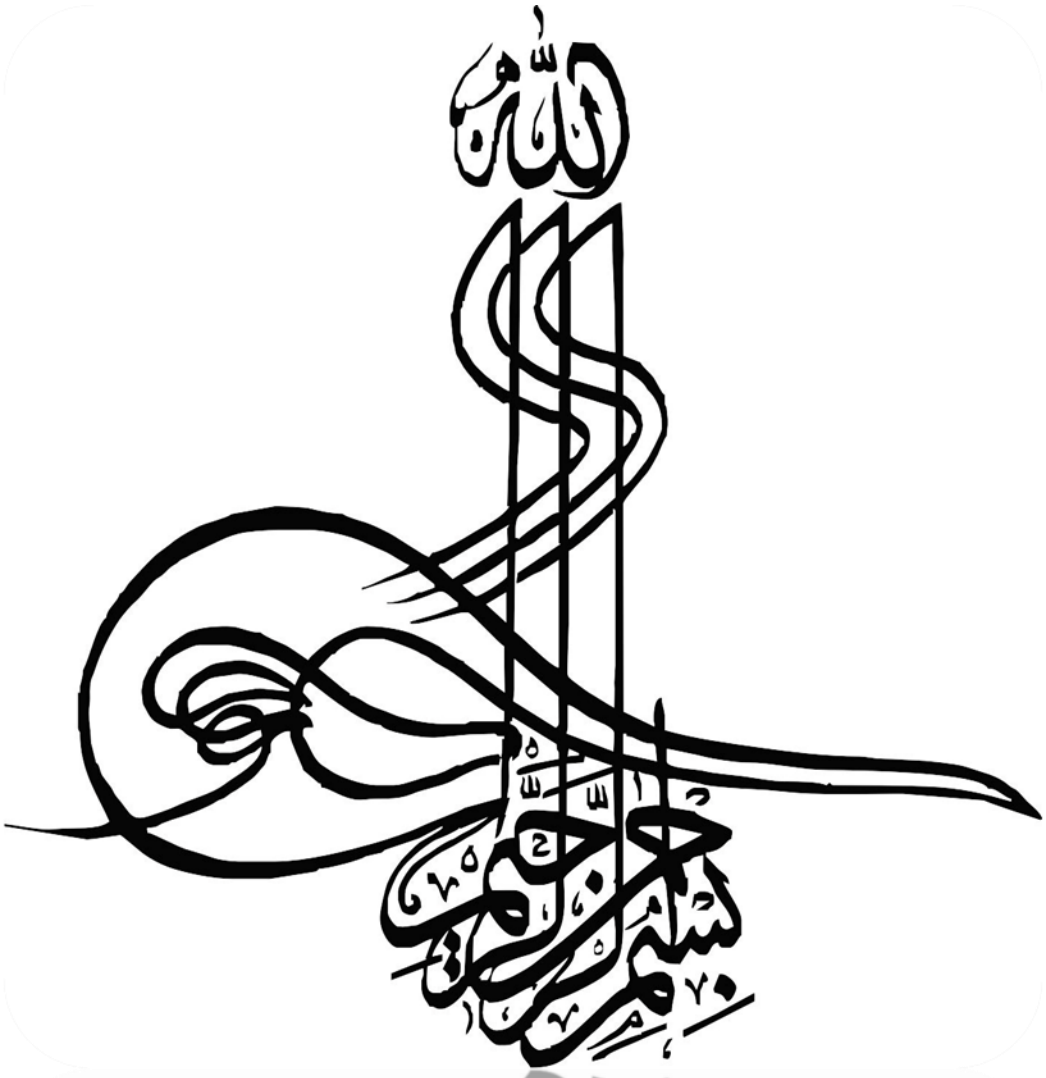
الله
بسم الله الرحمن الرحيم

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه تربیت معلم تهران است.

دانشگاه تربیت معلم
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد سلولی تکوین جانوری

عنوان:

بررسی اثر زهر زنبور عسل و Paclitaxel بر روی رده سلولی سرطانی سینه انسانی MDA-MB-231

استاد راهنما:
دکتر هما محسنی کوچصفهانی

استاد مشاور:
دکتر محمد نبیونی

دانشجو:
صدیقه ناصری

مهرماه ۹۰

سبحانك يا علام الغيوب

سبحانك يا ستار العيوب

سبحانك يا من بذكره تطمئن القلوب

بزرگوار، خدایی است که سلطنت ملک هستی؛ به دست قدرت اوست و در همه عالم بر همه چیز، وی را توانایی است. خدایی که مرگ و زندگانی را آفرید تا شما بندگان را بیازماید که کدامیک نیکوکارتر هستید و او مقتدر و آمرزنده گناهان بندگان است.

« آیات ۲-۱ سوره ملك »

این جوهر نوشته را اگر لایق پیش کشی باشد،

پیشکش می کنم به ساحت مقدس مولایم

صاحب الزمان (عج)

که با آفتاب وجود مهربانی هایشان ره نشانم دادند...

تشکر و قدردانی

سپاس خدایی راست جل جلاله که آثار قدرتش بر چهره ی روز روشن تابان، و انوار حکمتش در دل شب تار درفشان، و درود بر گزیده خلقت، مصطفی محمد، و علی آله. سپاس او راکه از ابتدا راه دانش آموزی رابر من رهنمون کرد. شکرگزار اویم که مرادر این راه توفیق داد و یاریم نمود.

بر خودلازم می دانم از استاد گرانقدرم سرکار خانم دکتر هما محسنی کوچصفهانی به پاس راهنمایی های بی دریغشان تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد گرامی جناب آقای دکتر محمد نبیونی که طریق تحقیق رابر من هموار ساختند نیز سپاسگزاری می نمایم.

از استادان محترم داور جناب آقای دکتر کاظم پریور و سرکار خانم دکتر مهناز آذرنیا که زحمت داوری این پایان نامه رابر عهده گرفتند، کمال تشکر رادارم.

سپاسگزاری خویش رابه محضر پدر و مادر عزیزم به پاس محبت های خالصانه، حمایت ها و راهنمایی های ارزشمندشان در طول زندگیم، تقدیم می نمایم.

بر خودلازم می دانم صمیمانه ترین سپاس هایم رانثار همسر عزیزم کنم به پاس محبت های بی دریغ که با صداقت و دلسوزیش همیشه مرادلگرم نموده و اراده ام رادو چندان ساخته و پناه خستگی هایم بوده.

از تمامی بزرگواران و دوستان عزیز که در این راه بسیار صمیمانه و خالصانه مرایاری نمودند کمال تقدیر و تشکر رادارم...

که فرمودند: من لم یشکر المخلوق، لم یشکر الخالق

چکیده

سرطان سینه یکی از شایع ترین سرطان ها در زنان است. علی رغم پیشرفت های درمانی، سرطان سینه هنوز میزان مرگ و میر بالایی دارد. درمان های متداول برای درمان سرطان سینه اغلب منجر به ایجاد سمیت و مقاومت دارویی می شوند. بنابراین، تحقیق بیشتر برای کشف و توسعه عوامل ضد سرطان با سمیت کمتر و مؤثرتر، از جمله محصولات طبیعی مورد نیاز است. اخیراً، بسیاری از مطالعات گزارش کرده اند که بعضی از محصولات طبیعی قادر به مهار رشد سلول های سرطانی، متاستاز و همچنین القای آپوپتوز هستند. زهر زنبور عسل در طب سنتی شرقی برای تسکین درد و درمان بیماری های التهابی مزمن مثل آرتریت روماتوئید مورد استفاده بوده است و امروزه در درمان تومورها مورد توجه قرار گرفته است. ملیتین، ترکیب فعال اصلی زهر زنبور، برای القاء آپوپتوز و دارا بودن اثرات ضد توموری شناخته شده است. پاکلیتاسل به عنوان یک عامل شیمی درمانی با ارزش پدید آمده، که مرگ سلولی آپوپتوزی را در سلول های سرطانی مختلفی القا می کند.

هدف مطالعه حاضر بررسی فعالیت ضد توموری زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل بصورت جداگانه و تؤام بر روی رده سلولی MDA-MB-231 بود. رده سلولی سرطان سینه MDA-MB-231 از مؤسسه انستیتو پاستور ایران تهیه شد. سلول های MDA-MB-231 در محیط کشت RPMI 1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنینی گاوی (FBS) کشت شدند و در انکوباتور CO_2 در دمای ^{o}C ۳۷ نگهداری شدند. به منظور تعیین اثرات سیتوتوکسیک زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل بر روی سلول های MDA-MB-231 به صورت جداگانه و تؤام، این سلول ها با غلظت های مختلف زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل به مدت ۲۴ و ۴۸ ساعت تیمار شدند، سپس میزان بقاء سلولی توسط سنجش MTT تعیین شد. به منظور تعیین نوع مرگ سلولی القا شده به وسیله این ترکیبات، رنگ آمیزی DAPI بر روی سلول های تیمار شده با زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل انجام شد.

بر اساس نتایج حاصل از سنجش MTT میزان Cc_{50} زهر زنبور برای رده سلولی MDA-MB-231 به ترتیب µg/ml ۹ و µg/ml ۷ بعد از طی ۲۴ و ۴۸ ساعت و میزان Cc_{50} پاکلیتاکسل برای این سلول ها به ترتیب ۱ و µg/ml ۰/۰۵ بعد از طی ۲۴ و ۴۸ ساعت به دست آمد. بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه، زهر زنبور و پاکلیتاکسل تکثیر سلول های MDA-MB-231 را مهار کرده و موجب القای

آپوپتوز در این سلول ها در یک الگوی وابسته به دوز و زمان شدند. از طریق بررسی های مورفولوژیکی، ثابت شد که سلول های MDA-MB-231 بعد از تیمار با زهر زنبور و پاکلیتاکسل ویژگی های مشخصه آپوپتوز را نشان می دهند.

یافته های ما نشان داد که زهر زنبور و پاکلیتاکسل فعالیت ضد توموری قابل توجهی به صورت جداگانه و تؤام داشته و اثرات سیتوتوکسیک این ترکیبات توسط همدیگر تقویت می شود. بنابراین، زهر زنبور و پاکلیتاکسل در درمان سرطان سینه به صورت ترکیبی در غلظتی کمتر از زمانی که دارو به تنهایی بکار رود، مؤثرترند. درمان ترکیبی، که مستلزم استفاده از چندین دارو می باشد، روش متداولی برای درمان سرطان است، زیرا این روش دوز و سمیت مربوط به داروهای منفرد را کاهش می دهد.

کلمات کلیدی: زهر زنبور عسل، پاکلیتاکسل، اثر سیتوتوکسیک، آپوپتوز، رده سلولی MDA-MB-231

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول

مقدمه ۱

۱-۱- سرطان ۲

۱-۲- سرطان سینه ۲

۱-۲-۱- انکوژن ها و ژن های سرکوبگر تومور در سرطان سینه ۳

۱-۲-۲- درمان سرطان سینه ۶

۱-۲-۲-۱- جراحی ۶

۱-۲-۲-۲- پرتودرمانی ۷

۱-۲-۲-۳- شیمی درمانی ۷

۱-۲-۳- رده سلولی سرطانی MDA-MB-231 ..... ۱۰

۱-۳- آپوپتوز ۱۰

۱-۳-۱- ویژگی های مورفولوژیکی آپوپتوز ۱۱

۱-۳-۲- ویژگی های بیوشیمیایی آپوپتوز ۱۲

۱-۳-۳- تشخیص آپوپتوز از نکروز ۱۴

۱-۳-۴- مسیرهای آپوپتوزی ۱۵

۱-۳-۴-۱- مسیر خارجی ۱۶

۱-۳-۴-۲- مسیر داخلی ۱۷

۱-۳-۵- پروتئین های خانواده Bcl-2 ..... ۱۹

عنوان **صفحه**

۱-۴- آپوپتوز و سرطان ۲۱

۱-۵- زهر زنبور عسل ۲۲

۱-۵-۱- ترکیبات موجود در زهر زنبور عسل ۲۲

۱-۵-۲- اثرات درمانی زهر زنبور عسل ۲۵

۱-۶- فرضیه ها و اهداف تحقیق ۲۷

فصل دوم

مواد و روش ها ۲۹

۲-۱- وسایل و مواد مورد نیاز ۳۰

۲-۱-۱- دستگاه ها و وسایل مورد نیاز ۳۰

۲-۱-۲- مواد مورد نیاز ۳۲

۲-۱-۳- تهیه محلول های مورد نیاز ۳۳

۲-۱-۳-۱- تهیهٔ محیط کشت RPMI 1640 ..... ۳۳

۲-۱-۳-۲- تهیه محلول PBS ۳۳

۲-۱-۳-۳- تهیه محلول اولیه زهر زنبور عسل ۳۳

۲-۱-۳-۴-تهیهٔ محلولMTT ۳۴

۲-۲- کشت سلول ۳۴

۲-۲-۱- پاساژ سلول ها ۳۵

۲-۲-۲- ذخیره سلول ها برای مدت طولانی ۳۶

۲-۲-۳- شمارش سلولی ۳۷

عنوان **صفحه**

۲-۳- نحوه بررسی تأثیر دوزهای مختلف زهر زنبور عسل بر سلول های MDA-MB-231 ..... ۳۹

۲-۴- نحوه بررسی تأثیر دوزهای مختلف پاکلیتاکسل بر سلول های MDA-MB-231 ..... ۳۹

۳-۴- نحوه بررسی تأثیر زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل به صورت تؤام بر سلولهای MDA-MB-231 ..... ۴۰

۲-۵- ارزیابی میزان بقا سلول ها (viability assay) با روش MTT ۴۰

۲-۵- بررسی نوع مرگ القا شده توسط زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل بر روی سلول های MDA-MB-231 توسط رنگ آمیزی DAPI..... ۴۱

۲-۶- آنالیز آماری ۴۳

فصل سوم

نتایج ۴۴

۳-۱- نتایج حاصل از آنالیز مورفولوژیک سلولهای MDA-MB-231 بعد از تیمار با زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل به صورت جداگانه و تؤام و مقایسه آن با نمونه کنترل ۴۵

۳-۲- نتایج حاصل از بررسی اثر زهر زنبور عسل بر میزان بقاء و تکثیر سلولی در رده سلولی MDA-MB-231 با استفاده از روش MTT ۴۸

۳-۳- نتایج حاصل از بررسی اثر پاکلیتاکسل بر روی میزان بقاء و تکثیر سلولی در رده سلولی MDA-MB-231 با استفاده از روش MTT ۵۱

۳-۴- نتایج حاصل از بررسی اثر هم افزایی زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل بر میزان تکثیر و بقاء سلول های MDA-MB-231 با استفاده از روشMTT ۵۳

عنوان **صفحه**

۳-۵- نتایج حاصل از بررسی نوع مرگ سلولی القا شده با زهر زنبور عسل و پاکلیتاکسل با استفاده از رنگ آمیزی DAPI ۵۵

فصل چهارم

بحث و نتیجه گیری ۵۹

فصل پنجم

منابع ۷۰

فصل اول

مقدمه

۱-۱- سرطان

سرطان یک اصطلاح عمومی برای گروه بزرگی از بیماری ها می باشد، که طی آن سلول های غیر طبیعی بدون کنترل تقسیم می شوند و قادر به تهاجم به بافت های دیگر هستند. سرطان یک علت عمده مرگ و میر در سرتاسر جهان است. بیش از ۱۰۰ نوع سرطان وجود دارد که آن ها می توانند هر قسمت از بدن را تحت تأثیر قرار دهند. اکثر سرطان ها بر اساس نام اندام یا نوع سلولی که از آن منشأ می گیرند، نامگذاری می شوند. هر گونه تغییر در DNA یا آسیب به آن، جهش هایی را ایجاد می کند که رشد و تقسیم سلول های طبیعی را تحت تأثیر قرار می دهد. این سلول های غیر طبیعی پاسخدهی به کنترل های رشد طبیعی را از دست داده و به تقسیم ادامه می دهند و ممکن است توده بافتی به نام تومور را تشکیل دهند. البته جهش به تنهایی برای ایجاد تومور کافی نیست، بلکه سرطان یک فرآیند چند مرحله ای است که مستلزم تغییرات متعددی در سلول ها و مکانیسم های کنترل فیزیولوژیکی آن ها می باشد. ناهنجاری های ژنتیکی یافت شده در سرطان دو گروه کلی از ژن ها را تحت تأثیر قرار می دهند، فعال شدن انکوژن ها و یا غیر فعال شدن ژن های سرکوبگر تومور. در همه تومورها ۶ تغییر ضروری در فیزیولوژی سلول یافت می شود که تحت عنوان نشان های سرطان (hallmarks of cancer) نامیده می شوند. این ها شامل خودکفایی در سیگنال های رشد، عدم حساسیت به سیگنال های ضد رشد، طفره رفتن از آپوپتوز، عدم محدودیت در توانایی تکثیر، وقوع آنژیوژنز، تهاجم بافتی و متاستاز می شوند (Hanahan and Weinberg, 2000).

۱-۲- سرطان سینه

سرطان سینه (breast cancer)، یکی از شایع ترین سرطان ها در زنان می باشد و دومین سرطان کشنده در کشورهای غربی است. علی رغم پیشرفت های درمانی، به دلیل تشخیص دیر هنگام، هنوز

میزان مرگ و میر بالایی دارد (Mandal et al., 2007). این سرطان ۱۸٪ از کل سرطان های زنان را شامل می شود (Pherson et al., 2000). علت مرگ در سرطان سینه، متاستاز در گره های لنفاوی منطقه ای و در اندام های دور از جمله استخوان، ریه، کبد و مغز می باشد. مشابه بسیاری از انواع دیگر سرطان های متاستاتیک، در سرطان سینه تغییرات مولکولی خاصی هم در سلول های تومور و هم در محیط کوچک (microenvironment) تومور رخ می دهد، که منجر به جدا شدن سلول های تومور از توده تومور اولیه و تهاجم به استرومای تومور می شود. سلول های تومور به درون عروق خونی یا لنفاوی وارد شده، در گردش خون زنده می مانند و در اندام های هدف از خون خارج شده و در آن ها تجمع پیدا می کنند (Fantozzi and Christofori, 2006). سرطان سینه یک بیماری ژنتیکی است. زمانی که سرطان سینه بطور بالینی تشخیص داده شود، جهش ها را می توان در حداقل ۴ تا ۶ ژن تنظیمی اصلی نشان داد، که بر روی کروموزوم های مختلف در هسته سلول سرطانی قرار گرفته اند. این ژن ها نقشی را در حفظ تعادل فیزیولوژیکی بین تکثیر، آپوپتوز و تمایز ایفا می کنند. سرطان سینه ارثی تقریباً نیمی از همه موارد سرطان سینه را تشکیل می دهد (Kenemans et al., 2004). فاکتورهای مختلفی در مورد خطر ابتلا به سرطان سینه مورد مطالعه قرار گرفته اند، از جمله سن، تنوع جغرافیایی، سابقه خانوادگی، سن شروع قاعدگی و یائسگی، سن اولین بارداری، چاقی، وضعیت تغذیه، مصرف قرص های ضد بارداری و مصرف الکل (Pherson et al., 2000).

۱-۲-۱- انکوژن ها و ژن های سرکوبگر تومور در سرطان سینه

گرچه پیشرفت هایی در زمینه چگونگی برخی فرآیندهای اساسی که در سرطانزایی نقش دارند به عمل آمده است، ولی تاکنون مکانیسم دقیق بیوشیمیایی و مولکولی این پدیده پیچیده و چند مرحله ای مشخص نشده است. مطالعات اخیر بیشتر از این فرضیه پشتیبانی می کنند که ایجاد سرطان در نتیجه

فعال شدن پروتوانکوژن ها و همچنین غیر فعال شدن ژن های سرکوبگر تومور است. طی مکانیسم های متعددی نحوه بیان و یا ساختار پروتوانکوژن ها تغییر کرده و در نتیجه، این ژن ها به انکوژن تبدیل می شوند. فعال شدن آن ها می تواند از طریق تزاید ژن صورت بگیرد که عملکرد آن ژن تشدید پیدا می کند، مثل ژن HER-2. مکانیسم دیگر فعال شدن انکوژن، جهش نقطه ای است که عملکرد انکوپروتئین را تشدید می کند، مثل جهش نقطه ای در انکوژن ras (Osborne et al., 2004).

افزایش بیان چندین انکوژن در بیماران مبتلا به سرطان گزارش شده است که غالباً با حالت تهاجمی بیشتر تومور همراه است. انکوژن HER2/c-erbB2 بر روی کروموزوم 17q قرار گرفته است و پروتئینی با وزن مولکولی ۱۸۵ KDa را کد می کند، شباهت زیادی به گیرنده فاکتور رشد اپیدرمی دارد و یک گیرنده عرض غشایی است. فعال شدن گیرنده، با اتصال لیگاندهای خاصی شروع می شود. اگر تراکم گیرنده بر روی غشاء سلول کافی باشد، دیمریزه شدن و اتوفسفوریلاسیون گیرنده صورت می گیرد که چندین آبشار انتقال را فعال می کند که از طریق انواعی از مسیرها عمل می کنند. این مسیرها، شامل مسیرهای MAP کیناز و PI3K /Akt می شوند، که منجر به تکثیر، آنژیوژنز، برهمکنش های تغییر یافته سلول- سلول ، تحرک افزایش یافته سلول، متاستاز و مقاومت به آپوپتوز می شوند. در پژوهش های انجام شده مشخص شده است که در ۲۰ درصد از مبتلایان به سرطان سینه این ژن تزاید حاصل می کند (Osborne et al., 2004). تزاید این ژن با خواص تهاجمی سرطان سینه همراه است، گرچه مشخص نشده است که در مرحله آغازی سرطان سینه دخالت داشته باشد. مطالعات نشان می دهند که انکوژن c-ras در ایجاد سرطان اولیه سینه دخالت دارد ولی به درستی مشخص نشده است که موتاسیون در c-ras که سبب فعال شدن آن می شود، توانایی ترانسفورم کردن سلول های اپیتلیالی طبیعی را داشته باشد. انکوژن c-myc بر روی کروموزوم 8q24 قرار گرفته و یک فسفو پروتئین هسته

ای را کد می کند که بعنوان تنظیم کننده رونویسی درگیر در تکثیر سلولی، تمایز و آپوپتوز عمل می کند (Osborne et al., 2004). افزایش بیان ژن c-myc در ۱۷/۱ درصد از سرطان اولیه سینه و ۲۳ درصد از سرطان متاستاتیک سینه گزارش شده است. افزایش بیان ژن c-myc به عنوان شاخصی برای میزان بقا است و در بیمارانی که افزایش بیان این ژن رخ می دهد، زمان بدون بیماری و میزان بقا کمتر است. در شرایط فیزیولوژیکی، نقش مهم c-myc ممکن است پیشبرد تکثیر سلول در پاسخ به سیگنال های خارج سلولی، با تحریک سلول های خاموش به سمت چرخه سلولی باشد. تصور می شود که این عملکرد از طریق فعال سازی رونویسی ژن های هدف c-myc که تنظیم کننده های مثبت چرخه سلولی هستند مثل سیکلین های D1، D2، E و A، cdk4،e2f1، e2f2، cdc25A و B، صورت می گیرد. بیان بالای ژن c-myc به دلیل تزاید منطقه کروموزومی که واجد ژن c-myc است، می باشد. تزاید ژن c-myc و افزایش بیان آن همراه با درجه بالای تومور و حالت تهاجمی سرطان سینه همراه است (Liao and Dickson, 2000). علاوه بر فعال شدن انکوژن ها، غیر فعال شدن ژن های سرکوبگر تومور نیز در ایجاد سرطان دخالت دارد. عمل این ژن ها با انکوژن ها متفاوت است و غیر فعال شدن آن ها باعث از بین رفتن برخی مکانیسم های کنترل رشد سلول می شود. دو ژن سرکوبگر تومور که مورد بررسی قرار گرفته اند Rb و P53 هستند. ژن Rb بر روی بازوی بلند کروموزوم ۱۳ قرار دارد و پروتئینی با وزن مولکولی ۱۱۰ KDa را کد می کند که در واقع فسفوپروتئین هسته ای است و در تنظیم چرخه سلولی دخالت دارد. موتاسیون در ژن Rb در تعدادی از سرطان های انسانی و از جمله سرطان سینه گزارش شده است (Carbone and Minna, 1993). یکی دیگر از ژن های سرکوبگر تومور ژن P53 است که پروتئینی با وزن مولکولی ۵۳KDa را کد می کند. این پروتئین نیز یک فسفوپروتئین هسته ای است که روند رونویسی برخی از ژن های دخیل در تقسیم سلولی را تنظیم می کند. پروتئین P53 بعنوان یک عامل کنترل کننده فاز G1 چرخه سلولی در مواقع آسیب به DNA

است. چنانچه آسیب زیادی به ساختمان DNA وارد شود، مقدار پروتئین P53 افزایش یافته و با مهار تقسیم سلولی زمان لازم برای ترمیم DNA را فراهم می آورد (Eeles et al., 1993). بطور طبیعی سطوح P53 در یک سلول تغییر شکل نیافته به علت نیمه عمر کوتاه حدود ۲۰ دقیقه، بسیار پایین است. برای اینکه P53 بتواند عمل کند به یک سیگنال آسیب DNA نیاز دارد. P53 به وسیله عوامل آسیب رساننده به DNA از جمله اشعه گاما و عوامل شیمی درمانی القا می شود. بعد از اینکه سلول در معرض آسیب DNA قرار گرفت، سطوح پروتئین P53 به سرعت افزایش می یابد. نتیجه فعال شدن P53 یا آپوپتوز یا توقف چرخه سلولی می باشد. به نظر می رسد که سطح P53 بیان شده ممکن است این دو انتخاب را میانجی گری کند، با سطوح بالا مرگ سلولی پیش می رود و سطوح پایین تر پیشرفت چرخه سلولی را مهار می کند (Makin and Hickman, 2000). اگر این ژن در سلول های توموری غیر فعال شود، نمی تواند عمل خود را انجام دهد و در نتیجه آسیب به DNA ترمیم نمی گردد و سلول از لحاظ ژنتیکی پایداری کمتری دارد. موتاسیون ژن P53 شایع ترین تغییر ژنتیکی در سرطان های انسانی بوده و در سرطان های کولون، سینه، ریه و ... دیده می شود (Eeles et al., 1993)

۱-۲-۲- درمان سرطان سینه

استراتژی درمان برای سرطان سینه که یکی از سرطان های شایع در اکثر کشورهای جهان است، بستگی به گسترش تومور و وضعیت گیرنده های استروژن و پروژسترون دارد (Lundgren S., 1994).

۱-۲-۲-۱- جراحی

پس از تشخیص توده قابل لمس و یا غیر قابل لمس که معمولاً با ماموگرافی مشخص می شود، بیوپسی صورت می گیرد. در صورت تأیید بدخیمی توسط آسیب شناس، درمان شروع می شود. جراحی درمان اصلی و موضعی در سرطان سینه است.

۱-۲-۲-۲- پرتودرمانی

پرتو درمانی جزء درمان های کمکی و موضعی می باشد. پرتو درمانی بعد از جراحی ممکن است تجویز شود. اگر تومور درجه ۱ یا ۲ باشد و گره لنفاوی درگیر نباشد و متاستاز به نقاط دوردست نداده باشد، یکی از راه های درمان، برداشتن توده توموری با جراحی و به دنبال آن پرتودرمانی است، که در این شیوه درمانی سینه حفظ می شود (Lonning, 1991). در بیماران مبتلا به سرطان پیشرفته سینه که متاستاز به مغز داده است و غیرقابل جراحی است از پرتودرمانی همراه با کورتیکواستروئید و یا شیمی درمانی استفاده می شود. متاستاز به مغز در ۱۰ تا ۲۰ درصد از مبتلایان به سرطان سینه صورت می گیرد و میزان بقا پس از پرتودرمانی ۳ تا ۴ ماه است (Boogerd et al., 1992).

۱-۲-۲-۳- شیمی درمانی

شیمی درمانی برای درمان سرطان بصورت بالینی بیش از ۵۰ سال پیش معرفی شد (Johnstone et al., 2002). کاربرد شیمی درمانی برای برخی از بدخیمی ها یکی از رویدادهای موفق علم پزشکی در ۳۰ سال اخیر بوده است. میزان بقا برای برخی از سرطان های هماتولوژیکی بطور چشمگیری بهبود یافته است. در سال ۱۹۷۲ میزان زنده ماندن افراد مبتلا به لوکمیای لنفوبلاستیک ۳۴٪ بوده و امروزه ۷۵٪ می باشد (Makin and Hickman, 2000). شیمی درمانی جزء درمان های کمکی و سیستمیک بوده و معمولاً پس از جراحی تجویز می گردد و نیز به عنوان درمان اولیه در سرطان متاستاتیک سینه به کار می رود (Muss, 1994). میزان پاسخ به شیمی درمانی بین ۲۰ تا ۷۰ درصد است. پاسخ کامل به درمان نادر است. یکی از دلایل آن این است که سلول های سرطانی سینه ناهمگن هستند و گروهی از سلول ها که در فاز G0 (استراحت) هستند تحت تأثیر داروهای سیتوتوکسیک قرار نمی گیرند. وقتی که این سلول های خاموش وارد چرخه سلولی شوند، بیماری عود می کند. از دیگر دلایل نادر بودن

پاسخ کامل به شیمی درمانی، پیدایش مقاومت در برابر داروهای مورد استفاده است. با اینکه این داروها در ابتدا بخوبی تأثیر می کنند، غالباً پس از گذشت مدت زمانی سلول های توموری مجهز به مکانیسم هایی می شوند که باعث بی اثر شدن این داروها می شوند (مقاومت اکتسابی). اعتقاد بر این است که مقاومت اکتسابی سلول های سرطانی نسبت به داروهای شیمی درمانی نشان دهنده میزان بالای موتاسیون خود به خودی در سلول های سرطانی است، و اغلب منجر به ایجاد مقاومت در برابر چند دارو (MDR= multi – drug resistanse) می شود که اهمیت زیادی دارد، زیرا پیدایش این نوع مقاومت غالباً باعث شکست شیمی درمانی سرطان می شود. اساس مولکولی MDR مشخص شده و نشان داده شده است که سلول های سرطانی مقادیر بیشتری از پروتئین موسوم به گلیکوپروتئین P در غشاء پلاسمایی خود دارند. این پروتئین به صورت یک پمپ وابسته به انرژی عمل کرده و انواع مختلف داروهای ضد سرطانی را از سلول های سرطانی خارج می کند و در نتیجه میزان تأثیر آن ها را کم می کند. بنابراین کارایی شیمی درمانی به وسیله برخی فاکتورها از جمله سمیت سیستمیک به دلیل فقدان اختصاصی بودن، متابولیسم سریع دارو و ایجاد مقاومت دارویی ذاتی و اکتسابی تأثیر می پذیرد (Johnstone et al., 2002). یکی از روش های اصلی عمل داروهای شیمی درمانی ممکن است از طریق فعال کردن آپوپتوز باشد. بنابراین درک چگونگی بکارگیری برنامه مرگ سلولی روش جدیدی را برای غلبه بر مسئله بالینی مقاومت دارویی ارائه می دهد (Makin and Hickman, 2000). درمان بیماران سرطانی به کمک شیمی درمانی اغلب اثرات جانبی مختلف و ناخوشایندی دارد. حتی متداول ترین داروهای مورد استفاده در درمان در کمتر از ۵۰٪ بیماران پاسخ های مناسبی را ایجاد می کنند. لذا، اکثر بیماران مجبورند از دوزهای بالایی از داروها استفاده کرده و از اثرات جانبی آن ها رنج ببرند (Roy et al., 2005). عوارض جانبی ناشی از شیمی درمانی عبارتند از تهوع، استفراغ، سرکوب مغز استخوان، ریزش مو، کاهش پلاکت ها و عدم تحمل فعالیت بدنی. بنابراین، به دلیل محدودیت های

درمانی، نیاز به کشف و توسعه عوامل ضد سرطان با سمیت کمتر، از جمله محصولات طبیعی آشکارتر می شود (Yu et al., 2008). درمان ترکیبی، که مستلزم استفاده از چندین دارو می باشد، روش متداولی برای درمان سرطان است، زیرا آن ها به چندین هدف حمله می کنند و دوز و سمیت مربوط به داروهای انفرادی را کاهش می دهند (Roberts, 2006).

پاکلیتاکسل، یکی از داروهای متداول در شیمی درمانی، یک تاکسان است، که بعنوان اولین محصول طبیعی برای تثبیت میکروتوبول ها نشان داده شد. این دارو با اتصال به β- توبولین در میکروتوبول ها تجمع هترودیمر توبولین را پیش می برد. کمپلکس پاکلیتاکسل/ میکروتوبول توانایی جدا شدن ندارد. این امر عملکرد سلول را تحت تأثیر قرار می دهد. به دلیل اینکه پویایی میکروتوبول ها برای عملکردشان ضروری است (Roberts, 2006). مکانیسم عمل این دارو به این صورت است که میکروتوبولها را تثبیت می کند، بنابراین از جدا شدن کروموزوم ها طی تقسیم و تقسیم بعدی سلول جلوگیری می کند (McCloskey et al., 1996). بررسی ها نشان داده اند که پاکلیتاکسل می تواند مرگ برنامه ریزی شده سلولی (آپوپتوز) را در سلولهای سرطانی القا کند. تصور می شود که مهار پویایی میکروتوبول علت اصلی القای توقف میتوزی، آپوپتوز، یا هر دو در سلول های سرطانی تیمار شده با پاکلیتاکسل باشد. پاکلیتاکسل برای درمان سرطان سینه، سرطان های ریه و تخمدان استفاده شده است (Roberts, 2006). اگرچه در ۱۰ سال گذشته پاکلیتاکسل به عنوان داروی موفقی در درمان سرطان مورد استفاده قرار گرفته است، میزان پاسخ به این دارو در بیماران با بیماری های متاستاتیک پیشرفته کم است. بنابراین، درک مکانیسم اثر پاکلیتاکسل بر القای آپوپتوز و کشف راه های جدید برای تشدید اثر پاکلیتاکسل برای بهبود کارایی درمانی این دارو مهم و مورد نیاز است (Motwani et al., 1999).