





**دانشگاه آزاد اسلامی**  
**واحد پزشکی تهران**

**پایان نامه :**

**جهت دریافت دکتر ای پزشکی**

**موضوع :**

**بررسی اثر ضدجھشی و ضدسرطانی فلاونوئید آپی جنین**

**استاد راهنما:**

**جناب آقای دکتر مهرداد هاشمی**

**نگارش:**

**دکتر مهدی نوری لنگ**

**شماره پایان نامه : ۴۶۸۴**

**سال تحصیلی : ۱۳۸۹**



**Islamic Azad University**

**College of Medicine**

Thesis:

**For Doctorate of Medicine**

Subject:

**Study of antimutagenicity and anticancer effect of Apigenin**

**Flavenoid**

Thesis Adviser:

**Dr. Mehrdad Hashemi**

Written by:

**Dr. Mahdi Nouri-Long**

**Year : 2010**

**No. 4684**

اللَّهُمَّ صَلِّ عَلَى مُحَمَّدٍ وَآلِهِ، وَآلِهِمُنِي عِلْمَ مَا يَحِبُّ لهُمَا عَلَى  
إِلْهَامًا، وَاجْمَعْ لِي عِلْمَ ذَلِكَ كُلِّهِ تَمَامًا، ثُمَّ اسْتَغْمِلْنِي بِمَا  
تُهَمُّنِي مِنْهُ، وَوَقِّفْنِي لِلنُّفُوزِ فِيهَا تُبَصِّرُنِي مِنْ عِلْمِهِ، حَتَّى  
لَا يَفُوتَنِي اسْتِعْمَالُ شَيْءٍ عِلْمْتَنِيهِ، وَلَا تَثْقُلَ  
أَرْكَانِي عَنِ الْحُفُوفِ فِيهَا أَلْهَمْتَنِيهِ

خداوندا بر محمد و آلش درود فرست، و دانش آنچه از حقوق ایشان  
که بر من لازم است به من الهام کن، و دانش تمام آن واجبات را بدون  
کم و زیاد برایم فراهم نما، آنگاه مرا به آنچه در این زمینه به من الهام  
کرده ای به کار گیر، و توفیقم ده تا نسبت به آنچه به من بصیرت می  
دهی اقدام کنم، تا به کار بستن چیزی از آنچه به من تعلیم داده ای از  
دستم نرود، و ارکان بدنم از خدمتی که مرا به آن ملهم فرموده ای  
احساس گرانی ننماید.

با سپاس و قدردانی از

استاد بزرگوارم

جناب آقای دکتر مهرداد هاشمی،

که دید و نگاهم را نسبت به دنیای علم و تحقیق

بازتر کرده و در مسیر تحقیقات با صبر و

استقامت در مقام بزرگ استادی در کنارم و

پشتیبانم بودند.

با سپاس و قدردانی از

اساتید بزرگوار

سرکار خانم دکتر ملیحه انتظاری

جناب آقای دکتر محمدکریم رحیمی

تقدیم به پدر بزرگوارم

که با دستان پرسخاوتشان، چتری سایه گستر ساخته اند

تا هیچ سختی را حس نکنم.

تقدیم به مهربانترینم، مادر

که نگاهش پشتوانه ام و کلامش آرامش روحم ...

وجودش تندیس همه خوبی ها و زیبایی ها

و وجودم فدای وجودش ...

تقدیم به برداران عزیزم

که اگر نبود تلاش ها و محبت هایشان

آنچه هست، نبود.

تقدیم به عزیزتر از جانم

او که محبت را در پاکی نگاهش

صداقت را در وجود مهربانش

عطر مهربانی را در تمام وجودش

درک وجودم را در وجودش

و عشق را در قلبش معنا کردم.

او که دوست داشتنش برایم زندگیست.

## فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده فارسی
۳	فصل اول: مقدمه و بررسی متون
۴۰	فصل دوم: روش مطالعه
۵۰	فصل سوم: یافته ها
۵۴	فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری
۵۹	فهرست منابع
۶۲	چکیده انگلیسی



## فهرست نمودارها

صفحه

عنوان

نمودار ۱- میزان جذب نوری در سنجش MTT در غلظتهای مختلف Apigenin ۵۲

## فهرست اشکال

صفحه	عنوان
۴۲	شکل ۱: ساختار شیمیایی ترکیب Apigenin
۴۴	شکل ۲- محیط های کشت مورد استفاده در بزرگنمایی کم
۴۵	شکل ۳- محیط های کشت مورد استفاده در بزرگنمایی زیاد
۴۸	شکل ۴- مراحل انجام آزمون AMES
۵۳	شکل ۵- افزایش تعداد سلول های آپوپتوز در زمان های مختلف مطالعه

## بررسی خواص ضد سرطانی و ضد جهشی فلاونوئید آپی جنین

دانشجو: مهدی نوری لنگ    استاد راهنما: جناب آقای دکتر مهرداد هاشمی

تاریخ دفاع: شماره پایان نامه: ۴۶۸۴    کد شناسایی پایان نامه: ۱۳۶۱۰۱۰۱۸۶۲۱۴۱

**سابقه و هدف:** در حال حاضر سرطان یکی از عوامل مرگ و میر در جهان می‌باشد. بسیاری از مواد شیمیایی جهش زا باعث مرگ میلیون‌ها بیمار سرطانی هستند. امروزه دانشمندان، در حال بررسی و پیدا کردن مواد غذایی طبیعی هستند که بتوانند عامل پیشگیری از سرطان باشند. آپوتوزیس و یا مرگ سازمان یافته، اصلی ترین مکانیسم در تکامل و هموستاز بافت های بالغ در جهت حذف سلول های غیر ضروری است که القای آن روشی موثر در درمان سرطان می باشد. هدف این مطالعه بررسی خواص ضد سرطانی و ضد جهشی فلاونوئید آپی جنین بود.

**مواد و روشها:** در این تحقیق تجربی سلولهای سرطانی لنفوسیت B انسانی در محیط RPMI1610 medium (Sigma-Aldrich) به علاوه ۱۰٪ سرم جنین گاوی (FBS (Fetal Bovine Serum) ، L-گلوتامین، پنی سیلین، استروپتومایسین در دمای ۳۷ درجه، بمدت ۲ روز کشت و سپس با آپی جنین تیمار شدند و توان زیستی سلولها با روش MTT ارزیابی شد. سپس اثر آپی جنین بر سلولهای سرطانی لنفوسیتی B انسان با روش فلوسایتومتری مورد سنجش قرار گرفت. **یافته ها:** در روش MTT سلولهای سرطانی لنفوسیتی B انسان مرگ سلولی معنی داری را نسبت به گروه های کنترل نشان دادند ( $P < 0.01$ ) بطوری که در آزمون ضد جهش زایی - ضد سرطانی در صد بازدارندگی ۹۸,۱۷٪ می باشد.

**نتیجه گیری:** در این بررسی برای اولین بار خواص ضدجھشی آپی جنین و القای آپوتوز آن بر

سلولهای سرطانی لنفوسیت B در *in vitro* مشخص گردید.

**واژگان کلیدی:** آپی جنین، آپوتوزیس، سلولهای سرطانی لنفوسیتی B انسان



## بیان مسئله:

جسم انسان از میلیون ها، میلیون سلول تشکیل شده که اگر فرایند رشد و تولید مثل آن ها در سیر تعادل و صحیح خود اتفاق افتد بدن سالم و عملکرد طبیعی خود را حفظ می کند اما مشکلات زمانی شروع می شود که یک سلول طبیعی دچار جهش و یا تغییر شده و به سلول سرطانی تبدیل شود.

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 افزایش سن افزایش می یابد. بطوریکه بر طبق گزارش انجمن بهداشت امریکا سالیانه ۱۵ میلیون 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 بخود اختصاص می دهد بیش از ۷۰٪ تمام مرگ ها ناشی از سرطان در کشور های کم در آمد یا با در آمد متوسط اتفاق می افتد.

سرطان یک بیماری هتروژن می باشد که بوسیله یک توده سلول بدخیم مشخص شده که منجر به خراب شدن عملکرد فیزیولوژی 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.

آپوپتوزیس یا مرگ برنامه ریزی شده سلول، یک مکانیسم مهم در زدودن ارگانیزم های چند سلولی، آسیب دیده یا سلولهای عفونی و ملتهب می باشد. آپوپتوز وابسته به انرژی بوده و نیازمند به

یکسری تشکیلات ویژه ای می باشد و بر عکس آن نکروز نوع دیگری از مرگ سلولی بوده که در آن سلول از حمله محیطی می میرد که منجر به بهم ریختن طبیعت آن و تولید التهاب بافتی می شود که به انرژی نیاز ندارد.

بر طبق برآوردهای انجام شده ممکن است بیش از ۷۵٪ سرطان ها دارای منشاء محیطی باشد که میتوان آلودگی، دخانیات، مواد غذایی، الکل، برخی پرتوها و نیز رشد و تکثیر ویروس ها را نام برد. زمانی تصور می شد که رژیم غذایی نقش در مرگ هایی ناشی از سرطان ندارد. اما امروزه محققان ثابت کردند که رژیم غذایی روزانه نقش مهمی در پیشگیری، بروز و حتی درمان انواع سرطان ها ایفا می کند. آسیب ها و تغییرات ژنتیکی ایجاد شده در توالی DNA و بروز جهش در ژنها 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 بعنوان آنتی اکسیدان عمل می کنند، می توانند آثار زیان بار ROS را کاهش دهند ROS در اتیولوژی بیماریهایی از قبیل سرطان، کاردیوواسکولار، مشکلات عصبی و پیری و .... نقش دارد لذا مصرف روزانه آنتی اکسیدان ها، دفاع و ایمنی بدن را در مقابل تولید رادیکال های آزاد افزایش داده و بعنوان ضد سرطان عمل می کند.

بیشتر مطالعات گزارش کرده اند که رژیم های مطبوعی از میوه ها و سبزیجات باعث داشتن مقدار زیادی از آنتی اکسیدان ها مانند پلی فنل ها و vit C,E کاروتینوئیدها و فلاونوئیدها، بروز

کانسر را کاهش می دهد و از مواد غذایی اصلی ضد سرطان محسوب می گردند. علاوه بر کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها نیز رنگدانه شناخته شده در گیاهان بویژه در پاییز بوده که رنگ برگها ناشی از آنها می باشد. فلاونوئیدها یک گروه بزرگی از ترکیبات پلی فنولیک هستند که بطور گسترده در میوه ها سبزیجات بذر و دانه ها، آجیل، گل و گیاه، چای و قهوه یافت می شوند فعالیت های بیوشیمیایی فلاونوئیدها وابسته به ساختار شیمیایی و مولکولهای آنهاست.

بیش از ۵۰۰۰ فلاونوئید متفاوت شناخته شده است و در ۱۰ گروه شیمیایی بر اساس درجه اشباعی و نوع باز شدن حلقه پیران مرکزی طبقه بندی شده اند، که شامل فلاون ها، فلاوانول ها، فلاونون ها، آنتوسیانین ها و ایزو فلاون ها می باشد که در رژیم غذایی ما بطور شایع یافت می شوند. فلاونوئیدها بیواکتیویته وسیعی دارند که شامل خاصیت های ضدالتهابی، ضد آرژی، کاردیوواسکولار، خاصیت آنتی اکسیدان، کاهش فشار خون، ضداسپاسم، ضد اسهال و فعالیت های ضد تکثیر و ضد توموری می باشد.

آپی جنین [Trihydroxy flavone – 4,5,7] در واقع یک Chemopreventive agent Cancer است که از تکثیر سلول ها و سایز و تعداد سلولها سرطانی جلوگیری می کند همچنین با بلوک Rnithine Decarboxylase Activity از اثرات زیانبار مواد سرطانزای شیمیایی و UVB جلوگیری می کند.

از شایعترین آزمایشها برای سنجش اثرات ضد سرطانی و ضد جهشی، آزمون ایمز و تاثیر مواد مورد نظر بر سلول های سرطانی کشت شده در *in vitro* می باشد. هدف پژوهش حاضر



بررسی اثر ضد سرطانی و ضد جهشی آپی جنین، از طریق تاثیر بر سلول های سرطانی و نیز آزمون ایمز بوده است. در این روش استفاده از سلول های سرطانی با تأثیر آپی جنین، اگر سلول های سرطانی مردند یعنی آپی جنین اثر دارد و اگر سلول های سرطانی نمرند یعنی آپی جنین اثر ندارد. برای ارزیابی ضد جهشی آپی جنین از روش استاندارد آزمون ایمز بر روی باکتریها جهش یافته سالمونلا تیفی موریوم استفاده گردیده است و نتایج بر حسب رشد کلونی های باکتری در شرایط انتخابی ارزیابی شدند. باکتریهای جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم Histidin موتانت، در محیط کشت عادی رشد ندارند چون ژن His موتان می باشد، اگر باکتری را در مجاورت آزید سدیم (ماده سرطان زا قوی که برای سنجش جهش زایی کاربرد دارد) قرار گیرد، جهش های باکتری ها بر می گردد و در نتیجه رشد کلونی را خواهیم داشت. آپی جنین را همراه با آزیدسدیم به باکترهای جهش یافته سالمونلاتیفی موریوم اضافه نموده و مشاهده گردید تعداد کلونی ها کاهش یافت، یعنی آپی جنین مانع جهش زایی آزید سدیم شده است.

## بررسی متون (منابع ۱ تا ۱۰):

سرطان بیماری ای است که در آن سلول‌های بدن در یک تومور بدخیم به طور غیر عادی تقسیم و تکثیر می‌شوند و بافت‌های سالم را نابود می‌کنند. سلول‌های سرطانی از ساز و کارهای عادی تقسیم و رشد سلول‌ها جدا می‌افتند. علت دقیق این پدیده نامشخص است؛ ولی احتمال دارد عوامل ژنتیکی یا عوامل بیرونی همچون ویروس و مواد سرطانزا موثر باشد. در یک جاندار سالم، همیشه بین میزان تقسیم سلول، مرگ سلولی و تمایز، یک تعادل وجود دارد.

سرطان شامل همه انواع تومورهای بدخیم می‌شود که آنها را بیشتر با نام نئوپلاسم می‌شناسند. احتمال بروز سرطان در سنین مختلف وجود دارد ولی احتمال بروز سرطان با افزایش سن زیاد می‌شود. سرطان باعث ۱۳٪ مرگ‌ها است. بر طبق گزارش انجمن بهداشت آمریکا ۷/۶ میلیون نفر بر اثر سرطان در سال ۲۰۰۷ مرده‌اند. سرطان تنها ویژه انسان نیست و همه جانوران و گیاهان پرسلولی نیز ممکن است به سرطان دچار شوند.

## تکثیر بی رویه سلول‌ها در سرطان

سرنوشت سلول‌ها کاملاً کنترل شده است و براساس نیازهای بدن انجام می‌شود. در جنین میزان تکثیر سلول‌ها بیشتر از مرگ سلولی است اما در جاندار بالغ میزان مرگ سلولی و تقسیم سلولی به تعادل می‌رسد. سرنوشت سلول در هر زمان، به طور کاملاً دقیق، بوسیله فاکتورهای رشد، پیام‌های محیطی و برخی پروتئین‌ها و پیامبرهای سلولی، کنترل می‌شود. جهش‌هایی که منجر

به تغییر هر یک از فاکتورهای موثر در سرنوشت سلول، می‌شوند باعث بهم خوردن نظم دقیقی که در تنظیم رشد و تکثیر و تمایز سلول ها وجود دارد می‌شود و می‌تواند منجر به بروز سرطان شود. سلول‌های سرطانی کنترل خود را بر چرخه سلولی از دست داده و به طور مداوم و بدون توجه به پیام‌های سلولی و فاکتورهای رشد، به تکثیر ادامه می‌دهند. در سلول‌های سرطانی بیان پروتئین‌های سلولی تغییر کرده و برخی از آنها که نباید بیان شوند بیان شده و بیان برخی دیگر از ژن‌ها متوقف می‌شوند. به طور کلی فاکتورهایی که نقص در آنها منجر به از دست رفتن کنترل رشد و تکثیر سلول‌ها و بروز سرطان می‌شوند به دو دسته تقسیم می‌شوند: انکوپروتئین‌ها و پروتئین‌های سرکوبگر تومور.

### همه‌گیرشناسی

در سال ۲۰۰۰ ده میلیون مورد جدید سرطان و شش میلیون مورد مرگ وابسته به سرطان در دنیا به ثبت رسید. در آمریکا هر سال در حدود یک و نیم میلیون نفر برای نخستین بار متوجه می‌شوند که به نوعی سرطان مبتلا شده‌اند. بر اساس آمار سرطان باعث مرگ ۵۵۶۰۰۰ نفر در سال ۲۰۰۳ شد که برابر مرگ روزانه ۱۵۰۰ نفر می‌باشد و فقط مرگ ناشی از بیماری‌های قلبی و عروقی دارای شیوعی بیش از آن است. شایع‌ترین تومورها در مردان سرطان‌های پروستات، ریه و روده بزرگ می‌باشند و در زنان پستان، ریه و روده بزرگ هستند. سرطان‌های ریه، پستان، پروستات و روده بزرگ علت بیش از ۵۰ درصد سرطان‌های تشخیص داده شده و نیز مرگ ناشی

از سرطان را در آمریکا را شامل می‌شوند. در طول ۵۰ سال گذشته میزان کلی مرگ وابسته 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 می‌باشد ولی بهبود این نسبت را در زنان را می‌توان به کاهش واضح میزان مرگ و میر ناشی از سرطان‌های رحم، معده، کبد و از همه مهمتر سرطان گردن رحم در زنان مرتبط دانست.

تفاوت‌های 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 آمریکا است در مقابل میزان مرگ و میر ناشی از سرطان ریه در آمریکا کمی بیش از ۲ برابر ژاپن است. مرگ و میر ناشی از سرطان پوست که بیشتر به علت ملانوم بدخیم می‌باشد در نیوزلند ۶ برابر شایع‌تر ایسلند است که مهمترین علت آن تفاوت در معرض نور خورشید قرار گرفتن می‌باشد.

### سبب‌شناسی

### عوامل محیطی

عوامل محیطی در همه جا وجود دارند: آنها در محیط اطراف ما، در مکان کار، در غذا و ... یافت می‌شوند. از عوامل محیطی که در ایجاد سلول‌های سرطانی نقش دارند می‌توان آلودگی، دخانیات، مواد غذایی، الکل، برخی پرتوها و نیز رشد و تکثیر ویروس‌ها را نام برد که زیر مفصل‌تر بحث می‌شود: