

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



پردیس دانشگاهی

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی فراوانی موتاسیون ژن  $CDKN2A$  در بیماران مبتلا به

ملانومای پوستی خانوادگی مراجعه کننده به انستیتو کانسر و

بیمارستان تخصصی پوست رازی

از:

سمیرا فردوسی

استادان راهنما:

دکتر رضا شیرکوهی

دکتر علیرضا قنادان

اسفند ماه ۱۳۹۲

پرديس دانشگاهي

زيست شناسي

ژنتيك

بررسی فراوانی موتاسیون ژن CDKN2A در بیماران مبتلا به

ملانومای پوستی خانوادگی مراجعه کننده به انستیتو کانسر و

بیمارستان تخصصی پوست رازی

از:

سمیرا فردوسی

استادان راهنما:

دکتر رضا شیر کوهی

دکتر علیرضا قنادان

استاد مشاور:

دکتر زیور صالحی

اسفند ماه ۱۳۹۲

تقدیم بہ:

# پدر و مادر عزیزم

## تشکر و قدر دانی :

اکنون که به لطف خداوند متعال این پایان نامه به سرانجام رسید، شایسته است از اساتید محترم و گرانقدر،

جناب آقای دکتر ضا شیر کوهی و جناب آقای دکتر علیرضا قنادان

به دلیل یاری های بی چشم داشت ایشان که بسیاری از سختی های این راه را بر این آسانتر نمودند، و

همچنین

سرکار خانم دکتر زهرا صالحی

استاد مشاور که در تمام مراحل انجام این پایان نامه بار لهنمایی های ارز شمند خود بندد را

هدایت نمودند، تشکر و قدر دانی نمایم.

## فهرست مطالب

### فصل اول: مقدمه

مقدمه.....	۲
۱-۱. پیشینه تاریخی.....	۲
۱-۱. تئوری ژنی سرطان.....	۲
۱-۱-۲. سرطان ها، تومورهای مهاجم هستند.....	۳
۲-۱. سرطان پوست.....	۳
۱-۲-۱. بیولوژی پوست.....	۴
۱-۲-۱-۱. عملکردهای اختصاصی پوست.....	۴
۲-۱-۲-۱. ساختار پوست.....	۵
۱-۲-۱-۲-۱. اپیدرم.....	۵
۲-۲-۱-۲-۱. ملانوسیت ها.....	۶
۲-۲-۱. طبقه بندی سرطان پوست.....	۷
۱-۲-۲-۱. کارسینومای سلول پایه.....	۷
۲-۲-۲-۱. کارسینومای سلول پوششی.....	۸
۳-۲-۲-۱. ملانوم.....	۹
۱-۳-۲-۲-۱. ملانومای سطحی.....	۱۰
۲-۳-۲-۲-۱. ملانومای انتهایی.....	۱۰
۳-۳-۲-۲-۱. ملانومای کروی.....	۱۱
۴-۳-۲-۲-۱. ملانومای مخاطی.....	۱۱
۵-۳-۲-۲-۱. Lentigo malignant melanoma.....	۱۲
۶-۳-۲-۲-۱. اپیدمیولوژی.....	۱۲
۳-۲-۱. فاکتورهای خطر ابتلا به ملانوم.....	۱۳
۱-۳-۲-۱. پرتوهای نور فرابنفش.....	۱۴

- ۱۴.....۲-۳-۲-۱. خال گوشتی (Mole).....
- ۱۴.....۳-۳-۲-۱. افراد با پوست و موی روشن.....
- ۱۴.....۴-۳-۲-۱. تاریخچه خانوادگی از ملانوم.....
- ۱۴.....۵-۳-۲-۱. تاریخچه فردی از ملانوم.....
- ۱۵.....۶-۳-۲-۱. حذف یا سرکوب ایمنی.....
- ۱۵.....۷-۳-۲-۱. سن.....
- ۱۵.....۸-۳-۲-۱. جنسیت.....
- ۱۵.....۹-۳-۲-۱. زئودرماپیگمانتازوم.....
- ۱۵.....۳-۱. توزیع سنی بیماری.....
- ۱۶.....۴-۱. ارتباط بین نور خورشید و ویتامین D در سرطان پوست.....
- ۱۶.....۵-۱. علامت های ممکن از ملانوم.....
- ۱۷.....۶-۱. روشهای تشخیصی برای سرطان ملانوم.....
- ۱۷.....۱-۶-۱. تست های تصویری.....
- ۱۸.....۲-۶-۱. تست های آزمایشگاهی.....
- ۱۸.....۳-۶-۱. درمان عمومی.....
- ۱۸.....۱-۳-۶-۱. جراحی.....
- ۱۹.....۱-۱-۳-۶-۱. برش ساده.....
- ۱۹.....۲-۱-۳-۶-۱. برش وسیع.....
- ۱۹.....۱-۲-۱-۳-۶-۱. قطع عضوی از بدن.....
- ۱۹.....۲-۲-۱-۳-۶-۱. قطع یا برش غده لنفاوی.....
- ۱۹.....۷-۱. میزان نجات و بقا برای ملانوم.....
- ۱۹.....۱-۷-۱. فاکتورهای موثر بر روی بقا.....
- ۲۰.....۸-۱. تعریف جهش های ژنی.....
- ۲۱.....۹-۱. شرح حال فردی و خانوادگی.....

۲۲	۱-۹-۱. ژن های مستعد کننده.....
۲۲	۱-۱-۹-۱. استعداد ژنتیکی.....
۲۲	۲-۱-۹-۱. ژن CDKN2A.....
۲۲	۱-۲-۱-۹-۱. ساختار ژن CDKN2A.....
۲۳	۳-۱-۹-۱. ژن MC1R.....
۲۳	۴-۱-۹-۱. ژن CDK4.....
۲۴	۱۰-۱. بیماری زایی و طبقه بندی مولکولی.....
۲۵	۱-۱۰-۱. مکانیسم های مولکولی در ملانوم.....
۲۵	۱-۱-۱۰-۱. رویدادها و اتفاقات در رشد تومورهای ملانوسیت.....
۲۶	۲-۱-۱۰-۱. Ras و ملانوم.....
۲۶	۳-۱-۱۰-۱. Braf و ملانوم.....
۲۷	۴-۱-۱۰-۱. ارتباط بین Rb و مسیر P53 در ملانوم.....
۲۸	۵-۱-۱۰-۱. مسیر MAPK و ملانوم.....
۲۹	۶-۱-۱۰-۱. PI3K و مسیر C-kit در ملانوم.....
۳۰	۷-۱-۱۰-۱. آپوپتوز و ملانوم.....
۳۰	۸-۱-۱۰-۱. ارتباط بین کادهرین و ملانوم.....
۳۱	۱۱-۱. اهداف تحقیق.....

## فصل دوم: مواد و روش ها

۳۳	۱-۲. مواد و لوازم مورد نیاز.....
۳۳	۱-۱-۲. مواد و لوازم مورد نیاز جهت استخراج DNA از بافت های پارافینه بیماران مبتلا به ملانوم.....
۳۴	۲-۲. مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز ژل آگارز جهت ارزیابی کیفیت DNA استخراج شده.....
۳۴	۳-۱-۲. مواد و لوازم مورد نیاز جهت انجام واکنش زنجیره های پلی مرز (PCR).....
۳۵	۴-۱-۲. مواد و لوازم مورد نیاز در الکتروفورز محصولات PCR به کمک ژل آگارز.....
۳۵	۵-۱-۲. آماده سازی بافرها و محلول ها.....



۳۶	۲-۲. دستگاه هایی که به فراوانی در آزمایشگاه مورد استفاده قرار می گیرند.....
۳۷	۳-۲. روش ها.....
۳۷	۲-۳-۱. نمونه گیری.....
۳۸	۲-۳-۲. مراحل برش گیری از بلوک های پارافینه.....
۳۸	۲-۳-۳. استخراج DNA.....
۳۸	۲-۳-۳-۱. استخراج DNA ژنومی از بافت پارافینه.....
۳۹	۲-۳-۳-۲. استخراج DNA ژنومی از خون.....
۴۰	۲-۳-۳-۳. مزایا و معایب استخراج از خون.....
۳۹	۲-۳-۳-۴. مزایا و معایب استخراج از بافت پارافینه.....
۴۰	۲-۳-۵. ارزیابی خلوص DNA استخراج شده بوسیله ی دستگاه اسپکتروفوتومتر.....
۴۱	۲-۴. مشخصات آغازگرهای مورد استفاده در واکنش PCR.....
۴۱	۲-۴-۱. پرایمرهای الیگونوکلوئوتیدی مورد استفاده.....
۴۲	۲-۴-۲. مواد مورد نیاز برای PCR.....
۴۳	۲-۴-۳. میزان مواد مورد نیاز در واکنش PCR و شرایط PCR.....
۴۴	۲-۴-۴. بررسی صحت انجام آزمایش PCR.....
۴۴	۲-۴-۵. مواد و محلول های لازم جهت الکتروفورز.....
۴۵	۲-۴-۵-۱. روش تهیه ژل ۲٪.....
۴۵	۲-۵. توالی یابی DNA.....
۴۵	۲-۶. نرم افزار کروماز.....

### فصل سوم : نتایج

۴۷	۳-۱. نتایج حاصل از مطالعه بیماران مبتلا به سرطان ملانوم.....
۴۹	۳-۲. نتایج حاصل از استخراج DNA از خون و بافت تومور بیماران مبتلا به ملانوم.....
۵۱	۳-۳. نتایج حاصل از تکنیک PCR.....
۵۱	۳-۳-۱. تکثیر اگزون ۲ ژن CDKN2A با روش PCR.....

۴-۳. انجام عمل توالی یابی..... ۵۱

#### فصل چهارم: بحث

۴-۱. بحث..... ۵۵

۴-۲. پیشنهادات..... ۵۷

#### منابع

ضمائم..... ۶۶

## فهرست جداول

جدول ۱-۱. بروز ملانوما در کشورهای مختلف.....	۱۳
جدول ۲-۱. Ras و ملانوم.....	۲۶
جدول ۳-۱. Braf و ملانوم.....	۲۶
جدول ۱-۲. ساخت بافر TAE.....	۳۵
جدول ۲-۲. پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR.....	۴۲
جدول ۳-۲. میزان مواد مورد نیاز در PCR.....	۴۳
جدول ۴-۲. شرایط PCR.....	۴۴
جدول ۱-۳. تعداد کل افراد مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره).....	۴۷
جدول ۲-۳. تفکیک افراد از نظر سن و جنسیت.....	۴۸
جدول ۳-۳. افراد زیر سن ۴۵ سال.....	۴۹

## فهرست شکل ها

- شکل ۱-۱. ساختمان پوست..... ۴
- شکل ۲-۱. لایه های اپیدرم در پوست ضخیم..... ۶
- شکل ۳-۱. انواع سرطان پوست..... ۷
- شکل ۴-۱. انواع کارسینومای سلول پایه..... ۸
- شکل ۵-۱. کارسینومای سلول پوششی..... ۹
- شکل ۶-۱. ملانوم..... ۹
- شکل ۷-۱. ملانومای سطحی..... ۱۰
- شکل ۸-۱. ملانومای انتهایی..... ۱۰
- شکل ۹-۱. ملانومای کروی..... ۱۱
- شکل ۱۰-۱. ملانومای مخاطی..... ۱۲
- شکل ۱۱-۱. Lentigo malignant melanoma..... ۱۲
- شکل ۱۲-۱. معیارهای تشخیص ملانوم..... ۱۷
- شکل ۱۳-۱. جهش های وراثتی..... ۲۰
- شکل ۱۴-۱. جهش های اکتسابی..... ۲۱
- شکل ۱۵-۱. ساختار ژن CDKN2A..... ۲۳
- شکل ۱۶-۱. رویدادها و اتفاقات در رشد تومورهای ملانوسیت..... ۲۵
- شکل ۱۷-۱. ارتباط بین Rb و مسیر P53 در ملانوم..... ۲۷
- شکل ۱۸-۱. مسیر MAPK در ملانوم..... ۲۸
- شکل ۱۹-۱. PI3K و مسیر C-kit در ملانوم..... ۲۹
- شکل ۲۰-۱. آپوپتوزیس و ملانوم..... ۳۰
- شکل ۱-۳. آمار مراجعه کنندگان به انستیتو کانسر بیمارستان امام خمینی در سال های ۸۷ تا ۹۱..... ۴۷
- شکل ۲-۳. نسبت مردان و زنان مبتلا در سال های ۸۷ تا ۹۱..... ۴۸

- شکل ۳-۳. منحنی نانودراپ یکی از نمونه های استخراج شده..... ۵۰
- شکل ۳-۴. تصویر DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز ۱/۵٪..... ۵۰
- شکل ۳-۵. ران کردن محصولات PCR با اندازه ۳۰۹ bp..... ۵۱
- شکل ۳-۶. شمایی از نتیجه تعیین توالی به دست آمده از محصولات PCR در نرم افزار کروماز..... ۵۲
- شکل ۳-۷. نتیجه blast و تایید توالی آن..... ۵۳
- شکل ۴-۱. شمایی از نتیجه تعیین توالی به دست آمده از محصولات PCR با نرم افزار کروماز..... ۶۶
- شکل ۴-۲. نتیجه blast و تایید توالی آن..... ۶۷
- شکل ۴-۳. شمایی از نتیجه تعیین توالی به دست آمده از محصولات PCR با نرم افزار کروماز..... ۶۷

**بررسی فراوانی موتاسیون ژن CDKN2A در بیماران مبتلا به ملانومای پوستی خانوادگی مراجعه کننده به  
انستیتو کانسر و بیمارستان تخصصی پوست رازی  
سمیرا فردوسی**

سرطان پوست یکی از شایع ترین انواع سرطان ها در سراسر جهان می باشد. سه نوع اصلی سرطان پوست وجود دارد و یکی از آنها ملانوم می باشد. ملانوم خانوادگی در حدود ۱۰-۵ درصد از بیماران رخ می دهد که در میان این دسته از بیماران به نظر می رسد حدود ۳۵-۴۰ درصد از مسئولیت انتقال بیماری به دلیل جهش در ژن CDKN2A می باشد، این ژن نقش مهمی در کنترل چرخه سلولی بازی می کند. ژن CDKN2A شامل ۳ اگزون می باشد که نتیجه بیان آنها ایجاد دو پروتئین P16 و P14ARF می باشد عملکرد P16 و P14 روی هم موثر می باشد و اختلال در بیان هر کدام روی عملکرد و بیان دیگری تاثیر دارد. در نهایت اختلال در بیان آنها موجب ملانوم بدخیم می باشد که این اختلال می تواند به صورت یک حذف یا جهش باشد. باتوجه به اینکه بیشترین آمار مرگ و میر در بیماران مبتلا به سرطان پوست مربوط به این بیماری می باشد و از طرفی دیگر این بیماری در مراحل ابتدایی مانند بسیاری دیگر از انواع سرطان ها قابل درمان است، یافتن بیماران فامیلیال و بررسی خانواده آنان از نظر بررسی ژن های درگیر و غربالگری آنان نقش مهمی در شناسایی افراد پرخطر، پیگیری، تشخیص زودرس و درمان به موقع آنان و در نتیجه کاهش میزان مرگ و میر آنان خواهد داشت. معمولاً روند بررسی جهش در بیماران سرطان فامیلی با استفاده از استخراج DNA از خون صورت می گیرد. این روش مطلوب و راحتی است که در آن DNA به مقدار کافی برای انجام توالی نوکلئوتیدی استخراج می گردد. از آنجا که بسیاری از بیماران در طول روند غربالگری در دسترس نخواهند بود بنابر این یک روند بر اساس استخراج DNA از بلوک های پارافینی بیماران پایه ریزی گردید. DNA از ۵ نمونه بافت پارافینی و ۱۰ نمونه خون افراد زیر ۴۵ سال به عنوان واجد شرایط ورود به مطالعه استخراج گردید و به روش سنگر توالی یابی انجام شد. تمامی توالی ها با استفاده از نرم افزار کروماز بررسی گردیدند و همگی نتایج توالی نرمال را نشان دادند. هر چند در تمامی نمونه های آزمایش شده جهشی شناسایی نشد ولی کیفیت توالی DNA استخراج شده از بافت پارافینی و خون کاملاً مشابه بود. در نتیجه در بیمارانی که در دسترس نیستند می توان از بافت پارافینی استفاده نمود و در صورت مثبت بودن از نظر جهش در دیگر اعضاء خانواده می توان از بافت خون استفاده کرد. برای به دست آوردن درصد قابل اعتماد شیوع جهش نیاز به یک مطالعه آینده نگر ۵ ساله می باشد که در حال انجام است.

**کلید واژه:** سرطان پوست، ژن CDKN2A، جهش، ملانوم.

# فصل اول

## مقدمه

هر سال، انجمن سرطان آمریکا، تعدادی از موارد جدید سرطان و مرگ و میر قابل انتظار در ایالت متحده آمریکا در سال جاری را تخمین می زند. در طی ۵ سال (۲۰۰۵-۲۰۰۹) اطلاعاتی وجود دارد که میزان بروز سرطان در مردان (۰/۶٪) هر سال کاهش یافته و در زنان ثابت بوده است، در حالیکه میزان مرگ و میر سرطان ۱/۸٪ هر سال در مردان و ۱/۵٪ هر سال در زنان کاهش یافته است. بطور کلی، میزان مرگ و میر سرطان ۲۰٪ از قله اش در ۱۹۹۱ (۲۱۵/۱) در هر ۱۰۰۰۰۰ جمعیت) تا ۲۰۰۹ (۱۷۳/۱) در هر ۱۰۰۰۰۰ جمعیت) کاهش یافته است. مهمترین عامل خطر ساز برای ابتلا به سرطان، سن است. دو سوم تمامی موارد سرطان در افراد بالای ۶۵ سال روی می دهد. میزان بروز سرطان در قسمت های مختلف بدن با توان سوم، چهارم و پنجم سن فرد افزایش می یابد. از بدو تولد تا سن ۳۹ سالگی، میزان بروز سرطان در مردان ۱ در ۷۰ نفر و در زنان ۱ در ۴۸ نفر است و در سنین ۴۰ تا ۵۹ سالگی میزان بروز سرطان در مردان به ۱ در ۱۲ نفر و در زنان به ۱ در ۱۱ نفر می رسد و در سنین ۶۰ تا ۷۹ سالگی میزان بروز سرطان در مردان ۱ به ۳ نفر و در زنان به ۱ در ۵ نفر می رسد. در کل، مردان در بین جمعیت تمامی مردان در طول حیاتشان ۴۴٪ و زنان ۳۸٪ خطر ابتلا به سرطان دارند [۱].

#### ۱-۱- پیشینه تاریخی

این تفکر که سرطان حاصل یک سلسله جهش های ساختاری در ژنهای ویژه می باشد. ۲۵ سال پیش مقبولیت کمی در دیدگاه عموم داشت. قبل از اختراع میکروسکوپ تصور بر این بود که سرطان ترکیبی از تجمعات مخاطی و یا مواردی غیر از سلول است. در نیمه قرن ۱۹ ثابت شد که تومورها در واقع مجموعه ای از توده های سلولی هستند که این سلول ها از سلول های طبیعی مربوط به بافتی که اکنون سرطانی شده است منشا گرفته اند. در هر حال وجود یک اساس مولکولی در توجیه این تکثیر مهار نشده سلول های سرطانی تا یک قرن بعد در پرده ابهام باقی ماند. در آن زمان فرضیه های مختلفی در مورد منشا بافت سرطانی وجود داشت [۲].

#### ۱-۱-۱- تئوری ژنی سرطان

بدن انسان از انواع بسیار زیادی سلول و بافت تشکیل شده است. همه ی این سلول ها و بافت ها می توانند منشا سرطان باشند. سرطان توسط ژن های تغییر یافته ایجاد می شود. این بیماری ها فاکتورهای کمکی و علائم بالینی بیشماری دارند. با وجود این یک مفهوم اصلی وجود دارد که زیر بنای این پیچیدگی را می سازد. این تئوری چهارچوبی را تعریف می کند که به کمک آن می



توان دریافت که چگونه فاکتورهای ارثی و محیطی باعث ایجاد سرطان می شوند. تومورزایی فرآیند شکل گیری سرطان و رشد و گسترش آن به سایر نقاط بدن است. ژن های سرطانی باعث سرطانی شدن سلول ها می شوند [۳].

#### ۱-۱-۲- سرطان ها، تومورهای مهاجم هستند

نئوپلاسم (که معنی تحت اللفظی آن رشد جدید است)، شکل غیر طبیعی رشد سلول ها است و تومور، نئوپلاسمی است که با وضعیت بیمار گونه همراه است. تومورها، بیماری هایی هستند که در آنها جمعیتی از سلول های به لحاظ ژنتیکی هم خانواده توانایی رشد ناهنجار را کسب می کنند. اصطلاح سرطان به تومورهایی اطلاق می شود که می توانند به بافت های مجاور خود که از سلول های سالم تشکیل شده اند حمله می کنند [۳].

#### ۱-۲- سرطان پوست

سرطان پوست شایع ترین سرطان در سرتاسر دنیا می باشد [۴]. در آمار و ارقام جهانی سرطان، آمار سرطان پوست (به استثنا ملانوم) ذکر نمی شود چون بر اساس قوانین داخلی برخی از کشورها ثبت موارد سرطان پوست غیرملانومایی<sup>۱</sup> (NMSC) صورت نمی گیرد و سایر فرم های سرطان پوست به استثنا ملانوم به آسانی درمان می شوند. بر اساس آمار منتشر شده توسط انجمن سرطان امریکا<sup>۲</sup>، سرطان پوست شایع ترین نوع سرطان در امریکا می باشد و در حدود ۵۰ درصد تمام سرطان های شناسایی شده را شامل می شود. در هر سال بیش از ۱ میلیون مورد جدید از سرطان پوست در امریکا شناسایی می شود. آخرین آمار وزارت بهداشت و درمان از شیوع این بیماری در کشور مربوط به سال ۱۳۸۲ است که از ابتدای شش هزار نفر به این نوع سرطان خبر داده است. با وجود افزایش میزان ابتلا به این بیماری طی ۱۰ سال گذشته در سطح کشور، هنوز آمار جدیدی در این باره در دست نیست. سرطان پوست دارای سه فرم اصلی است که شامل کارسینومای سلول پوششی<sup>۳</sup>، کارسینومای سلول پایه<sup>۴</sup> و ملانومای پوستی<sup>۵</sup> هستند [۵، ۶]. دو فرم اول به عنوان سرطان پوست غیر ملانومایی شناخته می شوند و بیشترین تعداد مبتلایان به سرطان پوست به آنها تعلق دارد. در حدود ۹۰٪ NMSC شامل کارسینومای سلول پوششی و کارسینومای سلول پایه است و بقیه موارد

<sup>۱</sup> -Non Melanoma Skin Cancer(NMSC)

<sup>۲</sup> - American cancer society

<sup>۳</sup> -Squamous cell carcinoma

<sup>۴</sup> -Basal cell carcinoma

<sup>۵</sup> - Cutaneous Melanoma

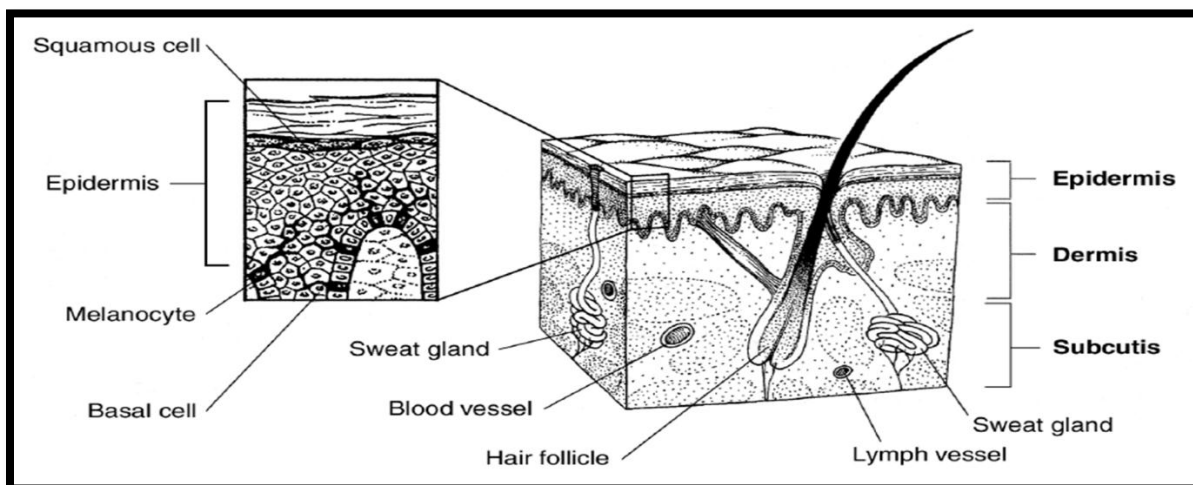
شامل فرم های نادر سرطان پوست می شود [۸,۷]. ملانومای پوستی دارای خصوصیت تهاجمی بوده و بیشترین تعداد مرگ و میر ناشی از سرطان پوست به دلیل ابتلا به آن می باشد. برای درک بهتر سرطان پوست به شرح بیولوژی پوست پرداخته می شود.

### ۱-۲-۱- بیولوژی پوست

پوست بزرگترین ارگان بدن می باشد و در حدود ۱۵ الی ۲۰٪ وزن بدن را به خود اختصاص می دهد. در بزرگسالان پوست دارای سطحی در حدود ۱/۵ الی ۲ متر مربع می باشد. پوست دارای سه لایه می باشد. اولین لایه اپیدرم می باشد که دارای منشا اکتودرمی است. لایه دوم درم می باشد که یک لایه مزودرمی بافت پیوندی می باشد. مرز بین اپیدرم و درم بی نظم می باشد. برآمدگی های درم پاپیلا نامیده می شوند و فرورفتگی های اپیدرم، تیغه اپیدرمی نامیده می شود موها، ناخن ها، غده های چربی و عرق از مشتقات اپیدرم می باشند. در زیر درم بافت زیر پوست قرار دارد و حاوی بالشتک هایی از آدیپوسیت ها می باشد (شکل ۱-۱).

### ۱-۱-۲-۱- عملکردهای اختصاصی پوست

بدن انسان از طریق پوست در برابر محیط خارجی محافظت می شود. پوست یک اندام چند عملکردی است و دارای وزنی در حدود ۱۱ کیلوگرم می باشد. عملکردهای اختصاصی پوست در زیر توضیح داده می شوند.



شکل ۱-۱: ساختمان پوست. پوست از سه لایه اپیدرم، درم و هیپودرم ساخته شده است. سلول های ملانوسیت در بخش اپیدرم قرار دارند [۹].

از نظر نقش حفاظتی، پوست یک مانع فیزیکی در برابر آسیب های حرارتی و مکانیکی مانند نیروهای سایشی و بیشتر عوامل بیماری زا می باشد. میکروارگانسیم هایی که به درون پوست نفوذ می کنند، سبب فعال شدن لنفوسیت های مستقر در پوست و سلول های ارائه کننده آنتی ژن می شوند. رنگدانه های ملانین واقع در اپیدرم، سلول ها را در برابر پرتو فرابنفش محافظت می کنند. همچنین پوست مانع از دست رفتن آب و سایر مایعات بدن می شود. پوست با داشتن مواد عایق کننده مانند چربی و موی سر و مکانیسم های کاهش دهنده دما مانند تولید عرق و شبکه ریزرگی سطحی سبب حفظ دمای ثابت بدن می شود. پوست به عنوان یک ارگان تولید کننده ویتامین D، نقش کلیدی در حفظ استخوان ها و دندان ها بازی می کند. سلول های پوست از طریق تاثیر پرتو فرابنفش ویتامین D تولید می کنند. همچنین لایه زیر پوست میزان قابل توجهی از انرژی را به صورت چربی ذخیره می کند. بسیاری از ویژگی های ظاهری پوست مانند وجود رنگدانه ها و مو شاخص هایی بصری هستند که در جاذبه جنسی دخالت دارند. همچنین اثرات هورمون های جنسی که توسط غدد پوست ترشح می شوند نیز در این جاذبه جنسی نقش مهمی دارد. علاوه بر موارد فوق بدن از طریق احساس دما، لامسه و درد که توسط گیرنده های اختصاصی واقع در پوست دریافت می شوند به محرک های محیطی پاسخ می دهد [۹، ۱۰، ۱۱].

#### ۱-۲-۱-۲- ساختار پوست

##### ۱-۲-۱-۲-۱- اپیدرم

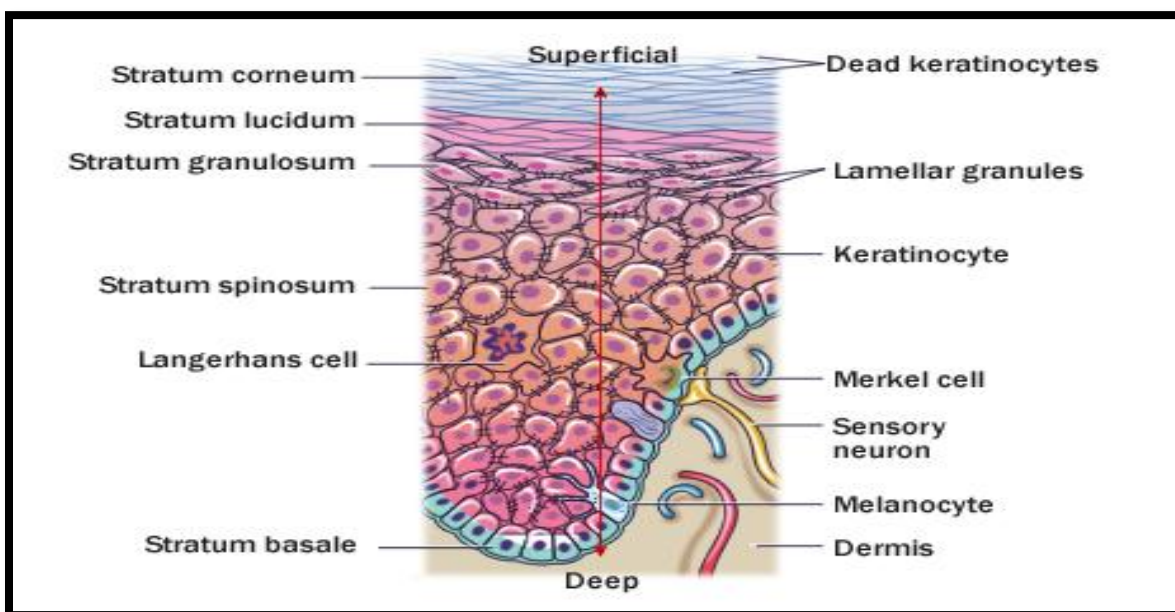
اپیدرم از یک اپیتلیوم سنگفرشی کراتینه تشکیل شده است. اصلی ترین سلول در تمام لایه های اپیدرم کراتینوسیت ها می باشند. علاوه بر آن، سلول های ملانوسیت، سلول های لانگرهانس و سلول های مرکل نیز در اپیدرم قرار دارند. اگر اپیدرم دارای ضخامتی در حدود ۷۵ تا ۱۵۰ میکرومتر باشد از اصطلاح پوست نازک و اگر ضخامت پوست ۴۰۰ تا ۱۴۰۰ میکرومتر باشد از اصطلاح پوست ضخیم (پوست کف دست و پاشنه پا) استفاده می شود [۹]. اپیدرم از سمت درم به خارج دارای چهار لایه می باشد (شکل ۱-۲). این لایه ها عبارتند از:

۱. طبقه شاخی، شامل ۱۵ تا ۲۰ ردیف سلول شاخی مسطح بدون هسته است.

۲. لایه یا طبقه قاعده ای، که یک لایه واحد از سلول های بازوفیل است.

۳. لایه یا طبقه خاردار، ضخیم ترین لایه اپیدرم است.

۴. لایه یا طبقه دانه دار، که در فرایند کراتینیزاسیون نقش دارد.



شکل ۱-۲: لایه های اپیدرم در پوست ضخیم. اپیدرم از سمت درم به خارج دارای چهار لایه می باشد که این لایه ها عبارتند از لایه شاخی، لایه قاعده ای، لایه خاردار، لایه دانه دار و لایه شفاف که فقط در پوست ضخیم دیده می شود [۹].

#### ۱-۲-۱-۲-۲-۲- ملانوسیت ها

ملانوسیت ها از مشتقات تیغه عصبی هستند که به طبقه قاعده ای اپیدرم در حال تکوین مهاجرت می کنند. هر ملانوسیت به هر پنج یا شش کراتینوسیت قاعده ای اختصاص می یابد. در هر میلی متر مربع پوست در حدود ۶۰۰ تا ۱۲۰۰ ملانوسیت وجود دارد. ملانوسیت ها دارای میتوکندری های کوچک فراوان، دستگاه گلژی تکامل یافته و شبکه آندوپلاسمی خشن می باشند [۹]. ملانین در این سلول ها ساخته می شود. ملانین تولید شده در درون گرانول هایی به نام ملانوزوم تجمع می یابند. گرانول های ملانین پس از تشکیل در ملانوسیت ها از طریق کینزین به دندریت های ملانوسیت انتقال می یابد. زوائد دندریتی بلند و نامنظم هر ملانوسیت درون اپیدرم شاخه شاخه می شوند و بین سلول های طبقه قاعده ای و خاردار قرار می گیرند. کراتینوسیت های هر دو لایه قاعده ای و خاردار این دندریت ها را فاگوسیت می کنند و آنها را توسط میکروتوبول ها به نواحی نزدیک هسته انتقال می دهند. درون هر کراتینوسیت، ملانوزوم ها به صورت یک کلاهک در بالای هسته قرار می گیرند و نور خورشید را جذب و پراکنده می کنند و DNA هسته ای را از اثرات مخرب اشعه فرابنفش محافظت می کند [۹].