١٠٧٩٠

۸۷/۱/۱۰۲۹۱۴
۸۷/۱۲/۱۴

دانشگاه تربیت معلم
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

اثر زهرزنبور عسل برروی قدرت تمایزی آل-ترانس رتینوئیک اسید در رده سلولی HL-60

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد سلولی- تکوینی جانوری

استاد راهنما
دکتر کاظم پریور

اساتید مشاور
دکتر محمد نبیونی
دکتر فاطمه نادعلی

دانشجو
هانیه جلالی

۱۳۸۷/۱۰/۲۱

شهریور ۱۳۸۷

۱۰۷۶۴۰

تقدیم به

قلب مهربان مادر

و

روح بزرگوار پدر

که دعای خیرشان بهانه ای برای لطف پروردگارم شد

تقدیر و تشکر:

سپاس خالق یکتایی را که مرا توان دانش اندوزی بخشید و پیمودن این مسیر سخت را سهل نمود.

مراتب سپاس وتشکر خود را به تمامی اساتید وبزرگوارانی که در تمامی سالهای تحصیل از محضر گرانقدرشان بهره برده ام تقدیم می نمایم.

از استاد گرامی وبزرگوار جناب آقای دکتر کاظم پریور که افتخار شاگردی را نصیب بنده نموده و در طی این پروژه مرا راهنمایی نمودند کمال تشکر را می نمایم.

از استاد گرانقدر جناب آقای دکترمحمد نبیونی که در تمام مراحل کار با مهربانی، صبوری و پشتکار مرا یاری نمودند و مساعدتهایشان انگیزه ای برای ادامهٔ راه بود، سپاسگزار بوده و نهایت تشکر را دارم.

از سرکار خانم دکتر فاطمه نادعلی که در کمال مهربانی مرا یاری نمودند تشکر می نمایم.

از اساتید محترم سرکار خانم دکتر مهناز آذرنیا و سرکار خانم دکتر هما محسنی کوچصفهانی که مساعدتها و راهنماییهای لازمه را مبذول بنده داشتند تشکر می نمایم.

از اساتید بزرگوار سرکار خانم دکتر کوچصفهانی و جناب آقای دکتر زینلی که داوری این پایان نامه را بر عهده داشتند و هم چنین از مدیر محترم گروه سرکار خانم دکتر عریان و نماینده محترم تحصیلات تکمیلی آقای دکتر قهرمانی نژاد سپاسگزار می باشم.

از ریاست محترم دانشکدهٔ علوم جناب آقای دکتر فیاضی ، جناب آقای دکتر طهماسب ، جناب آقای دکتر بوجار ، سرکار خانم میر ابوالقاسمی ، وتمامی افرادی که در گروه زیست شناسی ودانشکدهٔعلوم، در طی این پروژه مرا یاری نمودند نهایت سپاس را می نمایم.

از دوست عزیز و مهربانم خانم مریم رحیمی که در طول کار کمال همکاری را با بنده نمودند بسیار سپاسگزارم.

از دوستان و همکلاسیهای محترم و تمامی دوستانی که در طول این مدت کمک نمودند تشکر می نمایم.

از جناب آقای مهندس محمود زاده که در مواقع نیاز یاری رسان بنده بودند نهایت سپاس را دارم.

از جناب آقای دکتر مهدوی در گروه ایمونولوژی دانشگاه تربیت مدرس که در مرحله ای از کار خالصانه کمک فرمودند تشکر می نمایم.

و درپایان؛

نهایت احترام ،تشکر و سپاس خود را خدمت خانوادهٔ محترم خویش بویژه مادر فداکارم که در تمامی دوران زندگی و تحصیلم همچون چراغی ، روشنی بخش راهم بوده اند نثار می نمایم.

اثر زهرزنبور عسل برروی قدرت تمایزی آل-ترانس رتینوئیک اسید دررده سلولی HL-60

سرطان حاد پرومیلوسیتی نوعی از سرطان حاد میلوئیدی است که با تکثیر بی رویهٔ پرومیلوسیتها ومهار شدن تمایز آنهابروز می کند؛ ردهٔسلولی HL-60 یک ردهٔسلولی متعلق به سرطان حاد پرومیلوسیتی است و ردهٔسلولی بسیار مناسبی جهت بررسی تکثیر ، تمایز ومرگ سلولی سلولهای سرطانی می باشد. آل-ترانس رتینوئیک اسید موجب تمایز بلاستهای APL و ردهٔسلولی HL-60 بسمت نوتروفیلهای بالغ میگردد اما اثرات درمانی آن همیشه تحت تأثیر سمیت آن بوده است. یک روش جهت رفع این مشکل استفاده از موادی است که موجب افزایش تمایز این سلولها در حضور غلظتهای پایینتر و غیر سمی تر رتینوئیک اسید گردد.تجربیات انجام گرفته نشان داده اند برخی از مواد با ویژگیهای ضد-تکثیری ،ضد التهابی وآنتی اکسیدانی در افزایش تمایز سلولهای لوکمیایی موثر میباشند.زهر زنبور عسل حاوی انواع پپتیدها، آنزیمها، آمینهای فعال بیولوژیکی و مواد غیر پپتیدی میباشد؛ مطالعات اخیر نشان داده زهر زنبور دارای اثرات ضد تکثیری و ضد التهابی میباشد.

در این پروژه اثر زهر زنبور بر روی تکثیر وتمایز ردهٔسلولی HL-60 بررسی و با اثر آل-ترانس رتینوئیک اسید مقایسه شد. ردهٔسلولی HL-60 از انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سلولها در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاوی و ۱٪ استرپتومایسین-پنیسلین در دمای $37^{\circ}c$ و در فشار ۵٪ CO_2 کشت شدند. روش شمارش تریپان بلو و روش MTT جهت تعیین دوزهای سمی و غیر سمی وبررسیهای مورفولوژیکی و تست NBT جهت تعیین تمایز استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان داد که زهر زنبور وآل-ترانس رتینوئیک اسید هر دو در دوزهای بالا موجب مرگ سلولی و در دوزهای پایینتر در الگویی وابسته به دوز و زمان موجب مهار تکثیر این سلولها میگردند. آل-ترانس رتینوئیک اسید در غلظت ۱ میکرو مولار موجب تمایز سلولها پس از طی ۷۲ ساعت شد؛ زهر زنبور در غلظت۲/۵ میکروگرم در میلی لیتر موجب تمایز این سلولها نشد اما موجب افزایش مهار تکثیر و القاء تمایز در حضور آل-ترانس رتینوئیک اسیدگردید که نتایج بدست آمده بترتیب درحد $P<0.001$ و $P<0.05$ معنی دار بودند. مکانیسم عمل زهر زنبور بخوبی معلوم نیست اما بنظر میرسد زهر زنبور با مسیرهای مولکولی متعددی ازجمله کاسپازها، NF-κB ، AKT ، ERK وPTEN برهمکنش داشته باشد و ممکن است از طریق این مسیرها عملکرد آل-ترانس رتینوئیک اسید در این سلولها را تحت تأثیر قرار دهد.

بنظر میرسد زهر زنبور ماده ای موثر در القاء مرگ سلولی و یا مهار تکثیر سلولهای HL-60 باشد و بتواند تمایز این سلولها را در حضور آل-ترانس رتینوئیک اسید افزایش دهد.

گل واژگان:ردهٔ سلولی HL-60 ،زهر زنبور عسل ،آل-ترانس رتینوئیک اسید،تمایز

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

مقدمه **۱**

۱-۱- تمایزمیلوئیدی ۲

۱-۱-۱- فاکتورهای رونویسی دخالت کننده در تنظیم تمایزمیلوئیدی ۲

۱-۱-۲- تمایزگرانولوسیتها ٤

۱-۲- سلولهای سرطانی بنیادی و تمایز درمانی ۵

۱-۳- سرطان حادپرومیلوسیتی ۷

۱-٤- ردهٔ سلولی HL-60 ..... ۱۰

۱-۵- رتینوئیدها و سرطان ۱۱

۱-۵-۱- متابولیسم رتینوئیدها ۱۲

۱-۵-۲- اثر رتینوئیک اسید بر روی سلولهای سرطانی ۱٤

۱-۵-۳- اثر آل-ترانس رتینوئیک اسید بر روی

ردهٔ سلولی HL-60 ..... ۱۵

۱-٦- زهر زنبور عسل ۱٦

۱-٦-۱- ترکیبات موجود در زهر زنبور ۱٦

۱-٦-۲- اثرات درمانی زهر زنبور عسل و اثر آن بر روی رده های سلولی سرطانی..... ۱۸

۱-۷- هدف از پژوهش..... ۲۱

فصل دوم

مواد وروشها..... ۲۳

۲-۱- مواد و وسایل مورد نیاز..... ۲٤

۲-۱-۱- مواد مورد نیاز ۲٤

۲-۱-۲- وسایل مورد نیاز..... ۲۵

۲-۱-۲-۱- دستگاهها..... ۲٤

۲-۱-۲-۲- وسایل مصرفی..... ۲٦

۲-۲- روشها..... ۲۷

۲-۲-۱- تهیهٔمحیط کشت ومحلولهای مورد نیاز..... ۲۷

۲-۲-۱-۱- تهیهٔ محیط کشت RPMI 1640..... ۲۷

۲-۲-۱-۲- تهیهٔ محلول PBS ۲۸

۲-۲-۱-۳- تهیهٔ محلول اولیهٔ آل-ترانس رتینوئیک اسید..... ۲۸

۲-۲-۱-٤- تهیهٔ محلول اولیهٔ زهر زنبور..... ۲۸

۲-۲-۱-۵- تهیهٔ محلول اولیهٔ MTT ۲۸

۲-۲-۱-٦- تهیهٔ محلول اولیهٔ NBT ۲۹

۲-۲-۱-۷- تهیهٔمحلول اولیهٔ PMA ۲۹

۲-۲-۱-۸- تهیهٔ رنگ رایت – گیمسا..... ۲۹

۲-۲-۱-۹- تهیهٔ محلول تریپان بلو ۰/٤ درصد..... ۳۰

۲-۲-۲- روش پاساژ سلولی..... ۳۰

۲-۲-۳- روش منجمد نمودن سلولها..... ۳۱

۲-۲-٤- روش ذوب نمودن سلولهای منجمد شده..... ۳۱

۲-۲-۵- روش شمارش تریپان بلو و تعیین درصد سلولها ی زنده..... ۳۲

۲-۲-٦- تنظیم غلظت آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

در محیط کشت سلول..... ۳۲

۲-۲-۷- روش MTT ۳۳

۲-۲-۸- روش NBT ۳۵

۲-۲-۹- روش رنگ آمیزی رایت – گیمسا..... ۳۵

۲-۲-۱۰- روشهای آنالیز آماری..... ۳٦

فصل سوم

نتایج..... ۳۷

۳-۱- نتایج رشد وتکثیر سلولهای HL-60 بدون تأ ثیر مواد..... ۳۸

۳-۲- اثر آل-ترانس رتیوئیک اسید بر روی تکثیر

و بقاء سلولهای HL-60 ..... ۳۹

۳-۲-۱- نتایج اثر آل-ترانس رتیوئیک اسید بر روی

تکثیر و بقاء سلولهایHL-60 با استفاده از شمارش تریپان بلو..... ۳۹

۳-۲-۲- نتایج اثر آل-ترانس رتیوئیک اسید بر روی

تکثیر و بقاء سلولهایHL-60 با استفاده از روشMTT ٤٠

۳-۳- اثر زهر زنبور بر روی تکثیر و بقاء سلولهای HL-60..... ٤٥

۳-۳-۱- نتایج اثر زهر زنبور بر روی تکثیر و بقاء

سلولهای HL-60 با استفاده از شمارش تریپان بلو..... ٤٥

۳-۳-۲- نتایج اثر زهر زنبور بر روی تکثیر

و بقاء سلولهای HL-60 با استفاده از روش MTT..... ٤٦

۳-۳-۳- مقایسهٔ اثر آل-ترانس رتیوئیک اسید با زهر زنبورعسل

بر روی تکثیر و بقاء سلولهای HL-60 ..... ٤٦

۳-٤- اثر هم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور بر روی

تکثیر و بقاء سلولهای HL-60..... ٥٢

۳-٤-۱- نتایج اثر هم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

بر روی تکثیر و بقاء سلولهای HL-60 با استفاده از شمارش تریپان بلو..... ٥٢

۳-٤-۲- نتایج اثر هم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

بر روی تکثیر و بقاء سلولهای HL-60 با استفاده از روش MTT ۵۳

۳-۵- اثر آل-ترانس رتینوئیک اسید بر تمایز سلولهای HL-60 ..... ۵۸

۳-۵-۱- نتایج اثر آل-ترانس رتینوئیک اسید بر تمایز سلولهای HL-60

براساس تغییرات مورفولوژیکی..... ۵۸

۳-۵-۲- نتایج اثر آل-ترانس رتینوئیک اسید بر تمایز سلولهای

HL-60 براساس سنجش NBT..... ۵۹

۳-٦- اثر زهر زنبور بر تمایز سلولهای HL-60 ..... ٦۵

۳-٦-۱- نتایج اثر زهر زنبور بر تمایز سلولهای HL-60

براساس تغییرات مورفولوژیکی..... ٦۵

۳-٦-۲- نتایج اثر زهر زنبور بر تمایز سلولهای HL-60

براساس سنجش NBT ٦۵

۳-۷- اثرهم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

بر تمایز سلولهای HL-60..... ٦۹

۳-۷-۱- نتایج اثرهم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

بر تمایز سلولهای HL-60 بر اساس تغییرات مورفولوژیکی..... ٦۹

۳-۷-۲- نتایج اثرهم افزایی آل-ترانس رتینوئیک اسید و زهر زنبور

بر تمایز سلولهای HL-60 بر اساس سنجش NBT ٦٩

فصل چهارم

بحث و تفسیر **٧٥**

٤-١- مروری بر مکانیسمهای دخیل در اثرات آل-ترانس

رتینوئیک اسید بر تکثیر و تمایز سلولهای HL-60 ..... ٧٧

٤-٢- مروری بر مکانیسمهای دخیل در اثرات بیولوژیکی

زهر زنبور عسل ٨٣

٤-٣- نتیجه گیری ٨٨

٤-٥- پیشنهادات ٨٩

فصل پنجم

منابع **٩٠**

فصل اول

مقدمه

سلولهای بنیادی خونساز موجود در مغز استخوان در طی زندگی جنینی و بالغ بسمت سرنوشتهای میلوئیدی و لنفوئیدی تمایز پیدا می کنند؛ سیستم ایمنی متشکل از سلولهای دودمان میلوئیدی است که خود شامل مونوسیت، ماکروفاژ وگرانولوسیت می باشد. تمایز سلولهای بنیادی خونساز بسمت دودمان میلوئیدی برنامهٔ ژنتیکی برنامه ریزی شده ای است که شامل انواع فاکتورهای رونویسی، رشد، محرک و سایر عوامل می باشد

.(Verploegen., 2002)

۱-۱- تمایز میلوئیدی

تمایز میلوئیدی را می توان یکسری از تعهدات[1] سرنوشت سلولی[2] دانست که با تعهد سلولهای بنیادی خونساز[3] بسمت سرنوشت میلوئیدی آغاز می شود. این سلولهای متعهد شده بصورت زیر دودمانی[4] تخصص می یابند، بعنوان مثال بسمت سرنوشتهای مونوسیتی، ماکروفاژی و یا گرانولوسیتی تمایز پیدا می کنند. تمایز میلوئیدی توسط فاکتورها وعوامل مختلفی نظیر سایتوکینها، فاکتورهای محرک[5]، گیرنده های آنها و فاکتورهای رونویسی متعددی تنظیم میگردد .

(Skalnik.,2002)

۱-۱-۱- فاکتورهای رونویسی دخالت کننده در تنظیم تمایز میلوئیدی

از کار انداختن[6] بیان فاکتورهای رونویسی با استفاده از مهار کننده های آنتی سنس[7] و یا نوترکیبی

---

[1] -Commitments
[2] -Cell fate
[3] -Hematopoietic stem cell
[4] -Sub lineage
[5] -Stimulating factors
[6] -Ablation
[7] -Anti-sense

هومولوکوسی در سلولهای بنیادی جنینی، امکان بررسی نقش انواع فاکتورها در مسیر تکوین[1] میلوئیدی را فراهم نموده است. فعالیت این فاکتورهای رونویسی توسط تنظیم رونویسی ، برهمکنشهای پروتئینی و تغییرات کووالانسی قابل تنظیم می باشد. از جملهٔ این فاکتورهای رونویسی می توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱- Acute Myeloid Leukemia یا AML، عضوی از خانوادهٔ CBF (Core binding factor)می باشد و بیان آن طی رشد و نمو میلوئیدی اولیه بالا می باشد اما بدنبال مرحلهٔ پرومیلوسیتی بیان آن کاهش می یابد، در نتیجه AML در تنظیم بیان ژنهای دخیل در مراحل اولیهٔ رشد و نمو میلوئیدی از قبیل CD38، GM- CSF و interleukin 3(IL-3) دخالت می کند (Wang and Speck.,1992 , Takashi et al.,1995 , Uchida et al.,1997).

۲- پروتئینهای متصل شونده به توالی تسریع کنندهٔ[2] CCAAT ، در تنظیم رشد و نمو میلوئیدی مهم می باشند و C/EBPα بعنوان عضوی ازاین خانواده درطی مراحل اولیهٔ تمایز گرانولوسیتی بمیزان بالایی بیان می شود، اما در مراحل انتهایی و یا طی تمایز مونوسیتی/ماکروفاژی بیان آن کاهش می یابد(Tsutsumi-Ishii et al.,2000).

۳- PU.1، در سلولهای B و ماکروفاژها بمیزان بالا و در گرانولوسیتها و ائوزینوفیلها بمیزان کمتر بیان میشود اما در سلولهای خونساز اولیهٔ $CD34^+$ بیان آن پایینتر می باشد. نواحی اتصال PU.1 تقریباً در پروموتور تمامی ژنهای محدود به سلولهای میلوئیدی نظیر ژنهای گیرنده های M-CSF وGM-CSF وجود دارد (Chen et al,1995).

---

[1] -Development
[2] -Enhancer

٤- C-myb و C-myc، هردواین ژنها اونکوپروتئینهایی[1] را تولید می کنند که درسلولهای پیش ساز[2] خونساز در حال تکثیر بیان می شوند و طی تمایز بیان آنها کاهش می یابد، بالا بردن بیان آنها منجر به عدم تمایز این سلولها خواهد شد(Skalnik.,2002).

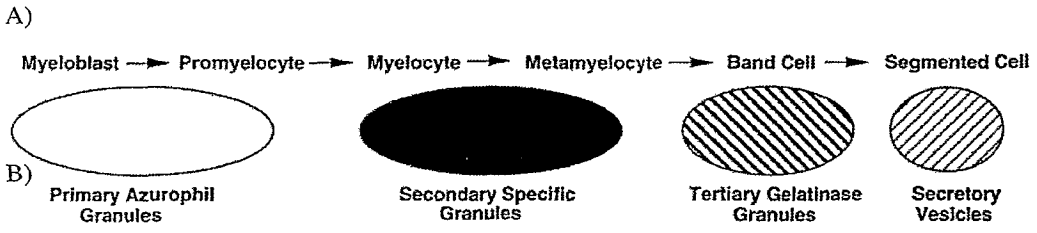
٥- Specificity Protein 1 یا Sp1 ، در سلولهای میلوئیدی بمیزان بالایی بیان می شود و برای بیان تعدادی از ژنهای مخصوص میلوئیدی ازجمله الاستازنوتروفیلی، پروتئیناز ۳ ، میلوپراکسیداز، CD14، CD18، CD11b و CD11c لازم می باشد(Saffer et al., 1991) .

۱-۱-۲- تمایز گرانولوسیتها

گلبولهای سفید خون یا لوکوسیتها را می توان به گرانولوسیتها، مونوسیتها و لنفوسیتها تقسیم بندی نمود. همانطور که از نام آنها پیداست گرانولوسیتها در سیتوپلاسم خود دارای گرانول می باشند، این سلولها بیشترین تعداد سلولهای خون را تشکیل می دهند و خود به نوتروفیل ، ائوزینوفیل و بازوفیل تقسیم می شوند (Verploegen.,2002) .

بر اساس شکل هسته و شکل گیری گرانولهای سیتوپلاسمی ، تمایز نوتروفیلها را می توان به مراحل متعددی تقسیم بندی نمود: میلوبلاست، پرومیلوسیت، میلوسیت، متامیلوسیت ، بند سل ها[3] که دارای هسته های نواری شکل هستند و سلولهای سگمانته[4] که دارای هسته های قطعه قطعه شده هستند (شکل ۱) (Skalnik.,2002).

[1]-Oncoproteins
[2] -Progenitor cells
[3] -Band cell
[4] -Segmented cell



شکل۱). مسیر تمایز نوتروفیلها :A – مسیر تمایز نوتروفیها بر اساس نوع سلولها. B – مسیر تمایز نوتروفیلها بر اساس نوع گرانولها (Borregaard and Cowland, 1997) .

:

انواع مختلفی از گرانولها در طی مراحل مختلف تکوین گرانولوسیتها ایجاد می شوند که شامل گرانولهای اولیه یا azurophil ، گرانولهای ثانویه یاspecific وگرانولهای ثالث یا gelatinase می باشند (Borregaard & Cowland., 1997) .

۱-۲-سلولهای سرطانی بنیادی[1] و تمایز درمانی[2]

این نظریه که تعدادی ازسلولهای سرطانی ویژگیهایی مشابه با سلولهای بنیادی دارند ابتدا در قرن نوزدهم توسط Raulf Virchow وJulius Conheim مطرح شد، نظریهٔ آنان بر این اساس استوار بود که ویژگیهای مشترک نیایی مابین سلولهای جنینی در حال تکوین و برخی سلولهای سرطانی وجود دارد، برای مثال هردو توانایی خود نوسازی[3]، تکثیر و تمایزازخود نشان میدهند.

خود نوسازی و تمایز از ویژگیهای سلولهای بنیادی بحساب می آیند که آنها را قادر به پایداری ودر عین حال تولید سلولهای تمایز یافته می نماید(Wu.,2008).

[1] -Cancer stem cell
[2] -Differentiation therapy
[3] -Self-renewal

یکی از اولین تجربیاتی که وجود سلولهای سرطانی بنیادی را تأ ئید نمود در سال ۱۹۶۰ انجام گرفت، دراین تجربه با پیوند سلولهای تومور یک بیمار به نقطهٔ دیگری از بدن آن بیمار، دیده شد که تنها تعدادی از سلولهای تومور اولیه قادر به ایجاد تومور درجایی دیگر از بدن میباشند (Gil et al.,2008)؛ در واقع در داخل جمعیتی از سلولهای سرطانی زیر گروهی از این سلولها بعنوان سلولهای بنیادی تجدید شونده عمل می کنند(Li & Neaves.,2006) .

در سال ۱۹۸۷، Pierce و همکارانش نظریهٔ تمایز سلولهای سرطانی را مطرح نمودند ، در همان سال Sachs کشف کرد که اگر تمایزدر سلولهای لوکمیایی القاء شود این نوع سرطان کنترل خواهد شد(Gilbert.,2006) . سلولهای سرطانی بنیادی در بسیاری از تومورها از جمله تومورهای پروستات، مغز ،تخمدان و سینه شناسایی شده اندو این سلولها تنها۱ تا۲ درصد از جمعیت سلولهای تومور را تشکیل میدهند(Gil et al.,2008).

با این نظریه که برخی از سلولهای سرطانی نوعی سلول بنیادی محسوب میگردند مهار تکثیر و القاء تمایز آنها مطرح میگردد که امروزه تحت عنوان تمایز درمانی در درمان سرطان مطرح میگردد. در این روش با استفاده همزمان از مواد کشندهٔ سلول و القاء کنندهٔ تمایز، سلولهای سرطانی در حال تکثیر و سلولهای بنیادی در حال خودنوسازی دچار مرگ سلولی میگردند و سلولهای مقاوم در برابر مرگ نیزتوسط مواد القاءکننده، تمایز می یابند تانهایتاً طبق مرگ برنامه ریزی شده و یادراثر مواد کشنده دچارمرگ شوند. در این حالت، سلولی که با تقسیم خود مجدداً سلولهای سرطانی تولید نماید وجود نخواهد داشت(Miller &Waxman.,2002) .

۱-۳-سرطان حاد پرومیلوسیتی [1]

سرطان حاد پرومیلوسیتی نوعی از سرطان حاد میلوئیدی است که در اثر جابجایی[2] کروموزومی ایجاد می گردد. سرطان حاد پرومیلوسیتی با تجمع سلولها در مرحلهٔ پرومیلوسیتی، تکثیر بی رویه و عدم تمایز نهایی این سلولها تعریف می شود. در افراد مبتلا به سرطان حاد پرومیلوسیتی یک جابجایی کروموزومی بصورت t(15:17) (q22;q12-21) صورت میگیرد که منجر به اتصال ژنRARα روی کروموزوم ۱۷ به ژن Promyelocyte Leukemia (PML) روی کروموزوم ۱۵ شده و باعث ایجاد یک پروتئین مرکب تحت عنوان PML-RARα میشود، این پروتئین مرکب بوجود آمده دارای عملکردهایی است که منجر به ایجاد سرطان میلوئیدی میگردد. ازجمله عواقب مولکولی ایجاد این پروتئین می توان به موارد زیر اشاره نمود:

۱-پروتئین PML-RAR نسبت به پروتئین RARα تمایل بالاتری نسبت به هیستون داستیلازها دارد، در نتیجه دوزهای بالاتری از رتینوئیک اسید، جهت جدا نمودن کمپلکس هیستون داستیلاز حاوی هم – مهارکننده[3] از PML-RARα نیاز میباشد.

۲-PML-RARα ویژگیهای اولیگومریزاسیون متفاوت تری نسبت به RARα دارد، در واقع PML-RARα ها هومودایمرهایی تشکیل میدهند که دو مولکول هم-مهارکننده را بکار میگیرند، در حالیکه هترو دایمر RAR-RXR تنها یک هم-مهارکننده را بکارمیگیرد. هنگامیکه دایمرها یا اولیگومرهای PML-RARα به عناصر پاسخ دهنده [4] متصل می شوند به عنوان فاکتورهای

[1] -Acute promyelocyte leukemia
[2] -Translocation
[3] -Co-repressor
[4] -Response element

رونویسی خاموش کننده ای عمل می کنند که فعالیت رونویسی واسطه شده توسط هترو دایمر RAR-RXR را مهار می نمایند.

۳-فعالیت پروتئین PML نیز در اثر ایجاد این پروتئین ترکیبی دچار اختلال می گردد. PML کارسینوژنهای شیمیایی را مهار میکند و به عنوان یک عامل پیش آپپتوز[1] عمل میکند. موشهای $Pml^{-/-}$ در مقابل بسیاری از سیگنالهای القاء کنندهٔ آپپتوزیس مقاوم می باشند .

٤- یکی دیگر از اثرات شکل گیری PML-RARα مهار شدن تمایز در مرحلهٔ پرومیلوسیتی می باشد (Altucci et al.,2004) .

علاوه بر این جابجایی کروموزومی، چهار جابجایی دیگر مرتبط با این نوع سرطان درسطح مولکولی شناسایی شده است که عبارتند از:

۱- t(5:17)(q35;q21) که ژن RARα را به ژن NPM (Nucleophosmin) متصل میکند،۲- t(11:17)(q23;q21) که ژن RARα را به ژنPLZF یا (Promyelocytic- Leukemia Zinc Finger) - متصل میکند، ۳- t(11:17)(q13;q21) که ژن RARα را به ژن NuMA یا (Nuclear Mitotic Apparatus) متصل میکند ،٤- t(17:17)(q11;q21) که ژن RARα را به ژن STAT5b متصل میکند.

ژن NPM ژنی است که از لحاظ تکاملی در بین پستانداران حفظ شده است و درانسان حاوی ۱۲ اگزون می باشد، سطح بیان این ژن در سلولهای میلوئیدی در حال تکثیر و بلاستهای لوکمیایی بالا می باشد و کاهش بیان آن منجر به عدم ورود سلول به میتوز میگردد؛ بیان این ژن در فازهای S و G_2 چرخهٔسلولی بالا می باشد، در جابجایی کروموزومی t(5:17)(q35;q21) بوجود آمدن پروتئین شیمریک NPM-RARα منجر به مهار شدن تمایز میلوئیدی و تکثیر بی رویهٔ سلولهای

[1] -Pro-apoptogenic