٣١٤٠٤

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران
تقدیم مدارک

دانشگاه تربیت مدرس
دانشکدهٔ علوم پزشکی

۱۳۷۹ /۱۲/ ۲۰

# پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد در رشته علوم تشریح

## عنوان

# مقایسه القای آپوپتوزیس و میکرونوکلئی توسط بلئومایسین سولفات در مراحل مختلف چرخه سلولی لنفوسیتهای انسان

**نگارش**

بی‌تاسیفی

**استاد راهنما**

دکتر حسین مزدارانی

**استاد مشاور**

دکتر تقی الطریحی

پاییز ۱۳۷۹

8941

۳۱۴۰۴

بسمه تعالی

# آیین‌نامهٔ چاپ پایان‌نامه (رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرّس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان‌نامه (رساله)های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرّس، مبیّن بخشی از فعالیتهای علمی - پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش‌آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می‌شوند:

**مادّهٔ ۱** در صورت اقدام به چاپ پایان‌نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اطلاع دهد.

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

*«کتاب حاضر، حاصل پایان‌نامهٔ کارشناسی ارشد/رسالهٔ دکتری نگارنده در رشتهٔ علوم سیاسی است که در سال ۱۳۷۹ در دانشکدهٔ [illegible] دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی سرکار خانم/جناب آقای دکتر حسین [illegible]، مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر [illegible] و مشاورهٔ سرکار خانم/جناب آقای دکتر ـــــ از آن دفاع شده است.»*

**مادّهٔ ۳** به منظور جبران بخشی از هزینه‌های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به «دفتر نشر آثار علمی» دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می‌تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

**مادّهٔ ۴** در صورت عدم رعایت مادّهٔ ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ‌شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرّس، تأدیه کند.

**مادّهٔ ۵** دانشجو تعهد و قبول می‌کند 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 مادّهٔ ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه‌شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

**مادّهٔ ۶** اینجانب [illegible] دانشجوی رشته علوم سیاسی مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می‌شوم.

**نام و نام‌خانوادگی:** [illegible]

**تاریخ و امضا:**

۷۹،۸،۹

«فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم / آقای بیتا سیفی

رشته: علوم تشریح گرایش:

تقدیم می‌شود. اینجانبان نسخهٔ نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأییدکرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجهٔ کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

جناب آقای دکتر حسین مزدارانی (استاد راهنما)

جناب آقای دکتر تقی الطریحی (استاد مشاور)

سرکار خانم دکتر منصوره موحدین (نماینده تحصیلات تکمیلی)

جناب آقای دکتر محمد حیدری (استاد ناظر)

سرکار خانم دکتر مژده صالح‌نیا (استاد ناظر)

**تقـــدیم به**

**- روان پاک عمه مهربانم که در بهار زندگی به خزان نشست و سرطان گل وجودش را پرپر کرد .**

**- پدر و مادر عزیزم که زندگی ام مرهون محبت‌های آنهاست و همواره مشوق من در کسب علم و معرفت بوده‌اند .**

**- همسر گرامیم که با محبت و متانت سختی دوران تحصیلم را تحمل نموده**

**و نازنینم، به خاطر لحظات فراوانی که از او دریغ داشته‌ام.**

## تقدیر و تشکر

اینک که به لطف و کرم خداوند متعال مراحل تحقیق و تدوین این پایان نامه به اتمام رسیده، لازم است که از مساعدتهای اساتید محترم و دوستان عزیزی که در این امر مرا یاری کردند، تشکر کنم.

- استاد ارجمند جناب آقای دکتر حسین مزدارانی که راهنمایی این پایان نامه را به عهده داشتند و همواره در تمامی مراحل تحقیق و تدوین پایان نامه از راهنماییها و ارشادات خردمندانه ایشان بهره جسته‌ام.

- استاد ارجمند جناب آقای دکتر تقی الطریحی که اوقات ارزشمند خود را صرف مشاوره این پایان نامه نمودند و همواره کمکها و مساعدتهای دلسوزانه ایشان شامل حال اینجانب بوده است .

- جناب آقای پور بیرانوند کارشناس گروه علوم تشریح که با اهدای خون گرانبهای خود انجام این تحقیق را میسر کردند و در انجام این پروژه همواره همکاری لازم را مبذول داشتند.

و با تشکر از کلیه دوستان و همکلاسیهای عزیز بخصوص خانمها فاطمه پیغمبری، مینا قانعی و بهار موقر.

چکیده

## فصـــل اول مقدمه و مروری بر مطالعات انجام شده

**عنوان** **صفحه**


مقدمه ..... ۲

۱-۱ سرطان و اهمیت مطالعهٔ آن ..... ۵

۱-۱-۲ مبنای مولکولی سرطان ..... ۷

۱-۲ روشهای مختلف سنجش اثرات جهش زایی مواد ..... ۱۲

۱-۳ منشاء ناهنجاریهای کروموزمی ..... ۱۳

۱-۴ آسیبها و ناهنجاریهای کروموزومی ..... ۱۶

۱-۴-۱ آسیب نوع کروموزومی ..... ۱۷

۱-۴-۲ آسیبهای نوع کروماتیدی ..... ۱۷

۱-۵ میکرونوکلئی ..... ۱۷

۱-۵-۱ تست میکرونوکلئی ..... ۱۸

۱-۵-۲ اصول سنجش میکرونوکلئی ..... ۲۰

۱-۶ شیمی درمانی ..... ۲۲

۱-۶-۱ شیمی درمانی و آپوپتوزیس ..... ۲۵

۱-۶-۲ بلئومایسین سولفات ..... ۲۵

| عنوان | صفحه |
|---|---|


۱-۷- آپوپتوز ..... ۲۸

۱-۷-۱ مکانیسم‌های القاء آپوپتوز ..... ۲۹

۱-۷-۲ یافته‌های مورفولوژیک آپوپتوز ..... ۳۰

۱-۷-۳ عوامل محرک آپوپتوز ..... ۳۲

۱-۸ لنفوسیت ..... ۳۲

۱-۸-۱ لنفوسیت سازی ..... ۳۴

۱-۹ تقسیم سلولی ..... ۳۵

۱-۱۰ مروری بر مطالعات انجام شده ..... ۳۸

۱-۱۱ هدف از انجام پروژه ..... ۴۳


## فصـــل دوم: مواد و روشها


۲-۱ مواد لازم ..... ۴۶

۲-۲ روش نمونه‌گیری ..... ۴۸

۲-۳ آزمون میکرونوکلئی ..... ۴۸

۲-۳-۱ روش کشت ..... ۴۸

۲-۳-۲ روش تهیه لام میکروسکوپی برای میکرونوکلئی ..... ۵۰

۲-۳-۳ رنگ‌آمیزی ..... ۵۰

۲-۳-۴ شمارش میکرونوکلئی ..... ۵۱

عنوان | صفحه


۲-۴ آزمون آپوپتوزیس ..... ۵۶

۲-۴-۱ روش جدا سازی لنفوسیتها با استفاده از فایکول..... ۵۶

۲-۴-۲ روش کشت ..... ۵۷

۲-۴-۳ رنگ‌آمیزی ..... ۵۷

۲-۵ روشهای آماری و آنالیز نتایج ..... ۵۸


## فصـــل سوم: نتایج


۳-۱ آزمون میکرونوکلئی ..... ۶۲

۳-۱-۱ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G0 با زمان..... ۶۲

نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۲

۳-۱-۲ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G0 با زمان..... ۶۳

نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۳

۳-۱-۳ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G1 با زمان..... ۶۴

نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۴

۳-۱-۴ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G1 با زمان..... ۶۵

نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۵

۳-۱-۵ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G2 با زمان..... ۶۶

نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۶

عنوان | صفحه


۳-۱-۶ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر روی لنفوسیتهای G2 با زمان..... ۶۷

نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۷

۳-۱-۷ مقایسهٔ فراوانی میکرونوکلئی بین مرحلهٔ G0 و G2 ..... ۷۱

۳-۱-۸ مقایسهٔ فراوانی میکرونوکلئی بین مرحلهٔ G1 و G2 ..... ۷۲

۳-۱-۹ مطالعهٔ همبستگی بین زمان تیمار و وقوع پدیده میکرونوکلئی ..... ۷۳

۳-۲ بررسی رخداد آپوپتوزیس ناشی از تیمار با بلئومایسین سولفات..... ۷۴

۳-۲-۱ بررسی اثر بلئومایسین سولفات بر لنفوسیتهای G0 با زمان..... ۷۴

نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۷۴

۳-۲-۲ بررسی از بلئومایسین بر لنفوسیتهای G0 بازمان نمونه‌گیری ۹۶..... ۷۵

ساعت ..... ۷۵

۳-۲-۳ بررسی از بلئومایسین بر لنفوسیتهای G1 بازمان نمونه‌گیری ۶۴

ساعت ..... ۷۶

۳-۲-۴ بررسی از بلئومایسین بر لنفوسیتهای G1 بازمان نمونه‌گیری ۹۶

ساعت ..... ۷۷

۳-۲-۵ بررسی از بلئومایسین بر لنفوسیتهای G2 بازمان نمونه‌گیری ۶۴

ساعت ..... ۷۹

۳-۲-۶ بررسی از بلئومایسین بر لنفوسیتهای G2 بازمان نمونه‌گیری ۹۶

ساعت ..... ۸۰

عنوان | صفحه


۳-۲-۷ مقایسهٔ فراوانی آپوتپوزیس بین مرحلهٔ G0 و G2 ..... ۸۴

۳-۲-۸ مقایسهٔ فراوانی آپوتپوزیس بین مرحلهٔ G1 و G2 ..... ۸۵

۳-۲-۹ مطالعهٔ همبستگی بین زمان تیمار و وقوع پدیده آپوپتوزیس ..... ۸۶

۳-۳ مقایسهٔ بین وقوع پدیده آپوپتوزیس و میکرونوکلئی ..... ۸۷

۳-۳-۱ مقایسه گروههای کنترل ..... ۸۷

۳-۳-۲ مقایسهٔ بین دوزهای ۵۰ در مراحل مختلف چرخه سلولی ..... ۸۷

۳-۳-۳ مقایسهٔ بین دوزهای ۱۰۰ در مراحل مختلف چرخه سلولی ..... ۸۸

۳-۳-۴ مقایسه بین دوزهای ۲۰۰ در مراحل مختلف چرخه سلولی ..... ۸۸

۳-۳-۵ مقایسه بین دوزهای ۳۰۰ در مراحل مختلف چرخه سلولی ..... ۸۹


## فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری، پیشنهادات


۴-۱ مطالعه میکرونوکلئی ..... ۹۴

۴-۲ مطالعهٔ آپوپتوز ..... ۹۷

۴-۳- مقایسه بین آپوپتوز و میکرونوکلئی ..... ۹۹

۴-۴ نتیجه‌گیری کلی ..... ۱۰۰

۴-۵ پیشنهادات ..... ۱۰۱

فهرست منابع ..... ۱۰۲

چکیده انگلیسی

# فهرست جداول

جدول ۳-۱ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_0$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۳

جدول ۳-۲ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_0$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۴

جدول ۳-۳ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_1$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۵

جدول ۳-۴ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_1$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۶

جدول ۳-۵ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۷

جدول ۳-۶ فراوانی میکرونوکلئی در ۱۰۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۶۸

جدول ۳-۷ همبستگی بین زمان نمونه‌گیری و وقوع پدیده میکرونوکلئی در دوزهای ۱۰۰$\mu g/ml$،۲۰۰$\mu g/ml$،۳۰۰ بلئومایسین سولفات ..... ۷۳

جدول ۳-۸ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_0$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۷۴

جدول ۳-۹ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_0$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۷۶

جدول ۳-۱۰ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_1$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۷۷

جدول ۳-۱۱ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_1$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت..... ۷۸

جدول ۳-۱۲ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۷۹

جدول ۳-۱۳ فراوانی سلول آپوپتوزیس و سالم در ۲۰۰ سلول شمارش شده در مرحله $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۸۰

جدول ۳-۱۴ همبستگی بین زمان نمونه‌گیری و وقوع پدیده آپوپتوزیس در دوزهای ۱۰۰$\mu$g/ml،۲۰۰$\mu$g/ml،۳۰۰$\mu$g/ml بلئومایسین سولفات ..... ۸۶

# فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱ فراوانی میکرونوکلئی در سلولهای تیمار شده با ۱۰۰μg/ml، و ۲۰۰μg/ml بلئومایسین سولفات در فازهای $G_0$, $G_1$, $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۶۹

نمودار ۳-۲ فراوانی میکرونوکلئی در سلولهای تیمار شده با ۱۰۰μg/ml، و ۲۰۰μg/ml بلئومایسین سولفات در فازهای $G_2$,$G_0$,$G_1$ بازمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۷۰

نمودار ۳-۳ فراوانی سلولهای آپوپتوتیک در نمونه‌های تیمار شده با ۱۰۰μg/ml، و ۲۰۰μg/ml بلئومایسین سولفات در فازهای $G_0$, $G_1$, $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۶۴ ساعت ..... ۸۲

نمودار ۳-۴ فراوانی سلولهای آپوپتوتیک در نمونه‌های تیمار شده با ۱۰۰μg/ml، و ۲۰۰μg/ml بلئومایسین سولفات در فازهای $G_0$, $G_1$, $G_2$ با زمان نمونه‌گیری ۹۶ ساعت ..... ۸۳

# فهرست شکلها

شکل ۱-۱ رابطه بین آسیب وارده و مرحله‌ای از چرخهٔ سلولی، که آسیب وارد شده است ..... ۱۶

شکل ۱-۲ فرمول گسترده شیمیایی بلئومایسین سولفات ..... ۲۷

شکل ۱-۳ مراحل سیکل سلولی ..... ۳۷

شکل ۲-۱ سلول لنفوسیت دو هسته‌ای نرمال ..... ۵۲

شکل ۲-۲ میکرونوکلئی در حال جدا شدن از هسته ..... ۵۲

شکل ۲-۳ سلولهای لنفوسیت دو هسته‌ای دارای میکرونوکلئی ..... ۵۳

شکل ۲-۴ سلولهای لنفوسیت تک هسته‌ای دارای میکرونوکلئی ..... ۵۴

شکل ۲-۵ سلول لنفوسیت دو هسته‌ای دارای دو میکرونوکلئی ..... ۵۵

شکل ۲-۶ میکرونوکلئی جدا شده از سیتوپلاسم اصلی و سلول لنفوسیت نرمال تک هسته‌ای ..... ۵۵

شکل ۲-۷ سلول لنفوسیت نرمال (a) در مقایسه با سلول لنفوسیت آپوپتوتیک (b) ..... ۵۹

شکل ۲-۸ سلول لنفوسیت نرمال دو هسته‌ای (a) سلول لنفوسیت نرمال تک هسته‌ای (b) ..... ۵۹

شکل ۲-۹ سلول لنفوسیت آپوپتوتیک (a) ..... ۶۰

شکل ۲-۱۰ سلول لنفوسیت نرمال زنده (a) سلول لنفوسیت نرمال مرده (b) سلول لنفوسیت آپوپتوتیک (c) ..... ۶۰