروه غضروف کوسه ماهی ۴۳

جدول (۳-۵) میانگین ±انحراف معیار قبل و بعد درمان در گروه ویتامینA+ غضروف کوسه ماهی ۴۶

جدول (۳-۶) میانگین± انحراف معیار در دو مرحله نمونه گیری از گروه کنترل ۴۹

جدول (۳-۷) میانگین ± انحراف معیار سلولهای Treg قبل و بعد درمان در هر چهار گروه..... ۵۲

جدول (۳-۸) کیفیت زندگی بیماران شش ماه پس از درمان در هر چهار گروه ۶۴

فهرست نمودارها

عنوان **صفحه**

نمودار(۲-۱) مراحل انجام آزمایشات قبل و بعد درمان ۲۶

نمودار (۲-۲) لنفوسیت های T بدون تحریک آنتی ژنی ۲۸

نمودار(۳-۱) میانگین جذب نوری در نمونه های سلولی بدون تحریک آنتی ژنی و نمونه های تحریک شده در هر سه گروه از بیماران ۳۹

نمودار(۳-۲) مقایسه سایتوکاین ها قبل و بعد از درمان در گروه ویتامین A ۴۱

نمودار(۳-۳) مقایسه بین گروهی سایتوکاین ها مابین گروه ویتامین A با گروه کنترل ۴۲

نمودار(۳-۴) مقایسه سایتوکاین ها قبل و بعد از درمان در گروه غضروف کوسه ماهی ۴۴

نمودار (۳-۵) مقایسه بین گروهی سایتوکاین ها مابین گروه غضروف کوسه ماهی و کنترل ۴۵

نمودار (۳-۶) مقایسه سایتوکاین ها قبل و بعد درمان در گروه ویتامینA+غضروف کوسه ماهی ۴۷

نمودار (۳-۷) مقایسه بین گروهی سایتوکاینها مابین گروه ویتامینA+غضروف کوسه ماهی با گروه کنترل ۴۸

نمودار (۳-۸) مقایسه سایتوکاین ها در نمونه گیری های اول و دوم در گروه کنترل ۵۰

نمودار (۳-۹) مقایسه قبل و بعد سلول های Treg در داخل هر چهار گروه از بیماران ۵۳

نمودار (۳-۱۰) مقایسه بین گروهی سلول های Treg مابین سه گروه درمان شده با گروه کنترل ۵۴

نمودار (۳-۱۱) دات پلات و هیستوگرام سلول های Treg قبل از درمان با غضروف کوسه ماهی ۵۶

نمودار (۳-۱۲) دات پلات و هیستوگرام سلول های Treg بعد درمان با غضروف کوسه ماهی ۵۷

نمودار (۳-۱۳) دات پلات و هیستوگرام سلول های Tregقبل از درمان با ویتامینA ۵۸

نمودار (۳-۱۴) دات پلات و هیستوگرام سلول های Treg بعد درمان باویتامین A ۵۹

نمودار (۳-۱۵) دات پلات و هیستوگرام سلول های Treg قبل ازدرمان باویتامینA+غضروف کوسه ماهی ۶۰

نمودار (۳-۱۶) دات پلات و هیستوگرام سلول های Treg بعد درمان با ویتامین A+غضروف کوسه ماهی ۶۱

نمودار (۳-۱۷) دات پلات و هیستوگرام سلول های Tregگروه کنترل در نمونه گیری اول ۶۲

نمودار (۳-۱۸) دات پلات و هیستوگرام سلول های Tregگروه کنترل در نمونه گیری دوم ۶۳

نمودار (۳-۱۹) درصد رضایت از سلامتی ۶ ماه پس از درمان در هر سه گروه درمان شده و کنترل ۶۵

نمودار (۳-۲۰) درصد توانایی انجام کار روزانه بیماران ۶ ماه پس از درمان در هر سه گروه درمان شده و کنترل ۶۶

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل (۱-۱) تولید ویتامین A توسط سلولهای دندریتیک روده کوچک ۵

شکل (۱-۲) چگونگی بیان FOXP3 توسط متابولیتهای ویتامین A و تمایز سلولهای T ۷

شکل (۱-۳) مسیر تمایز سلولهای T با توجه به تغییر در پروفایل سایتوکاینها در ریزمحیط آنها..... ۱۲

شکل (۱-۴) مسیر تمایز سلولهای TH17 ترشح کننده IL-17 با یا بدون IL-23 ..... ۱۵

شکل (۱-۵) آخرین یافته در مسیر تمایز سلولهای T توسط متابولیت های ویتامینA..... ۱۷

شکل (۱-۶) نقش دوگانه سلولهای TH17 و IL-17 در تومورها ۱۹

شکل (۴-۱) مسیر تمایز سلولهای naïve T تحت متابولیت های ویتامین A با یا بدونTGF-β..... ۷۲

شکل (۴-۲) چگونگی ممانعت از آنژیوژنز توسط پپتیدهای ضد توموری نظیر غضروف کوسه ماهی ۸۴

فصل اول:

مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

۱-۱. سرطان معده[1]

سرطان معده یا گاستریک کانسر از لحاظ شیوع به ترتیب سومین (وزارت بهداشت و درمان ایران- ۱۳۹۱) و چهارمین رتبه در ایران و جهان داشته و به جهت کشندگی دومین سرطان در سراسردنیا است[۱].سرطان معده را همچنین به دو گروه روده‌ای[2] و منتشره[3] تقسیم می‌کنند[۲]. تومورهای نوع روده‌ای در ناحیه کارپوس[4] معده بوجود میآید که به گاستریت آتروفی و متاپلازی روده‌ای تغییر می یابند. در حالیکه در تومورهای منتشره، گاستریت در تمام معده وجود دارد بدون آنکه دچار آتروفی شده باشند[۳]. تومورهای نوع روده‌ای غالبا در نواحی جغرافیائی خاصی دیده شده و از شیوع بالایی برخوردارند، در حالیکه نوع منتشره به یک شکل در سراسر جهان مشاهده می گردند[۴]. بالغ بر ۵۰٪ افراد در سراسر جهان آلوده به H.pylori هستند. اما، ۱۵-۱۰٪ افراد آلوده زخم معده میگیرند و ۳-۱٪ این افراد بعدا مبتلا به سرطان معده میشوند[۵].

۱-۲. پاسخ‌های ایمنی درسرطان معده

پاسخ‌های ایمنی در سرطان معده شامل ایمنی ذاتی و اکتسابی است. پاسخ ایمنی مشتمل بر فعالیت سلول‌های B و T، دندریتیک سل، ماکروفاژ و نوتروفیل‌هاست. سلول‌های Treg در چندین بدخیمی از جمله در سرطان معده افزایش مییابد[۶]. سلول‌هایTreg احتمالا در تیموس تولید شده و عملکرد آنها مهار پاسخ‌های ایمنی در اندامهای محیطی است، سلول‌های Treg در تنظیم پاسخ ایمنی، حفظ تولرانس و هموستاز ایمنی دخالت دارد[۷]، اتوایمونیتی و بقا سرطان را کنترل میکند[۸]، پس نقش مهمی در اتوایمونیتی، آلرژی، عفونت و القا تولرانس در برابر پیوند را بازی می‌کنند.

1- Gastric cancer
2- Intestinal- type
3- Diffuse- type
4- Corpus

۱-۳. سلول‌های $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{hi}$T regulatory

سلول‌های CD4+CD25+، ۱۰-۵٪ سلول‌های CD4+T گردش خون محیطی را تشکیل می‌دهند [۹،۱۰]. بیشتر سلول‌های Treg فنوتیپ CD4+CD25+ دارند. این سلول‌ها ۳-۲٪ سلول‌های CD4+T را می‌سازند[۱۱].

اگرچه، بیشتر سلول‌های Treg، CD4+CD25+ هستند، اما سلول‌هایCD25-Treg نیز وجود دارند[۱۳، ۱۲]که عمدتا پروتئینی سیتوپلاسمی بنام Foxp3 را دارند. علاوه بر این، CD103 یا اینتگرین α4β7 که به E–کادهرین سلول‌های اپیتلیال متصل و موجب ابقا لنفوسیت‌ها دربافتها شده را نیز دارند. این مارکر در لانه گزینی و استقرار Treg در بافت ملتهب دخالت دارد[۱۴]از اینرو بعنوان مارکر زیرگروهی ازTreg در پوست نیز مطرح می‌باشد[۱۵].

CD39 وCD73 اکتونوکلئوتیداز غشائی هستند که ATP را به ادنوزین تبدیل کرده و بعنوان مارکرهایی برای تشخیص دقیقتر CD4+CD25+Foxp3Treg از سایر سلول‌های T نیز مطرح شده است[۱۶، ۱۷]. در حال حاضر گفته می شود که سلول‌های Treg با پنج مکانیزم پاسخ‌های ایمنی را تنظیم و در هموستاز ایمنی دخالت می‌کنند:

۱- اختلال متابولیکی، در این مسیر سلول‌های Treg بوسیله اکتونوکلئوتیداز غشائی خود ملکول‌های ATP خارج سلولی که از سلول‌های تخریب شده در محل التهاب آزاد میشوند را به آدنوزین تبدیل میکند. ATP آزاد شده یک سیگنال خطر است و کیمواترکتانت لنفوسیت‌ها [۱۸]، فعال کننده پاسخ‌های التهابی و القا کننده درد موضعی است[۱۹].

۲- تغییر بلوغ DC، سلول‌های Treg از طریق واکنش CTLA4/CD80CD86 سلول‌های DC را مهار و موجب تولروژنیک شدن DC می‌شود و از اینطریق سلول هدفشان را تنظیم می‌کنند[۲۰، ۲۱].

۳- سایتولیز بواسطه گرآنزیم A وB، در انسان سلول‌های Treg با ترشح گرآنزیم A و در موش با تولید گرآنزیم B موجب مرگ سلول هدف به روش وابسته به پرفورین می‌شود[۲۲].

۴- تولید سایتوکاین‌های مهاری نظیر IL-10, TGF-β و IL-35 [۴].

۵- سلول‌های Treg موجب تنظیم تولرانس محیطی در برابر آنتی‌ژن‌های خودی میشوند.

سلول‌های Treg علاوه بر واکنش CTLA4/CD80CD86 از طریقLAG-3 خود با ملکول MHC-II

سلول دندریتیک واکنش داده و از فعالیت DC جلوگیری میکند.

سلول‌های APC حرفه‌ای نظیر DC, MQ و سلولهای B کیمواترکتانت هائی نظیر CCL4 را تولید کرده که موجب جذب این سلول‌ها به بافت می‌شوند[۲۳]. سلولهایTreg با فعال کردن پروتئین پروآپوپتتیک Bim، کاسپازها را فعال و موجب آپوپتز سایر سلول‌ها از جمله سلول‌های T میشوند[۲۴]. در سرطان معده ، تعداد سلول‌های Treg افزایش مییابد.

$CD25^{+}Foxp3^{+}$ Treg cells التهاب گاستریک و کلونیزه شدن هلیکوباکتر پیلوری[1] را در بدن تنظیم می‌کند[۸۰] .بدین صورت که سلول‌های Treg که بوسیله باکتریهای کومنسال بوجود می‌آیند از بدن در برابر التهاب باکتریهای پاتوژن محافظت می‌کنند[۸۱].

همچنین ال ترانس رتینوئیک اسید (ATRA) از متابولیت های ویتامین A موجب تبدیل سلول‌های naïve CD4+T خون محیطی به سلول‌های Treg میشوند که عملکرد مهاری پایداری دارند(۵)، ATRA رشد و تمایز سلول‌های Treg را افزایش می‌دهد[۲۷].

۱-۴. نقش ویتامین A در سرطان معده و تمایز سلول‌های ایمنی

ویتامین A و متابولیت هایش نظیر رتینوئیک اسید، عامل فعال و وسیع الطیفی در تمایز سلول‌های ایمنی، حفظ هموستاز ایمنی و بهبودی انواع اتوایمونیتی می‌باشد[۲۸]. ATRA و آگونیست هایش (PAR-α) با بیان Foxp3 از تشکیل سلولهایTh17 جلوگیری می کند[۲۹].

رتینوئیک اسید تنظیم کننده کلیدی پاسخ ایمنی وابسته به TGF-β است، از اینرو موجب تمایز Treg ضد التهابی هم می‌شود[۳۰]. نقص ویتامین A موجب کاهش یا عدم توازن سلول‌های Treg، زیادی سلول‌های Th1 و کمی Th2 می‌گردد[۸۲].

ویتامینA و ویتامین D بوسیله گیرنده هترودایمرشان (گیرنده ویتامین A، هترودایمر RXR/PPARγ و گیرنده ویتامین D، هترودایمر RXR/VDR است) موجب تولید TGF-β و پیام رسانی آن از طریق Smad3، تولید Foxp3 و افزایش سلول‌های Treg و عملکرد مهاری آنها می‌شوند. همچنین از تولید سلول‌های $T_{effector}$ تولید کننده IL-2 و سلول‌های Th1 و Th17 جلوگیری می‌کند. این تنظیم ایمنی بوسیله ویتامینA و D صورت می‌گیرد[۸۳].

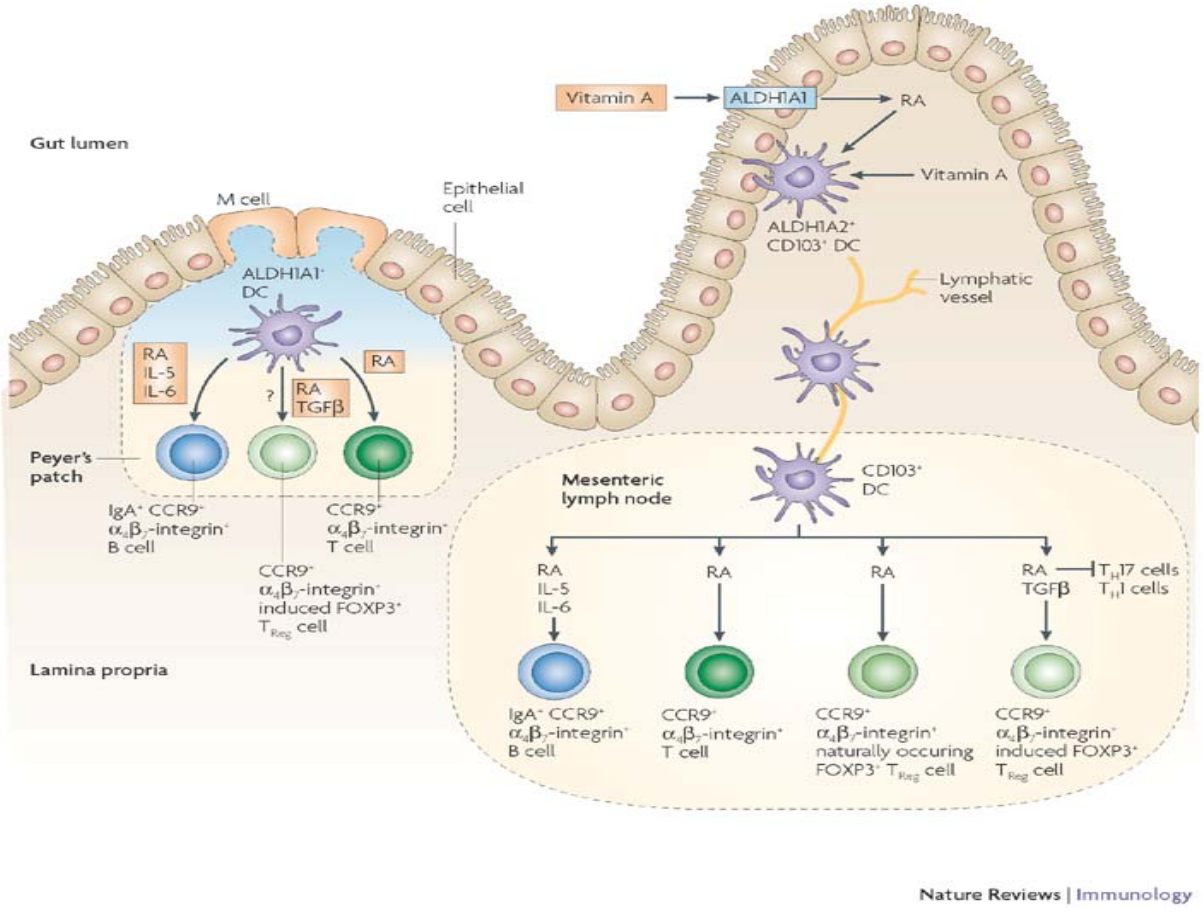
1- Helicobacter pylori

پروفرم ویتامین A در غذاها به شکل رتینول[1] جذب و سپس به رتینال[2] و رتینوئیک اسید[3] تبدیل می‌شود[۳۱]. به رتینوئیک اسید و سایر مشتقات ویتامین A ، رتینوئید می گویند.

همچنین رتینول می‌تواند از کاروتنوئیدهای پرووویتامین A نظیر بتا- کاروتن بوجود آید[۳۲].

پروتئین‌های متصل شونده به رتینول در پلاسما و پروتئین‌های متصل شونده به رتینول سلولی، رتینول را حمل ونقل و پایدار می‌کنند[۳۳].

برخی از سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن گوارشی نظیر سلول‌های دندریتیک روده کوچک، قادرند از ویتامین A، رتینوئیک اسید بسازنند[۳۴].



شکل (۱-۱)تولید ویتامین A توسط سلولهای دندریتیک روده کوچک.

ویتامین A (رتینول) بوسیله ابرخانواده دهیدروژناز[4] به رتینال تبدیل می‌شود. رتینال توسط رتینال

1- Retinol
2- Retinal
3- Retinoic acid
4- Alcholol dehydrogenase

دهیدروژناز[1] به رتینوئیک اسید تبدیل می‌گردد. ADH5 بوسیله سلول‌های دندریتیک تمام بافتهای لنفاوی ثانویه و ADH1 وADH4 ترجیحا بوسیله سلول‌های دندریتیک گوارش و RALDH1 بوسیله سلول‌های دندریتیک پلاکهای پی یر و RALDH2 بوسیله سلول‌های دندریتیک گرههای لنفاوی مزانتریک تولید می‌گردند[۳۴].

رتینوئیک اسید تولید شده بوسیله سلول‌های دندریتیک روده موجب بیان دوگیرنده لانه گزینی بنام CCR9 و α4β7 در سلول‌های T و در نتیجه موجب مهاجرت این سلول‌ها به روده کوچک می‌شود[۳۴] . CCR9 گیرنده TECK/CCL25است. α4β7 بعنوان ملکول چسبان برای غلت خوردن[2] لنفوسیت‌ها عمل کرده و موجب اتصال محکم لنفوسیت‌ها به سلول‌های اندوتلیال می‌شود.اتصال محکم از طریق واکنش α4β7 با لیگاندش madCAM-1 صورت می‌گیرد[۳۵، ۳۶]. رتینوئیک اسید با یا بدون TGF-β با ممانعت از تمایز سلولهای Th1 و Th17 و القای Foxp3 Treg و همراه با IL-4,5 موجب تولید سلولهایB ترشح کننده IgA می شود[۳۶].

در میان متابولیت‌های ویتامین A ، ۱۱- سیس رتینال[3] و آل ترانس رتینوئیک اسید[4] و ۹- سیس رتینوئیک اسید اعمال بیولوژیکی اصلی ویتامین A را انجام میدهند[۳۶].

ویتامین A اعمال چند گانه[5] در بدن دارد. ۱۱- سیس رتینال بعنوان کروموفور، موجب جذب نور در بینائی می‌شود، و رتینوئیک اسید در تشکیل استخوان، تولید مجدد و تمایز انواع سلول‌ها در دوران جنینی دخالت دارد[۳۲]. با توجه به این امر، کمبود و یا زیادی رتینوئید، تراتوژن[6] است[۳۷] .

ویتامین A نقش مهمی در سیستم ایمنی بازی میکند. از جمله در تشکیل سطوح اپیتلیالی چشم، مخاط تنفس، ادراری و گوارشی و همچنین پوست دخالت داشته و بعنوان سدی از نفوذ پاتوژن جلوگیری می‌کند. رتینوئیدها با تاثیر بر روی تمایز و مرگ سلول، فرآیند کارسینوژن را در برخی از سرطانها از جمله سرطان حفره دهان[7]، سرطان سر و گردن، پستان، پوست، کبد و سلول‌های خونی را مهار می‌سازد[۳۸] .

ATRA و ۹- سیس رتینوئیک اسید لیگاندهای گیرنده‌های هسته‌ای رتینوئید: RARα، RARβ،

1- RALDH
2- Rolling
3- 11-cis retinal
4- All-transe retinoic acid(ATRA)
5- Pleiotropic
6- Teratogenesis
7- Oral cavity cancer