

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه آزاد اسلامی
واحد پزشکی تهران

پایان نامه

جهت دریافت دکترای پزشکی

موضوع

بررسی خواص ضدسرطانی و ضدجهشی *Citrus nobilis*

استاد راهنما

سرکار خانم دکتر ملیحه انتظاری

استاد مشاور

جناب آقای دکتر مهرداد هاشمی

تهیه کننده

سید جواد حسینی

شماره پایان نامه ۵۰۸۱

سال تحصیلی ۱۳۹۰



Islamic Azad University
Tehran Medical Branch

Thesis
For Doctorate of Medicine

Subject

Effects of anticancer and antimutagenicity of *Citrus nobilis*

Thesis Adviser

Dr. Maliheh Entezari

Consultant Adviser

Dr. Mehrdad Hashemi

Written by

Seyed Javad Hosaini

Year 2012

No5081

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزتر از جانم
و تمامی بیمارانی که بهای دردشان آموختیم

سپاسگزاری:

از اساتید گرامی سرکار خانم دکتر ملیحه انتظاری و جناب آقای دکتر مهرداد هاشمی که راهنمایی این پایان نامه را به عهده گرفتند و با حسن نیت و دلسوزی اینجانب را در این تحقیق همراهی نمودند، کمال تشکر و امتنان را دارم.

فهرست مطالب

۱	چکیده
۲	فصل اول: کلیات تحقیق
۳	مقدمه و بیان مسئله
۴	اهداف مطالعه
۵	سوالات و فرضیه های مطالعه
۵	معیارهای ورود و خروج مطالعه
۶	۱-۱- سرطان
۷	۱-۲- تکثیر بی رویه سلول ها در سرطان
۸	۱-۳- اپیدمیولوژی
۹	۱-۴- سبب شناسی
۱۳	فصل دوم: پیشینه تحقیق
۱۴	۲-۱- پیشینه تحقیق
۱۶	۲-۲- مرکبات
۲۱	۲-۳- آزمون ایمز
۲۴	۲-۴- سالمونلا
۲۶	فصل سوم: روش انجام مطالعه
۳۰	فصل چهارم: یافته ها
۳۳	فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری
۳۵	فهرست منابع
۳۷	چکیده انگلیسی

فهرست جداول

- ۳۱ جدول ۱- بررسی خواص ضد سرطان در سیتروس نابیلیس
- ۳۲ جدول ۲- بررسی خواص ضد جهش در سیتروس نابیلیس

چکیده

در حال حاضر سرطان یکی از عوامل مرگ و میر در جهان می باشد. عوامل محیطی که به صورت جهش زا عمل کرده عامل سرطان هستند. برطبق برآوردهای انجام شده ممکن است بیش از ۷۵٪ سرطان ها دارای منشا محیطی باشند. آسیب ها و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی DNA و بروز جهش در ژن ها و دیگر تغییرات در ساختار کروموزومی و سرطان زایی نقش بسزایی دارند. مصرف روزانه آنتی اکسیدان ها دفاع و ایمنی بدن را افزایش داده و به عنوان ضدسرطان عمل می کند. برخی میوه ها و سبزیجات به علت داشتن مقدار زیادی آنتی اکسیدان ها مانند پلی فنل ها، ویتامین C، ویتامین E و بتاکاروتن، از مواد غذایی اصلی ضدسرطان محسوب می گردند. مرکبات از جمله دسته این میوه ها هستند. از شایعترین آزمایشات جهت سنجش اثرات ضدسرطانی و ضدجهش زایی آزمون ایمز با بکارگیری باکتری های دارای جهش خاص می باشد. هدف این تحقیق که برای اولین بار انجام شد، بررسی اثر ضدسرطانی و ضدجهشی *Citrus nobilis* از طریق آزمون ایمز می باشد.

از باکتری سالمونلا تیفی موریوم TA100 جهت آزمون Ames استفاده گردید. از شمارش کلنی ها در آزمون ضدجهش زایی - ضدسرطانی، درصد بازدارندگی یا آنتی اکسیدانی محاسبه گردید.

درصد بازدارندگی ضدسرطانی و ضدجهشی ماده سیتروس، پس از شمارش کلونی ها، به ترتیب برابر با ۷۲/۴۶ و ۲۶/۰۸ بوده است. در خصوص سیتروس خواص ضدسرطانی قوی و خواص ضدجهشی متوسط می باشد.

فصل اول

کلیات تحقیق

مقدمه و بیان مسئله

در حال حاضر سرطان یکی از عوامل مرگ و میر در جهان می باشد که در اثر عوامل مختلفی از جمله مواد جهش زا و مواد شیمیایی سرطان زا در محیط بوجود می آید. عوامل محیطی که به صورت جهش زا عمل کرده عامل سرطان هستند. برطبق برآوردهای انجام شده ممکن است بیش از ۷۵٪ سرطان ها دارای منشا محیطی باشند (۲۱).

آسیب ها و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی DNA و بروز جهش در ژن ها و دیگر تغییرات در ساختار کروموزومی و سرطان زایی نقش بسزایی دارند (۳). بسیاری از مواد جهش زا و سرطان زا از طریق رادیکال های آزاد از جمله گونه های اکسیژن واکنش گرا (ROS) اثر تخریبی خود را نشان می دهند. لذا موادی که به عنوان آنتی اکسیدانت عمل می کنند، دارای پتانسیلی هستند که ROS را کاهش می دهد.

ROS در اتیولوژی بیماری ها مانند سرطان، کاردیوسلولار، مشکلات عصبی و پیری نقش دارد. لذا مصرف روزانه آنتی اکسیدان ها دفاع و ایمنی بدن را در مقابل تولید رادیکال های آزاد افزایش داده و به عنوان ضدسرطان عمل می کند (۴و۵و۶). برخی میوه ها و سبزیجات به علت داشتن مقدار زیادی آنتی اکسیدان ها مانند پلی فنل ها، ویتامین C، ویتامین E، بتاکاروتن و لیپوتن، از مواد غذایی اصلی ضدسرطان محسوب می گردند (۷).

مرکبات از جمله دسته این میوه ها هستند (۸و۹). از شایعترین آزمایشات جهت سنجش اثرات ضدسرطانی و ضدجهش زایی آزمون ایمز با بکارگیری باکتری های دارای جهش خاص (۱۰و۱۱) و تاثیر مواد مورد نظر بر سلول های سرطانی کشت شده در *in vitro* می باشد. هدف این تحقیق که برای اولین بار انجام شد، بررسی اثر ضدسرطانی و ضدجهشی *Citrus nobilis* از طریق آزمون ایمز می باشد.

اهداف مطالعه

هدف کلی

بررسی خواص ضدسرطانی و ضدجهشی *Citrus nobilis*

اهداف ویژه

۱- تعیین خواص ضدسرطانی *Citrus nobilis*

۲- تعیین خواص ضدجهشی *Citrus nobilis*

اهداف کاربردی

در صورت تایید خواص ضدسرطانی و ضدجهشی این میوه، توصیه اکید بر قرار گرفتن میوه در رژیم غذایی روزانه.

سوالات مطالعه

میزان خواص ضدسرطانی *Citrus nobilis* چقدر است؟

میزان خواص ضدجهشی *Citrus nobilis* چقدر است؟

فرضیه های مطالعه

میزان خواص ضدسرطانی *Citrus nobilis* مثبت است.

میزان خواص ضدجهشی *Citrus nobilis* مثبت است.

معیارهای ورود به مطالعه

کلنی های باکتری های سالمونلا که دارای جهش در ژن هیستیدین هستند.

معیارهای خروج از مطالعه

کلنی های باکتری های سالمونلا که فاقد جهش در ژن هیستیدین هستند.

۱-۱ - سرطان

سرطان بیماری است که در آن سلول های بدن در یک تومور بدخیم به طور غیر عادی تقسیم و تکثیر می شوند و بافت های سالم را نابود می کنند. سلول های سرطانی از ساز و کارهای عادی تقسیم و رشد سلول ها جدا می افتند. علت دقیق این پدیده نامشخص است، ولی احتمال دارد عوامل ژنتیکی یا عوامل بیرونی همچون ویروس و مواد سرطان زا موثر باشند. در یک جاندار سالم، همیشه بین میزان تقسیم سلول، مرگ سلولی و تمایز، یک تعادل وجود دارد. در حال حاضر سرطان یکی از علل عمده مرگ و میر در جهان می باشد که در سنین مختلف وجود دارد ولی احتمال بروز آن با بالا رفتن سن افزایش می یابد.

طبق گزارش انجمن بهداشت امریکا، سالیانه ۱۵ میلیون نفر از مردم جهان دچار سرطان می شوند که تقریباً ۶/۲ میلیون نفر در اثر سرطان فوت می کنند و ۱۳٪ از کل ۵۸ میلیون مرگ در سراسر جهان را به خود اختصاص می دهد. بیش از ۷۰٪ تمام مرگ ها ناشی از سرطان در کشورهای کم درآمد یا با درآمد متوسط اتفاق می افتد.

سرطان یک بیماری هتروژن می باشد که بوسیله یک توده سلول بدخیم مشخص شده که منجر به خراب شدن عملکرد فیزیولوژیک نرمال سلول ها می شود. سلول های تومورال اغلب تغییرات مضاعفی در تشکیلات آپوپتوز ایجاد می کنند که منجر به افزایش سطوح رشد و تکثیر سلول ها می شود.

سرنوشت سلول در هر زمان، بوسیله فاکتورهای رشد، پیام های محیطی و برخی پروتئین ها و پیامبرهای سلولی، کنترل می شود. جهش هایی که منجر به تغییر هر یک از فاکتورهای موثر در سرنوشت سلول می شوند، باعث بهم خوردن نظم دقیقی که در تنظیم رشد و تکثیر و تمایز سلول ها وجود دارد می شود و می تواند منجر به بروز سرطان شود. سلول های سرطانی کنترل خود را بر چرخه سلولی از دست داده و بطور مداوم و بدون توجه به پیام های سلولی و فاکتورهای رشد، به تکثیر ادامه می دهند. در سلول های سرطانی بیان پروتئین های سلولی تغییر کرده و برخی از آنها که نباید بیان شوند بیان شده و بیان برخی دیگر از ژن

ها متوقف می شوند. به طور کلی فاکتورهایی که نقص در آنها منجر به از دست رفتن کنترل رشد و تکثیر سلول ها و بروز سرطان می شوند، به دو دسته تقسیم می شوند: انکوپروتئین ها و پروتئین های سرکوبگر تومور.

بر طبق برآوردهای انجام شده ممکن است بیش از ۷۵٪ سرطان ها دارای منشا محیطی باشند که می توان آلودگی، دخانیات، مواد غذایی، الکل، برخی پرتوها و نیز رشد و تکثیر ویروس ها را نام برد.

آسیب ها و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی DNA و بروز جهش در ژن ها و دیگر تغییرات در ساختار کروموزومی در سرطان زایی نقش بسزایی دارند. بسیاری از مواد جهش زا و سرطان زا از طریق رادیکال های آزاد از جمله گونه های فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species (ROS اثر تخریبی خود را نشان می دهند موادی که به عنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند، می توانند آثار زیان بار ROS را کاهش دهند. سرطان شامل همه انواع تومورهای بدخیم می شود که آنها را بیشتر با نام نئوپلاسم می شناسند. احتمال بروز سرطان در سنین مختلف وجود دارد ولی احتمال بروز سرطان با افزایش سن زیاد می شود. سرطان باعث ۱۳٪ مرگ ها است. بر طبق گزارش انجمن بهداشت امریکا ۷/۶ میلیون نفر بر اثر سرطان در سال ۲۰۰۷ مرده اند. سرطان تنها ویژه انسان نیست و همه جانوران و گیاهان پر سلولی نیز ممکن است به سرطان دچار شوند.

۱-۲- تکثیر بی رویه سلول ها در سرطان

سرنوشت سلول ها کاملاً کنترل شده است و بر اساس نیازهای بدن انجام می شود. در جنین میزان تکثیر سلول ها بیشتر از مرگ سلولی است اما در جاندار بالغ میزان مرگ سلولی و تقسیم سلولی به تعادل می رسد. سرنوشت سلول در هر زمان، به طور کاملاً دقیق، بوسیله فاکتورهای رشد، پیام های محیطی و برخی پروتئین ها و پیامبرهای سلولی، کنترل می شود. جهش هایی که منجر به تغییر هر یک از فاکتورهای موثر

در سرنوشت سلول می شوند، باعث بهم خوردن نظم دقیقی که در تنظیم رشد و تکثیر و تمایز سلول ها وجود دارد می شود و می تواند منجر به بروز سرطان شود.

سلول های سرطانی کنترل خود را بر چرخه سلولی از دست داده و به طور مداوم و بدون توجه به پیام های سلولی و فاکتورهای رشد، به تکثیر ادامه می دهند. در سلول های سرطانی بیان پروتئین های سلولی تغییر کرده و برخی از آنها که نباید بیان شوند، بیان شده و بیان برخی دیگر از ژن ها متوقف می شوند. به طور کلی فاکتورهایی که نقص در آنها منجر به از دست رفتن کنترل رشد و تکثیر سلول ها و بروز سرطان می شوند، به دو دسته تقسیم می شوند: انکو پروتئین ها و پروتئین های سرکوبگر.

۱-۳- اپیدمیولوژی

در سال ۲۰۰۰ در حدود ۱۰ میلیون مورد جدید سرطان و ۶ میلیون مورد مرگ وابسته به سرطان در دنیا به ثبت رسید. در امریکا هر سال در حدود ۱/۵ میلیون نفر برای نخستین بار متوجه می شوند که به نوعی سرطان مبتلا شده اند. بر اساس آمار، سرطان باعث مرگ ۵۵۶۰۰۰ نفر در سال ۲۰۰۳ شد که برابر مرگ روزانه ۱۵۰۰ نفر می باشد و فقط مرگ ناشی از بیماری های قلبی و عروقی دارای شیوعی بیش از آن است. شایع ترین تومورها در مردان سرطان های پروستات، ریه و روده بزرگ می باشند و در زنان سرطان های پستان، ریه و روده بزرگ هستند.

سرطان های ریه، پستان، پروستات و روده بزرگ علت بیش از ۵۰٪ سرطان های تشخیص داده شده و نیز مرگ ناشی از سرطان را در امریکا شامل می شوند. در طول ۵۰ سال گذشته میزان کلی مرگ وابسته به سن، ناشی از سرطان به طور قابل توجهی در مردان افزایش یافته در حالی که این نسبت در زنان کمی کاهش یافته است. این افزایش در مردان بیشتر به علت سرطان ریه می باشد ولی بهبود این نسبت را در زنان می توان به کاهش واضح میزان مرگ و میر ناشی از سرطان های رحم، معده، کبد و از همه مهم تر سرطان گردن رحم در زنان مرتبط دانست.

تفاوت های بارزی در میزان وقوع و مرگ و میر ناشی از انواع سرطان در سرتاسر دنیا وجود دارد. برای مثال میزان مرگ ناشی از سرطان معده در ژاپن ۷ تا ۸ برابر امریکا است در مقابل میزان مرگ و میر ناشی از سرطان ریه در امریکا کمی بیش از ۲ برابر ژاپن است. مرگ و میر ناشی از سرطان پوست که بیشتر به علت ملانوم بدخیم می باشد در نیوزلند ۶ برابر شایع تر از ایسلند است که مهم ترین علت آن تفاوت در معرض نور خورشید قرار گرفتن می باشد.

۱-۴- سبب شناسی

عوامل محیطی

عوامل محیطی در همه جا وجود دارند. آنها در محیط اطراف ما، در محل کار، در غذا و... یافت می شوند. از عوامل محیطی که در ایجاد سلول های سرطانی نقش دارند می توان آلودگی، دخانیات، مواد غذایی، الکل، برخی پرتوها و نیز رشد و تکثیر ویروس ها را نام برد.

آلودگی

نقش آلودگی در ایجاد سرطان هنوز مشخص نیست، با این وجود گمان می رود که آلودگی های شیمیایی احتمال جهش سلول ها را افزایش داده و می توانند موجب گسترش سرطان در بدن شوند. آزبست، ونیل کلراید و ۲- نفتیل آمین مثال هایی از آلودگی های صنعتی هستند.

دخانیات

مصرف دخانیات در ایجاد سرطان در مجاری تنفسی نقش دارد. ۹۰٪ ابتلا به سرطان ریه به دلیل کشیدن سیگار رخ می دهد. سیگار کشیدن مهم ترین عامل محیطی منفرد در وقوع مرگ زودرس در امریکا می باشد.

مواد غذایی

مصرف الکل در ابتلا به سرطان های دهان (به غیر از لب)، حنجره، مری به دلیل ایجاد سیروز الکلی احتمال بروز سرطان کبد را بالا می برد.

پرتوها

برخی از پرتوها همچون پرتوهای فرابنفش خورشید موجب سرطان هایی مانند سرطان پوست می شوند.

عفونت های باکتریایی و یا ویروسی

برخی سرطان ها همچون سرطان گردن رحم به علت عفونت های ویروسی (ویروس پاپیلومای انسانی) بروز می کنند. میزان خطر سرطان گردن رحم، به سن اولین مقاربت و تعداد شریک های جنسی وابسته است. از دیگر ویروس ها می توان به ویروس اپشتاین بار که در ایجاد شکل آفریقایی لنفوم بورکیت، لنفوم سلول B در افراد با ایمنی سرکوب شده، لنفوم هوجکین و سرطان نازوفارنکس نقش دارد. ویروس هیپاتیت B و ویروس هیپاتیت C در ایجاد سرطان کبد نقش دارند. از باکتری ها نیز می توان به هلیکوباکتر پیلوری اشاره کرد که با سرطان معده و لنفوم معده در ارتباط است.

عوامل ژنتیکی

وجود سابقه سرطان بین اعضای نزدیک خانواده احتمال دچار شدن به سرطان را افزایش می دهد. وجود جهش در برخی ژن ها (که به آنها انکوژن و ژن های سرکوبگر تومور می گویند) باعث بروز سرطان می شود.

ژن درمانی

در ژن درمانی سرطان از اولیگونوکلوئوتیدها استفاده می شود. نمونه ای از این روش برای جلوگیری از ساخته شدن پروتئین PGP برای خارج نشدن داروهای ضد سرطان از سلول ها می باشد. انواع ژن های دخیل در فیزیوپاتوژنز سرطان شامل موارد زیر هستند:

۱- آنکوژن ها Oncogenes

آنکوژن ها (ژن های عامل تومور) که در شرایط عادی در فرستادن پیام به سلول برای تکثیر نقش دارند. اختلال و تغییر در این سلول ها منجر به تکثیر نامنظم سلول شده و سلول سرطانی بشمار می رود.

۲- ژن های سرکوبگر تومور (Tumour suppressor genes)

این ژن ها پروتئین های خاصی را تولید می کنند که در شرایط عادی وظیفه معکوس آنکوژن ها را داشته و به سلول پیام توقف تکثیر می دهد. یکی از مهم ترین ژن های این گروه ژنی به نام P53 می باشد.

۳- ژن های خودکشی (Suicide genes)

خودکشی سلول ها یا مرگ سلول یکی از مهم ترین عوامل پیچیده سلولی است که به سلول توانایی خودکشی در شرایط غیر معمول را می دهد تا مانع شیوع تکثیر و آسیب دیدگی به سایر سلول ها شود. هنگامی که ژن های خودکشی آسیب پیدا کنند دیگر قادر به فعالیت خود برای نابود کردن سلول معیوب نبوده و سلول سرطانی محسوب می شود.

۴- ژن های ترمیمی DNA (DNA repairing genes)

این ژن ها مسئول ترمیم DNA آسیب دیده و معیوب هستند که با ترشح پروتئین های متفاوت زمینه ترمیم DNA آسیب دیده را فراهم می کنند. اما زمانی که خود این ژن های ترمیمی DNA آسیب می بینند، سلول دیگر توانایی ترمیم خود را از دست داده و اختلالات ژنتیکی و ترمیم نشدن DNA منجر به سرطان می شود.

عوامل ایمنولوژیک

نارسایی مکانیسم ایمنی طبیعی بدن عاملی مستعد کننده در ایجاد سرطان ریه شناخته شده است.

سن

افزایش سن احتمال دچار شدن به سرطان را به شدت افزایش می دهد. اغلب سرطان ها در سنین حدود ۵۵ سال یا بیشتر از آن رخ می دهند. سرطان علت اصلی مرگ در میان زنان ۴۰ تا ۷۹ سال و مردان ۶۰ تا ۷۶ سال است. سرطان کودکان کمتر از ۱۵ سال را نیز دچار می کند. سرطان علت بیش از ۱۰٪ موارد مرگ و میر در این گروه سنی در امریکا می باشد. لوسمی حاد (نوعی سرطان خون) و سرطان های دستگاه عصبی مرکزی حدود ۶۰٪ مرگ و میرها را در این سن باعث می شوند.

پیشگیری

برخی از روش های کلی مانند عدم استعمال دخانیات، مصرف غذای سالم، پرهیز از عوامل تراتوژن (برخی مواد شیمیایی صنعتی مانند آزبست، اشعه یونیزان مانند کار در رادیولوژی، نور آفتاب و...) در پیشگیری از سرطان موثرند.

فصل دوم

پیشینه تحقیق