فصل اول

مقدمه

بیماری سرطان ۴۰۰ سال پیش از میلاد مسیح شناخته شد و آن، هنگامی بود که بقراط، پزشک یونانی نام کارسینوما را به آن داد. در زبان یونانی کارسینوما نام خرچنگ پهن است، در زبان لاتین، نام خرچنگ پهن، کانسر [1] است (غفرانی، ۲۰۰۸) سرطان رشد غیر عادی سلول هاست که بدلیل تغییرات زیاد در بیان ژن است و منجر به عدم توازن تکثیر سلولی و در نهایت ایجاد سلول هایی است که می توانند به بافت های اطراف تهاجم پیدا کنند و به جایگاه های دیگر متاستاز دهند. این اتفاقات باعث بروز عوارض و بیماری هایی در فرد می شود که اگر درمان نشود موجب مرگ فرد بیمارخواهد شد. سرطان گروهی از بیماری های ارگانیسم های چند سلولی است و با تغییرات در بیان چندین ژن که منجر به نامنظم شدن برنامه سلولی برای تقسیم و تمایز می شود، تشخیص داده می شود (رادن، ۲۰۰۷). برای این که سلول های سرطانی قدرت تهاجم و متاستاز[2] را پیدا کنند، باید به سد ماتریکس خارج سلولی (ECM)[1] نفوذ کنند. در این فرآیند فاکتور های زیادی نقش دارند، مطالعات زیادی نشان داده که بین متاستاز و بیان ماتریکس متالوپروتئینازها (MMPs) رابطه ی معنی داری وجود دارد. MMP ها یک خانواده از اندوپپتیدازهای وابسته به روی هستند که ECM را هضم می کنند. دو نوع از MMP ها که در

[1] cancer
[2] Metastasis
[3] Extra cellular matrix

تهاجم سلول های توموری نقش پررنگی دارند، MMP-2 (ژلاتیناز A) و MMP-9 (ژلاتینازB) هستند. افزایش بیان این دو MMP در تیپ های زیادی از سرطان ها، شامل سرطان سینه، پروستات، مثانه و تخمدان گزارش شده است (گریجون و همکاران، ۱۹۹۶) .

بر طبق آمار انجمن سرطان امریکا، سرطان مثانه، چهارمین سرطان رایج ونهمین عامل مرگ و میر از بین سرطان ها است. سرطان مثانه از رایجترین تومور های بدخیم در سیستم ادراری است (زو، ۲۰۱۲) و دومین تومور دستگاه مجاری ادراری و تناسلی بعد از سرطان پروستات است که دهمین جایگاه از عوامل مرگ و میر در میان بیماری های متاستاتیک را به خود اختصاص داده است (ون هورسن و همکاران، ۲۰۱۱). سرطان پروستات دومین دلیل مرگ و میر مردان در مرگ های وابسته به سرطان است (کِلر و همکاران،۲۰۰۱). بیشترین فراوانی سرطان پروستات در آفریقا و کمترین میزان آن در آسیا دیده می شود (نوری دلویی و ابراهیم زاده وصال ،۲۰۰۸). مرگ ناشی از سرطان پروستات به دلیل متاستاز آن به استخوان است (کلر و همکاران ،۲۰۱۲).

از زمان باستان تا کنون، از محصولات طبیعی جهت پیشگیری و یا درمان بسیاری از بیماری ها مورد استفاده قرار گرفته اند. مثال های زیادی مؤید تاریخچه غنی از داروهای با منبع گیاهی است. استفاده از گیاهان در درمان سرطان تاریخچه طولانی دارد (محمدی و همکاران، ۲۰۱۰). از منابع مهم طبیعی که مورد توجه محققان بوده است می توان به محصولات کندوی زنبور عسل اشاره کرد. استفاده بشر از محصولات کندو به ویژه عسل به سال ها قبل از میلاد مسیح برمی گردد. تولیدات زنبور عسل شامل: عسل، زهر زنبور عسل، بره موم (پروپولیس) و ژل رویال است. عسل به عنوان یک داروی سنتی استفاده می شده و حداقل شامل ۱۸۱ ترکیب است. اساس آن محلولی قندی است و بیشتر ترکیب آن شامل قند های فروکتوز و گلوکز است. عملکرد های زیادی برای آن ذکر شده است، از جمله: آنتی میکروبیال

قوی، آنتی اکسیدانت، آنتی تومور، ضد التهاب و ضد ویروس (ویودا و همکاران،۲۰۰۸). زهرزنبور عسل، زهری شفاف است که در کیسه های زهری زنبور کارگر ذخیره می شود و برای دفاع شخصی از آن استفاده می شود. این ماده از قدیم برای درمان روماتیسم کاربرد داشته است. از زهر زنبور عسل به دلیل داشتن پپتیدهای متنوع از جمله ملیتین[1]، در درمان سرطان استفاده می شود (نبیوونی و همکاران، ۲۰۰۹).

بره موم یک محصول طبیعی مشتق از رزین گیاهیِ تجمع یافته توسط زنبور عسل است. این ماده توسط زنبورها ساخته می شود و در دیواره داخلی کندو ها به کار می رود و عمل محافظت از زنبورها را به عهده دارد. خاصیت های آنتی اکسیدان، آنتی ویروس، آنتی باکتریال و ضد التهاب برای آن بر شمرده اند (دیبا و همکاران، ۲۰۱۱). ژل رویال ماده ای شیری رنگ است که از غدد حلقی زنبور های کارگر برای تغذیه لاروهای ملکه زنبور عسل ترشح می شود. از لحاظ شیمیایی، ژل رویال ترکیبی از آب،پروتئین، کربوهیدرات، لیپید، نمک های معدنی و ویتامین ها است (ویودا و همکاران،۲۰۰۸). مواد ارگانیک ژل رویال شامل مواد فنلی، استرول و فسفولیپید، قندها از جمله، فروکتوز وگلوکز، پروتئین ها شامل اسیدامینه های تریپتوفان، هیستیدین، آرژنین و تیروزین است (تانزند و لوکاس، ۱۹۴۰). در ژل رویال هم اثرات دارویی متنوعی گزارش شده است. این ماده، باعث افزایش رشد ومصرف اکسیژن می شود. همچنین اثر ضد خستگی ، ضد ویروس ، ضد التهاب و ضد توموری از خود نشان می دهد (بوقدانو، ۲۰۱۱). همچنین این ماده دارای ماده اسیدچرب 10H2DA است که خاصیت آنتی توموری آن ثابت شده است (تانزند و همکاران ،۱۹۶۰).

[1] Melittin

با توجه به اهمیت سرطان مثانه و پروستات و همچنین خصوصیات زیستی که در مورد ژل رویال مطرح شد، در این تحقیق اثر این ماده بر سلول های دودمانی سرطانی HTB-9 5637 مثانه و PC-3 پروستات بررسی شده است.

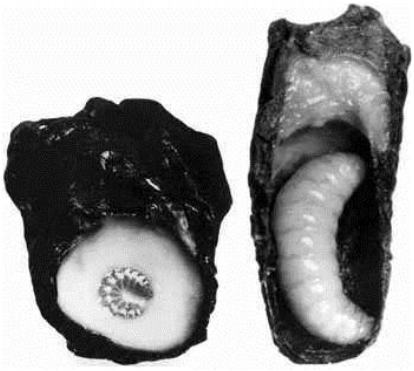
فصل دوم

بررسی منابع

۲- ۱ ژل رویال

زنبور داری در ایران سابقه دیرینه داشته و یکی از حرفه های اصیل و قدیمی ایران بوده است و حداقل سابقه ٤٠٠ ساله دارد. تقریباً در تولید بیشتر میوه ها و بذر ها وجود زنبور عسل برای گرده افشانی لازم است (طهماسبی، ١٩٩٦). زنبوران عسل حشراتی با زندگی اجتماعی هستند، که در جمعیت هایی به نام کلنی و در محلی به نام کندو متمرکز می شوند. مشخصه ی هر کلنی وجود یک ملکه یا شاهنگ، تعداد کمی زنبور درشت نر و ده ها هزار زنبور کارگر است. معمولاً جفت گیری در فصل بهار صورت می گیرد، ملکه کندو طی انجام پرواز با زنبوران نر در خارج از کندو جفت گیری کرده و تخم های لقاح یافته ی فراوانی در حجره های خالی موم ها قرار می دهد. زنبوران دایه، وظیفه تغذیه این تخم ها را به عهده دارند. این دایه ها دو نوع ژل غذایی تولید کرده و به لارو در حال تشکیل، غذارسانی می کنند. این کارگران به طور طبیعی ژل غذایی ساده تولید می کنند. در صورتی که لارو تغدیه کننده، از یک تخم لقاح یافته باشد، پس از ۲۱ روز به یک زنبور کارگر تبدیل می شود، ولی اگر چنین تخمی با یک ژل

مخصوص به نام شاه انگبین یا ژل رویال تغذیه شود پس از ۱۶ روز به یک زنبور ملکه تبدیل می شود. تشخیص اینکه چه تعدادی از لاروها باید با ژل رویال تغذیه و به ملکه تبدیل شوند با زنبوران کارگر است. پس وجه تمایز لارو یک زنبور کارگر و یک زنبور ملکه فقط در نوع تغذیه آنها می باشد و خصوصیات ژنتیکی آنها تفاوتی ندارد (رحیمی، ۱۹۹۴).



شکل۲-۱. لارو ملکه، شناور در ژل رویال. چپ: سلول ۳ روزه آماده برداشت است.
راست: لارو ۵ روزه قبل از شفیره شدن. بیشتر ژل رویال مصرف شده است (اقتباس از بوکارا و سلیمان، ۲۰۰۹).

۲-۱-۱ محتوای ژل رویال

ژل رویال ماده ترشحی از غدد حلقی و آرواره های پایین زنبورهای کارگر است. از سال ۱۹۸۵ روش هایی برای تشخیص محتوای ژل رویال به کار گرفته شد. با به کار بردن تکنیک HPLC،گاز کروماتوگرافی یا آنالیز SDS PAGE مشخص شد که بیشترین محتوای آن آب، قند، لیپید و پروتئین است. ژل رویال تازه، ماده کلوئیدی شیری رنگ باpH معادل ۳/۶ تا ۲/ ۴ و بیشتر ترکیب آن (۵۰تا۶۰٪) از آب است. بقیه ترکیبات ژل رویال پروتئین ۱۸٪، کربوهیدرات ۱۵٪، لیپید ۳ تا ۶ ٪، نمک های معدنی و ویتامین ها ۱/۵ ٪ به همراه مقدار زیادی از مواد زیستی فعال مثل اسید چرب ده هیدروکسی دو دکونئیک اسید[1] می باشد. ژل رویال همچنین شامل ترکیبات فنولی است و خاصیت آنتی اکسیدانی زیادی

[1] 10-hydroxy 2-decenoic acid

دارد. بخشی از پروتئین های ژل رویال، ژلین ها[1] هستند که از پپتیدهای خانواده آنتی میکروبیال می باشند و علیه مخمر و باکتری های گرم (+) و گرم (-) عمل می کنند. اهمیت اجزای پروتیئنی ژل رویال به آن دسته از پروتئین هایی بر می گردد که به خانواده Major Royal jelly Protein (MRJPs) معروفند. در این خانواده ۵ گونه از پروتئین ها (MRJP1-5) با وزن مولکولی ۴۹ تا ۸۷ کیلو دالتون با کلونینگ cDNA شناخته شده اند. از لیپیدهای ژل رویال مهم 10H2DA[2] است که اسید چرب اختصاصی آن می باشد و مقدار آن به عنوان مارکر ژل رویال به کار می رود. کربوهیدرات ژل رویال همانند عسل، شامل فروکتوز و گلوکز است (کیو، ۲۰۰۸).

۲- ۱- ۲ تاریخچه ژل رویال و اثرات درمانی آن

ژل رویال از دیرباز مورد توجه بوده و مشخص شده است که خواص دارویی دارد. مثل القای کاهش کلسترول سرم، خاصیت ضد حساسیت، ضد التهاب، آنتی اکسیدان، تنظیم کننده ایمنی بدن و غیره بوکارا و سلیمان، ۲۰۰۹). در زیر به اختصار به بعضی از خاصیت های درمانی ژل رویال اشاره می شود:

تانزند و همکاران (۱۹۶۰) اثر آنتی توموری ژل رویال را در سه لاین سرطانی جامد (Ehrilich carcinoma,TA3mammary carcinoma, 6C3HED lymphosarcom) و لوسمی (AKR) قابل انتقال، در موش رده (AKR) و (C3H) بررسی کردند. برای تعیین اثر کمترین غلظت، مقدارهای مختلف ژل رویال با سلول های توموری مخلوط و به موش ها تلقیح شد. داده ها نشان داد، غلظت ۳۰ mg/ml یا بیشتر، از سوسپانسیون سلولی محتوی ژل رویال، از لوسمی قابل انتقال به طور کامل جلوگیری کرد. غلظت بیش از ۴۰ mg/ml از این سوپانسیون سلولی، به طور کامل از گسترش تومور جلوگیری کرد و نصف این غلظت به طور پراکنده جلوگیری کرد. مطالعه های مشابه در تومورهای Ehrilich و TA3 همین نتایج را تائید کرد. ژل رویال خاصیت آنتی اکسیدانی دارد. تحقیقات بسیار،

[1] Jelline
[2] 10-hydroxy 2-decenoic acid

نشان داده که ژل رویال تنظیم کننده ایمنی است. بر این اساس ژل رویال تولید آنتی بادی را تحریک کرده و به تکثیر سلول های ایمنی کمک می کند. همینطور این ماده از واکنش های آلرژیک جلوگیری می کند (گاسیک و همکاران،۲۰۰۷). بینکولتو و همکاران (۲۰۰۵)، نقش ژل رویال در پاسخ به خون سازی سلول های توموری Ehrilich صفاقی، در موش باردار را بررسی کردند و مشخص شد، ژل رویال از خونسازی القا شده توسط فاکتور رشد رگ های اندوتلیال (VEGF) در تومور متورم Ehrilich کبد موش جلوگیری می کرد. پاسخ آنتی توموری موثر در این تحقیق با تیمار طولانی ژل رویال مشخص شد. ناکایا و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند، سوپرناتانت ژل رویال حل شده در PBS به آرامی از تکثیر سلول های MCF-7 جلوگیری کرد. آزمایشات بر روی آنژیوژنز القا شده توسط VEGF در سلول های اندوتلیال رگ نافی مشخص کرد که از بین محصولات زنبور عسل، بره موم قرمز چینی و ژل رویال هر دو از تکثیر شدن و مهاجرت رگ های اندوتلیال جلوگیری می کند. در حالیکه گرده، فقط از تکثیر جلوگیری کرد (ایزوتا و همکاران، ۲۰۰۹).اثر ژل رویال، روی N- استیلاسیون و متابولیسم ۲- آمینوفلورن در سلول های J5 بررسی شد. آریل آمین کارسینوژن[1] باعث القای بعضی از تومورها می شود. N– استیلاسیون یکی از مسیرهای متابولیک برای آریل آمین کارسینوژن است که به نظر می رسد مرحله مهمی برای متابولیسم آریل آمین است. پلی مورفیسم N– استیلاسیون درکبد، نقش مهمی در سرطان مثانه، سینه و روده بازی می کند. نتایج تحقیقات نشان داد که ژل رویال از N– استیلاسیون ۲- آمینوفلورن در سلول های J5 جلوگیری می کند. همچنین میزان متابولیسم ۲- آمینوفلورن در سلول های J5 کاهش یافت (چانس و همکاران ، ۲۰۰۵).

[1] carcinogen

۲-۲ چگونگی تبدیل یک سلول نرمال به یک سلول توموری

سلول های توموری، ظاهری ویژه در مقایسه با سلول های عادی دارند. فنوتیپ سلول های سرطانی با افزایش نرخ تقسیم یا عدم کنترل رشد نرمال، عدم توانایی برای تمایز و افزایش ظرفیت برای تهاجم به بافت های اطراف (متاستاز) تشخیص داده می شود.سلول های با رشد زیاد، به تدریج طی پردازش های چند مرحله ای به تومورهای مهاجم تبدیل می شود. این گسترش، با فرآیند انتخاب در یک مرحله که سلول مکانیزم تنظیم رشد را از دست داده، انجام می گیرد. تبدیل سلول های نرمال به سلول های توموری، از طریق خصوصیت های مورفولوژی و فیزیولوژی قابل تشخیص است. سلول های توموری با داشتن تغییرات زیاد ژنتیکی از سلول های اجدادی قابل تشخیص هستند (کراس، ۲۰۰۳).

۲-۲-۱ انواع تغییرات در سلول های توموری

تغییراتی که در سلول های توموری رخ می دهد، دو دسته هستند :

۲-۲-۱-۱ تغییرات ژنتیکی

یک پدیده معمولی در تشکیل تومور، تغییر در اطلاعات ژنتیکی است، که این تغییرات از سلول های مادری به دختری در طول تقسیم سلولی به ارث می رسد. تحقیقات انجام شده بیانگر اینست که این تغییرات در نتیجه موتاسیون یا دخالت بعضی از ویروس هاست. تغییرات ژنتیکی به طور کلی شامل موتاسیون های کوچک، حذف یا دو برابر شدن تمام کروموزوم، جابجایی یا حذف واضافه شدن بخشی از کروموزوم و تکثیر توالی و تکثیر در ساختار کروموزوم (اغلب در تومورهای خونی و در فاز نهایی تومورهای جامد تهاجمی دیده می شود.) می باشد (کراس،۲۰۰۳).

۲-۲-۱-۲ تغییرات اپی ژنتیکی

علاوه بر تغییرات مستقیم در محتوای اطلاعات DNA ، وقایع اپی ژنتیکی در طول تشکیل تومور رخ می دهد. اپی ژنتیک به تغییرات به ارث رسیدنی از ژنوم، که با تغییر در توالی های DNA همراه است، گفته می شود. بیشتر پدیده های اپی ژنتیک با متیلاسیون DNA در ارتباط است. الگوی متیلاسیون DNA، وسیله ای برای کنترل بیان ژن در طول تغییر ساختار کروموزوم است (کراس،۲۰۰۳).

تعداد زیادی از پیشبرهای پستانداران، شامل توالی های غنی از CpG است که در سلول های نرمال، غیر متیله می باشد. متیلاسیون[1] بالای این توالی ها، اکنون به عنوان مهمترین رخداد اپی ژنتیکی در سلول های توموری شناخته شده است. در خیلی از تومورها، وقتی که هیچ تغییری در توالی ژن های سلول های توموری نتوان پیدا کرد، حذف عملکرد ژن های جلوگیری کننده تومور، تنها با متیلاسیون پیشبر می تواند توضیح داده شود (کراس،۲۰۰۳).

۲-۲-۲ سرنوشت یک سلول

یک سلول می تواند بر اساس شدت و توازن پیغام های میتوژن زا و ضد میتوژن وارد مراحل مختلف سکون، تقسیم و مرگ شود.

در سلول های بنیادی تقسیم سلولی مداوم رخ می دهد، این عملکرد به اثر مداوم سیگنال های تقسیم نیاز دارد. در حالت غیاب پیغام های خارجی میتوژن یا در حضور تعداد زیادی از پیغام های ضد میتوژن، تقسیم سلولی متوقف و سلول وارد فاز سکون می شود. وقتی سیگنال های تقسیم زایی دوباره ظاهر شود، ممکن است تقسیم سلولی از فاز G_0 مشاهده گردد.در طول تکامل یک ارگانیسم، خیلی از سلول ها وارد حالت نهایی تمایز می شوند که عملکرد خاصی را اجرا می کنند. سلول های تمایز یافته از سلول های بنیادی منشأ می گیرند که در این فرایند تمام یا بخشی از توانایی برای تقسیم را

[1] Hypermethilation

از دست می دهند (کراس، ۲۰۰۳). یک خصوصیت که بطور رایج برای سلول های توموری توضیح داده می شود، تکثیر تقویت شده سلول است. همه ی سلول ها خودشان را همانند سازی می کنند. یک سلول قبل از مرگ ۵۰ تا ۶۰ همانند سازی انجام می دهد. برای یک سلول توموری این اتفاق در الگوی نامنظمی رخ می دهد (گابریل، ۲۰۰۷). سلول های توموری اغلب از سلول های تمایز یافته و یا بالغ که توانایی تقسیم را از دست داده اند، منشأ می گیرند. تکثیر سلول های توموری نسبت به سلول های نرمال، با افزایش سیگنال های تقسیم زایی، دارای برتری است. تنظیم کننده های چرخه سلولی (سیکلین ها و CDK ها) کنترل فعالیت تقسیم را به عهده دارند. خیلی از ژن های شناسایی شده، از زمانی که جهش یافته اند موجب نقص در کنترل رشد می شوند که با تشکیل تومور مربوط است (کراس،۲۰۰۳).

۲- ۲ – ۳ مرگ سلولی [1]

در یک مسیر دیگر از چرخه سلولی، سلول می تواند وارد مسیر مرگ برنامه ریزی شده ی سلولی شود. در سلول های توموری، فاکتورهایی که در تنظیم آپوپتوز درگیرند دچار اختلال می شوند. آپوپتوز یا مرگ برنامه ریزی شده ، یک مرگ سلولی هدف دار در حضور DNA تخریب شده است. آپوپتوز یک حفاظت علیه سلول های سرطانی است، اگر یک سلول، تحت تخریب DNA باشد، آپوپتوز می تواند با اجرای مرگ سلولی از انباشتگی بیشتر موتاسیون که منجر به تشکیل تومور می شود، جلوگیری کند. بسیاری از پروتئین های مهارکننده تومور، در القای آپوپتوز دخیل اند. شکست این عملکرد باعث روند تشکیل تومور می شود. تعداد زیادی از ژن ها شناسایی شده اند که زمانیکه جهش یافته یا عملکرد غیرنرمال دارند منجر به نقص در کنترل رشد می شوند که با تشکیل تومور مطابقت دارد. ژن های جهش یافته به دو دسته مهار کننده تومور و انکوژن ها تقسیم می شوند. انکوژن ها، برخاسته از موتاسیون های

[1] Apoptosi

فعال اند در پروتوانکوژن ها هستند. پروتوانکوژن ها اغلب، مستقیماً در تنظیم رشد سلول های نرمال درگیرند. موتاسیون در این ژن ها، محصول هدف را در تنظیم رشد، گسترش یا افزایش می دهد. در چرخه سلولی طیفی از عناصر تنظیمی منفی هستند که به کاهش یا خاتمه سیگنال های تقسیم کمک می کنند. غیرفعال شدن عملکرد سیگنال های مهار کننده تقسیم، در خیلی از موارد محرک تقسیم سلولی است (کراس، ۲۰۰۳).

۲- ۳- ۱ تبدیل تومور به سرطان

تومورها دو نوع هستند : بدخیم و خوش خیم. توانایی تشخیص بین تومور خوش خیم و بدخیم، برای تعیین روش های درمانی بسیار مهم است. اغلب تیپ های توموری، از اپیتلیوم مشتق شده اند که سطح داخلی و خارجی بدن را می پوشاند. این سلول ها، استرومای مجهزی از رگ های خونی و بافت های متصل به آن دارند. تومورهای خوش خیم پس از رشد و گسترش، در محفظه ای احاطه شده و به بافت های اطراف تهاجم نمی کنند و متاستاز نمی دهند. سلول های توموری خوش خیم معمولاً شبیه سلول های نرمال هستند. اما تومورهای بدخیم تهاجم می کنند و بافت نرمال مجاور را تخریب می کنند، در طول کانال های لنفی، رگ های خونی و بقیه بافت ها حرکت کرده و متاستاز می دهند و با پیشرفت تومور، شباهت سلول های توموری با سلول های بافت منشأ، کمتر می شود.همچنین سرعت رشد در سلول های توموری بدخیم نسبت به سلول های توموری خوش خیم بیشتر است (رادن، ۲۰۰۷). پس این تومور های بدخیم هستند که سرطان را پیش می برند. در طول گسترش متاستاتیک سلول های توموری، سیستم لنفاوی درگیر و سلول های توموری در طول رگ ها به سمت محل گسترش غدد لنفاوی حرکت می کنند. سپس با گسترش در غده های محلی و همانند سازی مجدد، غدد لنفی با تومور بدخیم جایگزین می شود که به آن سرطان گویند. بدین ترتیب بدخیمی در سراسر بدن بیمار گسترش می یابد (گابریل، ۲۰۰۷).درجه بندی بافت شناسی تومور، براساس درجه بندی تمایز سرطان و تخمین

نرخ رشد می باشد. کاملاً واضح است، هرچه تومور کمتر تمایز یابد، متهاجم تر و حالت متاستاتیک بیشتری نسبت به تومورهایی که تمایز یافته اند دارد. در زیر مراحل تومور به ترتیب پیشرفت بیماری آورده شده است :

مرحله ۱ : تومور اولیه محدود به اندامی است که از آن منشأ گرفته و قابلیت برداشت آن با عمل جراحی وجود دارد.

مرحله ۲ : با گسترش تومور اولیه به بافت های اطراف، غدد لنفاوی در ناحیه اطراف تومور، توسعه می یابد.

مرحله ۳ : تومور بزرگ شده و ساختار عمیق تری دارد، قطر آن حدود ۳ سانتیمتر می باشد و معمولاً در این حالت، رشد تومور قابل توقف نیست.

مرحله ۴ : تومور اولیه، وسیع شده و ممکن است قطری در حدود ۱۰ سانتیمتر داشته و به بافت های اطراف و زیرین تهاجم کرده باشد. این حالت با دخالت غدد لنفاوی گسترش یافته پیش می رود (رادن، ۲۰۰۷).

۲-۳- ۲طبقه بندی سرطان های انسانی

تومورهای بدخیم با منشأ اپیتلیال، کارسینوما و با منشأ مزانشیمال، سارکوما نام دارند. بیشتر تومورهای بدخیم انسان از بافت اپیتلیال است. تومورهایی که منشأ آنها بافت های اپیتلیال غده مانند است آدنوکارسنوما نام دارند. تومور در سیستم خون سازی معمولاً فرم خوش خیم ندارد و لوکمی یا لنفوما نامیده می شود (رادن، ۲۰۰۷).

۲-۳ – ۳ گسترش متاستاتیک و آنژیوژنز

متاستاز مسئول تعداد زیادی از سرطان های منجر به مرگ است. عدم توانایی در کنترل رشد و گسترش تومور، درمان یک عضو مبتلا به تومور را بغرنج می نماید. متاستاز یک فرآیند پیچیده چندین

مرحله ای است، شامل : جدا شدن سلول های سرطانی از تومور اولیه و تخریب غشای پایه و سپس تهاجم به استرومای سلول های سرطانی. سلول های توموری با ورود به سیستم رگ های خونی و لنفی باعث انتقال به بخش های اطراف، مثل کبد، شش و مغز می شوند (رومی و همکاران، ۲۰۰۹). یک تومور در حال رشد، رگ های اطرافش را با ترشح فاکتورهای رگ زایی فعال می کند. تغییر فنوتیپ تومور، از حالت سکون به حالت رگ زا را تعویض آنژیوژنیک [1] می گویند (ون هورسن و همکاران، ۲۰۰۶). در سال ۱۹۷۱، فلکمن برای نخستین بار فرضیه وابسته بودن رشد تومورها به رگ زایی را مطرح کرد. تحقیقات بعدی نشان داد که رشد و متاستاز تومورها به ایجاد رگ های جدید و رفع نیازهای تغذیه ای تومور بستگی دارد. تا قبل از دهه ۱۹۶۰ دانشمندان بر این اعتقاد بودند که سلول های توموری موادی را ترشح می کنند که باعث گشاد شدن رگ های خونی شده و به این ترتیب مواد غذایی برای رشد تومور فراهم می شود. اما امروزه اعتقاد بر این است که سلول های توموری موادی ترشح می کنند که باعث جوانه زدن رگ های قبلی و رگ زایی می شود. بنابراین، ادامه رشد نئوپلاسم اولیه بستگی به خون رسانی کافی به آن منطقه دارد. فرآیند تشکیل عروق جدید (رگ زایی)، به تومورها این اجازه را می دهد که بیشتر از ۱ تا ۲ میلیمتر مکعب توسعه یابند. به استثنای تومورهای خوش خیم که رگ زایی کمی دارند و سرعت رشد آن ها کند است، تومورهای بدخیم دارای عروق زیاد بوده و رشدشان سریع است. افزایش سیستم عروقی، احتمالاً تهاجم سلول های توموری را از طریق وارد شدن به جریان خون و انتشار به اندام های دیگر افزایش می دهد. همچنین، مطالعات نشان داده که تشکیل سیستم عروقی در تومور بدخیم با قدرت متاستاز تومور رابطه مستقیم دارد (منصوری و سیفی، ۲۰۱۲).

فاکتورهای رگ زایی به وسیله سلول های توموری در محیط رها می گردند و انواع مختلف سلول های طبیعی را تحریک می کنند. این تحریک بخصوص شامل سلول های اندوتلیال مجاور تومور

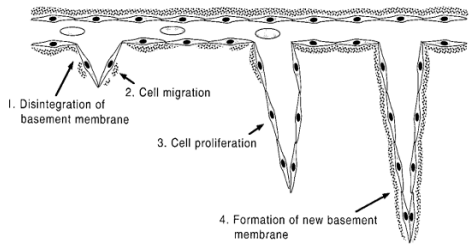
[1] angiogenic switch

نیز می گردد. این سلول ها، غشاء پایه خود را تجزیه کرده و با جدا شدن از سلول های مجاور و ورود به ماتریکس خارج سلولی، به سمت توده تومورها مهاجرت می کنند. اما تقسیم سلولی نیز در جوانه ها اتفاق افتاده و با افزایش مهاجرت سلول های اندوتلیال رشته ای از این سلول ها تشکیل شده و غشاء پایه بین و داخل سلولی را تکامل می بخشد و ساختمان لوله ای تشکیل می دهند. سپس این لوله ها به هم ارتباط پیدا کرده و ساختمان رگ های جدید را تشکیل می دهند که در آخر به سیستم گردش خون متصل می گردد. بدین ترتیب شبکه مویرگی در توده توموری ایجاد شده و می تواند به گسترش خود ادامه دهد. تغییرات انکوژنیک و هیپوکسی در سلول های توموری، ممکن است از طریق فاکتورهای آنژیوژنیک در القاء و گسترش رگ زایی نقش داشته باشند (منصوری و سیفی، ۲۰۱۲).

آنژیوژنز[1] یا رگ زایی به فرآیند بیولوژیکی جوانه زدن رگ های جدید از رگ های موجود در بافت اطلاق می شود. این واژه نخستین بار توسط هرتیگ در سال ۱۹۳۵ جهت توصیف تشکیل عروق در جفت به کار رفت. پدیده آنژیوژنز برای اندام زایی و تکثیر و تمایز سلولی در طول دوره جنینی ضروری است. در انسان ها و حیوانات بالغ نیز، این پدیده مشاهده شده است که می توان آن را به دو شکل فیزیولوژیکی و پاتوفیزیولوژیکی طبقه بندی کرد. آنژیوژنز فیزیولوژیکی که فرآیندی به شدت تنظیم شده است در مواردی مثل ترمیم زخم، لانه گزینی جنین و تخمک گذاری اتفاق می افتد، درحالیکه آنژیوژنز پاتوفیزیولوژیکی اشاره به تکثیر غیر قابل کنترل اندوتلیوم مویرگی دارد (صالحی و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه براین در بعضی بیماری ها، از قبیل التهاب، کمبود اکسیژن بافتی، بیماری های قلبی، اندومتریوز، آرتریت روماتوئید، پسوریازیس، هپاتیت، آسم، مشکلات شبکیه چشم، دیابت و در بیشتر تومورهای جامد دخیل است (مالوری، ۲۰۰۴).

[1] Angiogenesis

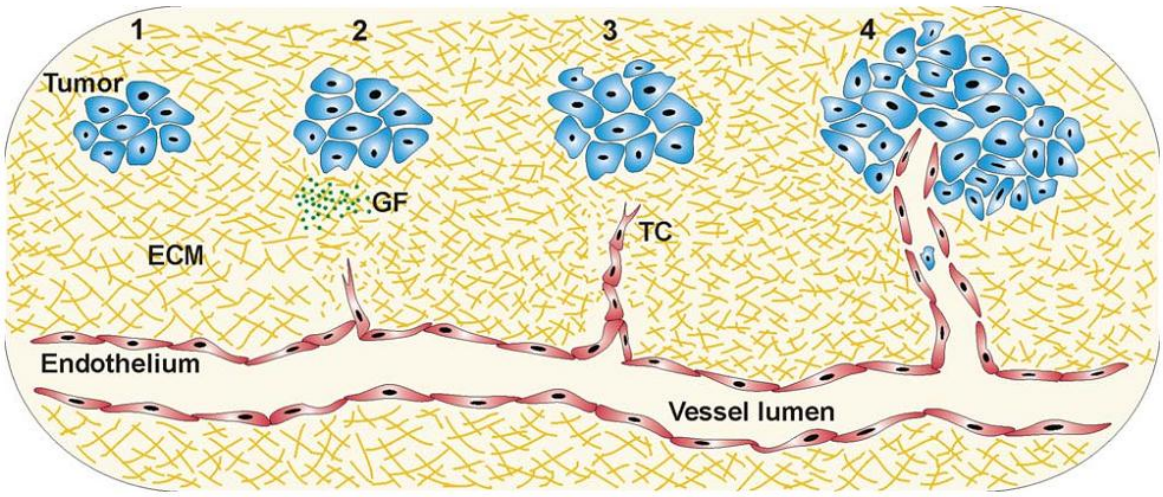
ظفرآیند آنژیوژنز به فعل و انفعالات وسیعِ بین سلول ها و مولکول های مختلفی وابسته بوده و توسط پپتیدها و فاکتورهای تعدیل کننده ی متنوعی کنترل می شود (صالحی و همکاران، ۲۰۱۱). محققان به این عقیده اند که برای القای آنژیوژنز، کاهش فشار اکسیژن[1] در بافت، از اهمیت زیادی برخوردار است. در چنین شرایطی بافت دچار هیپوکسی، اقدام به سنتز و رهاسازی فاکتورهای آنژیوژنیک همچون فاکتور رشد اندوتلیال[2] (VEGF) , می کند، این فاکتورها پس از اتصال به گیرنده های خود بر روی سلول های اندوتلیال، منجر به فعال شدن آن ها می شود و با شروع فعالیت، سلول های اندوتلیال، اقدام به مهاجرت و تکثیر می نماید. علاوه براین مولکول های اتصالی اینتگرین ($\alpha_3\beta_7$, $\alpha_7\beta_5$) نیز به فرآیند جلو رفتن جوانه های رگ های خونی در حال رشد کمک می کند (مصطفایی و محمدی مطلق، ۲۰۰۹). اینتگرین ها[3] در اتصال سلول به سلول و سلول به ماتریکس سلولی دخیل اند (ولچ، ۲۰۰۲). در مراحل بعدی فرآیند آنژیوژنز، ماتریکس متالوپروتئینازها جهت تجزیه ECM[4] وآغاز مجدد بازسازی آن تولید می شوند. سپس با برهم کنش آنژیوپروتئین Tie-2 فرآیند تشکیل لوله آغاز می گردد. در مرحله بعد، سیستم EphB-ephrinB نیز فرآیند تشکیل لوله ها را بر عهده گرفته و درنهایت پریسیت ها و سلول های ماهیچه ای صاف، برای پایدار کردن رگ های خونی تازه، تشکیل شده و به این ساختار اضافه می شود(مصطفایی و محمدی مطلق، ۲۰۰۹). .شکل ۲-۲ مراحل پیشرفت آنژیوژنز را نشان می دهد.



شکل۲- ۲. مراحل آنژیوژنز (اقتباس از صالحی و همکاران، ۲۰۱۱)

[1] Hypoxia
[2] Vein Endothelial Growth Factor
[3] integrin
[4] Extra matrix cellular

با اینکه عروق القایی تومور یک ساختار لوله مانند را برای تحویل متابولیت ها تشکیل می دهند، اما از نظر فراساختاری غیرطبیعی هستند. بسیاری از پریسیت های غیر فعال، منقبض و منبسط شده و به واسطه ی وجود شکاف و منافذ بین سلولی و فقدان غشاء پایه کامل، نفوذ پذیر می گردند (منصوری و سیفی، ۲۰۱۲). شکل ۲-۳ فرآیند آنژیوژنز را بطور شماتیک در پیشرفت تومور نشان می دهد. تومور خواب، در مرحله اول، فاکتورهای رشد آنژیوژنیک را ترشح می کند، بعد از تعویض آنژیوژنیک (تغییر فنوتیپ تومور از حالت کمون به حالت رگ زا) که از طریق عدم توازن فاکتورهای آنژیوژنیک و پیش آنژیوژنیک انجام می شود، این فاکتورهای رشد، سلول های اندوتلیال اطراف رگ ها را فعال و باعث مهاجرت آن ها می شود (مرحله ۲). این سلول ها در اطراف تومور تکثیر و یک سلول اندوتلیال در نوک سلول های اندوتلیال، فرآیند گسترش را، راهنمایی می کند (مرحله ۳). در مرحله ۴ ، گسترش جدید، یک لومنی تشکیل می دهد و تومور به سیستم رگ زایی متصل و باعث رشد حتمی می شود و تومور توانایی متاستاز می یابد (هورسن، ۲۰۰۶).



شکل ۲- ۳. مراحل پیشرفت آنژیوژنز و تشکیل تومور(اقتباس از ون هورسن و همکاران،۲۰۰۶)

۲-۴ ماتریکس متالو پروتئینازها

در طول گسترش سرطان، سلول های توموری در واکنش های زیادی شرکت دارند که ماتریکس خارج سلولی، فاکتور های رشد و سایتوکین ها و سلول ها ی (سلول های اندوتلیال، فیبروبلاست ها، ماکروفاژها و نوتروفیل) اطراف تومور در این واکنش ها دخیل اند. چهار علامت سرطان ، شامل مهاجرت، تهاجم، متاستاز و آنژیوژنز به ریز محیط اطراف تومور بستگی دارد. تحقیقات نشان داده، ماتریکس متالوپروتئینازها، بسیاری از تغییرات محیط اطراف تومور را در تمام مراحل آن از مهاجرت تا مراحل پیشرفته ی آن، یعنی آنژیوژنز و متاستاز نقش دارند (گیاللی و همکاران، ۲۰۱۱). قبل از توضیح نقش این آنزیم ها در سرطان ابتدا به خصوصیات آن ها می پردازیم.

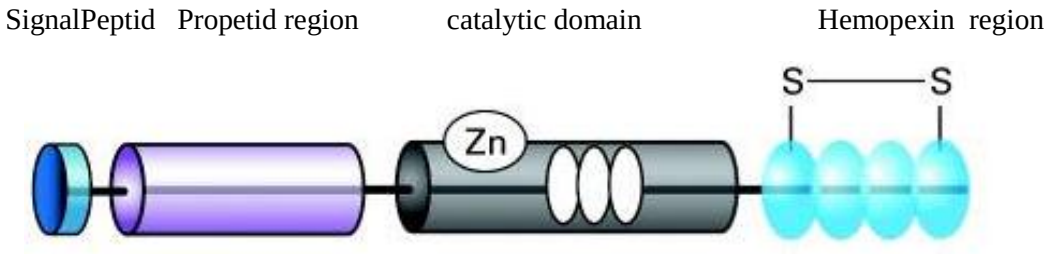
۲- ۴- ۱ خانواده ماتریکس متالوپروتئیناز ها[1] (MMP)

MMP ها از خانواده اندوپپتیداز های وابسته به روی ، برای اولین بار در سال ۱۹۶۲ توسط گروس و لاپیر در مهره داران گزارش شدند (ولچ،۲۰۰۲). نقش اصلی این آنزیم ها دربازسازی ، گسترش بافت و تنظیم فرآیندهای التهابی مثل سرطان است (کسنبراک و همکاران،۲۰۱۰).

در ساختار عمومی تمام MMP ها سه دومین وجود دارد . پرو پتید، دمین کاتالیک وHemopexin که به دمین کاتالیتیک از طریق ناحیه قابل انعطاف لولایی متصل است. MMP ها در ابتدا از طریق واکنش باقی مانده cystein از یک پیش دمین با یون روی از جایگاه کاتالیتیک به طور غیر فعال تولید می شود .این پیش دمین شامل یک توالی حفاظت شده است و به برش آنزیمی توسط تبدیل کننده ها نیاز دارد(شکل۲-۳). گروه بسیار مرتبط با MMP خانواده های ADAM[2] و disintegrin and a metalloproteinase with thrombospandin motifs)هستند. ADAM ها طیف وسیعی از

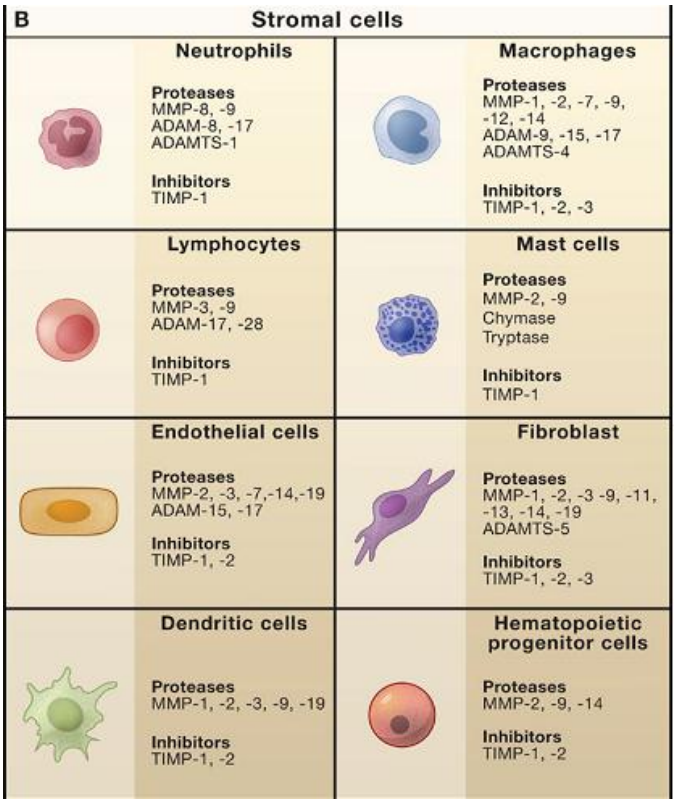
[1] Matrix metalloproteinase
[2] a disintegrin and metalloproteinase

عملکردها را با نقش در باروری و گسترش سرطان تکمیل می کند. منبع هردو پروتئین سلول های توموری و سلول های استرومایی است که به تومور نفوذ می کنند.



شکل ۲-۴. ساختار کلی MMP : شامل دمین پپتید سیگنال که آنزیم را به شبکه اندوپلاسمی زبر هدایت می کند.دمین پیش پروپتید که کمون آنزیم را حفظ می کند تا وقتی که حذف شود یا خراب شود. دمین کاتالیتیک که شامل بخش کاملاً حفاظت شده است ناحیه اتصال روی است و مسئول فعالیت آنزیم است. دمین Hemopexin که سوسبسترا ی ویژه آنزیم MMP را تعیین می کند و یک ناحیه کوچک لغزان که باعث می شود ناحیه Hemopexin را برای جایگیری سوبسترا در دمین کاتالیتیک در حالت فعال باعث می شود (روی و همکاران، ۲۰۰۹).

تیپ های مختلفی از سلول های استرومایی، ماتریکس متالوپروتئینازها و مهارکننده های آنها را تولید می کنند. در شکل۲-۴ سلول های مختلف استروما که انواع MMP را تولید می کنند نشان داده شده اند. منبع سلولی MMP ها نتیجه جدی روی فعالیت و عملکرد آن ها دارد. برای مثال نوتروفیل ها، MMPها را بیان می کنند بدون تولید مهار کننده آن (TIMP-1) که باعث فعالیت بیش از اندازه آن می شود (کسنبراک و همکاران،۲۰۱۰).



شکل ۲–۵ . انواع سلول های استرومایی که MMP ها را تولید می کنند (کسن براک و همکاران، ۲۰۱۰)

۲–۴– ۲ تنظیم فعالیت MMP

فعالیت پروتئولیتیک MMP ها در مراحل مختلف بیان ژن، بخش بخش شدن، تبدیل از حالت غیر فعال به فعال و در نهایت حضور مهار کننده های اختصاصی تنظیم می شود (شکل ۲–۵).

یک مرحله اصلی در تنظیم MMP ها تبدیل حالت زایموژن به حالت پروتئولیتیک است. پروتئینازهای زیادی وجود دارند که در فعال کردن MMP دخیل هستند . مثل پلاسمین ، فورین یا MMP های فعال . یک بار که MMP-2,-3,-7,-9,-12 فعال می شوند ، ممکن است پیام باز خور منفی با هضم پلاسمینوژن شروع شود. بنا براین با دخالت در تبدیل پلاسمینوژن به پلاسمین فعال، فعالیت MMP کنترل می شود. گونه های واکنش پذیر اکسیژن (ROS) می تواند روی عملکرد MMPها تأثیر