



دانشگاه علوم پزشکی  
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکتراى حرفه ای رشته پزشکی

عنوان:

بررسی میزان بیان مولکول MirNA-126 و سطح سرمی پروتئین VCAM-1 در بیماران مبتلا به اسکروز

سیستمیک و ارتباط آن‌ها با علائم بالینی بیماری

نگارش:

شهره پردل

اساتید راهنما:

دکتر الهام صفرزاده

دکتر افسانه انتشاری مقدم

اساتید مشاور:

دکتر نسرين فولادی

دکتر فرهاد جدی

پاییز ۱۴۰۰

شماره پایان نامه: ۰۵۸

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بسمه تعالی

## گواهی اصالت پایان نامه

اینجانب شهره پردل دانشجوی مقطع دکتری رشته پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تایید می‌نمایم که:

-این پایان نامه بر اساس نتایج بررسی‌ها/ تحقیقات انجام یافته توسط اینجانب تحت راهنمایی‌های خانم دکتر صفرزاده و خانم دکتر انتشاری بوده و بوسیله خودم انشا گردیده است و در صورت استفاده از نتایج پژوهش‌ها و یا آثار دیگران بلافاصله به مرجع مورد استفاده استناد شده است و مشخصات مرجع به قسمت منابع و مآخذ طور کامل ذکر گردیده است.

-مسئولیت صحت مطالب مندرج در این پایان نامه به طور کامل با اینجانب است.

-این پایان نامه قبلاً برای دریافت هیچ مدرک تحصیلی در سایر دانشگاه‌ها و موسسات آموزش عالی (هم سطح، پایین تر یا بالاتر) ارائه نشده است.

-کلیه حقوق مادی و معنوی این پایان و محصول مستخرج از آن اعم از مقالات، نامه و هر گونه چاپ کتاب و ثبت اختراع به دانشگاه علوم پزشکی اردبیل تعلق دارد و هرگونه استفاده از اطلاعات و یا نتایج، واگذاری اطلاعات به افراد دیگر، چاپ، تکثیر، نسخه برداری، ترجمه و اقتباس از این پایان نامه بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ممنوع است.

-کلیه مقالات مستخرج از این پایان نامه تحت نام دانشگاه علوم پزشکی اردبیل (Ardabil University of Medical sciences) به عنوان وابستگی نویسنده اول یا مسئول و با اطلاع و اجازه تمامی اساتید راهنما و مشاور به چاپ رسیده یا خواهد رسید.

-چنانچه در هر مقطع زمانی، خلاف موارد فوق ثابت شود، عواقب ناشی از آن را می‌پذیرم و دانشگاه مجاز است با اینجانب مطابق با مقررات رفتار نموده و در صورت برخورد قانونی، هیچ گونه ادعایی نخواهم داشت.

نام و نام خانوادگی دانشجو: شهره پردل

امضا تاریخ

-بدینوسیله اصالت و صحت نتایج این پایان نامه مورد تأیید اینجانب، استاد راهنما می‌باشد.

نام و نام خانوادگی استاد راهنما

امضا و تاریخ

## تقدیم

به نام آنکه جان را فکرت آموخت. خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری  
فداکار نصیص ساخته تا دمیای درخت پر بار وجودشان بیایم و از ریشه‌ی آن شاخ  
و برگ گیرم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نشان دلیلی است بر  
بودنم چرا که این دو موجود مقدس پس از پروردگار، مایه‌ی هستی ام بوده اند و دستم را گرفتند  
و در این وادی پر از فراز و نشیب زندگی، چگونه راه رفتن را به من آموختند.  
آموزگارانی که برایم زندگی و انسان بودن را معنا کردند.  
حال این برگ سبزی است تخم‌خیزی درویش تقدیم به آستان آنان...

## تشکر و قدردانی

پاس خدای را که سمنوران، دستودن او بانند و شمارندگان، شمردن  
نعمت های او ندانند و کوشندگان، حق او را گزاردن نتوانند. اکنون که  
باید آخازی بر یک پایان بخارم، بر خود لازم می دانم که از اساتید  
راهبهای محترم خانم دکتر الهام صفرزاده و خانم دکتر افسانه انتشاری  
به خاطر راهبانی های ارزشمند نهایت تشکر و قدردانی را بنمایم.

## فهرست مطالب

۳	فصل ۱ مقدمه
۴	۱-۱ اهمیت موضوع و انگیزه تحقیق
۷	۲-۱ اهداف پژوهش
۷	۱-۲-۱ هدف کلی
۸	۲-۲-۱ اهداف اختصاصی
۸	۳-۲-۱ اهداف کاربردی
۹	۴-۲-۱ فرضیات
۱۰	۳-۱ تعریف واژه‌های اختصاصی
۱۱	فصل ۲ بررسی متون
۱۲	۱-۲ مبانی نظری
۱۲	۱-۱-۲ اسکرودرمی
۱۸	۲-۱-۲ توضیحات MicroRNA
۲۱	۲-۱-۳ VCAM <sub>1</sub>
۲۲	۲-۲ مطالعات جهان
۲۸	فصل ۳ مواد و روش کار
۲۹	۱-۳ نوع مطالعه
۲۹	۲-۳ زمان انجام مطالعه
۲۹	۳-۳ محیط پژوهش
۲۹	۴-۳ جمعیت مورد مطالعه و حجم نمونه
۲۹	۵-۳ روش گردآوری اطلاعات
۳۰	۶-۳ وسایل لازم
۳۰	۱-۶-۳ وسایل لازم جهت نمونه‌گیری
۳۰	۲-۶-۳ وسایل لازم جهت جداسازی سرم
۳۱	۳-۶-۳ مواد لازم جهت استخراج RNA
۳۱	۳-۶-۴ مواد لازم جهت سنتز c-DNA
۳۲	۵-۶-۳ مواد لازم جهت Real time

۳۲	مواد لازم جهت تست الایزا	۶-۶-۳
۳۲	تجهیزات مورد نیاز	۷-۳
۳۳	طراحی پرایمر و استم لوپ و blast	۸-۳
۳۴	روش کار	۹-۳
۳۴	جداسازی سرم	۱-۹-۳
۳۴	استخراج total RNA	۳-۹-۲
۳۶	بررسی کمی و کیفی RNA های استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری	۳-۹-۳
۳۶	سنتز c-DNA	۳-۹-۴
۳۷	مراحل آماده سازی مواد و انجام واکنش سنتز c-DNA	۵-۹-۳
۳۸	بررسی Real Time PCR	۶-۹-۳
۳۸	مراحل انجام کار	۷-۹-۳
۴۰	تجزیه و تحلیل داده ها	۱۰-۳
۴۱	معیار ورود	۱۱-۳
۴۱	معیار خروج	۱۲-۳
۴۱	ملاحظات اخلاقی	۱۳-۳
۴۲	متغیرهای مطالعه	۱۴-۳
۴۵	<b>فصل ۴ نتایج</b>	
۴۶	۱-۴ نتایج	
۴۶	یافته های مربوط به ویژگی های دموگرافیک بیماران	۱-۱-۴
۴۷	یافته های مربوط به علائم بالینی بیماران	۲-۱-۴
۴۹	یافته های مربوط به ویژگی های پاراکلینیک بیماران:	۳-۱-۴
۵۲	یافته های مربوط به سطح سرمی miRNA	۴-۱-۴
۵۸	یافته های مربوط به سطح سرمی VCAM-1 محلول	۵-۱-۴
۶۵	مدت بیماری و ارتباط با سطح سرمی VCAM-1 و miRNA-126	۶-۱-۴
۶۶	مقایسه سطح سرمی VCAM-1 با سطح سرمی miRNA-126 در بیماران اسکروز سیستمیک	۴-۱-۷
۶۷	<b>فصل ۵ بحث و نتیجه گیری</b>	
۶۸	۱-۵ بحث	
۷۴	۲-۵ محدودیت های مطالعه	

۷۵.....نتیجه گیری ۳-۵

۷۶.....ضمائم

۸۰.....منابع



## فهرست اشکال، جداول و نمودارها

شکل ۱-۱	ارتباط بین آسیب سلول‌های اندوتلیال و فیروز در اسکروز سیستمیک.....	۵
شکل ۲-۱	مکانیسم تولید <i>mi cr RNA</i> و نحوه عملکرد آن.....	۲۰
نمودار ۴-۱	توزیع علائم بالینی بیماران.....	۴۹
نمودار ۴-۲	توزیع علائم بالینی بیماران.....	۴۹
نمودار ۴-۳	میزان فیروز در بیماران.....	۵۲
نمودار ۴-۴	میزان فشار خون شریان در بیماران.....	۵۲
نمودار ۴-۵	توزیع اتوانتی‌بادی‌ها در بیماران.....	۵۳
نمودار ۴-۶	مقایسه سطح سرمی <i>mi RNA-۱۲۶</i> در دو گروه بیمار و کنترل.....	۵۴
نمودار ۴-۷	مقایسه سطح سرمی <i>VCAM۱</i> محلول در دو گروه بیمار و سالم.....	۶۰
نمودار ۴-۸	میزان همبستگی <i>mi RNA-۱۲۶</i> با <i>VCAM۱</i> در گروه بیمار.....	۶۷
جدول ۲-۱	تشخیص بیماری اسکروز سیستمیک.....	۱۷
جدول ۳-۱	مقادیر و مواد لازم جهت سنتز اختصاصی <i>c-DNA</i> .....	۳۸
جدول ۳-۲	شرایط دمایی واکنش سنتز <i>c-DNA</i> .....	۳۹
جدول ۳-۳	مقادیر و مواد لازم برای انجام <i>Real time PCR</i> .....	۴۰
جدول ۳-۴	شرایط دمایی واکنش <i>Real-time PCR</i> .....	۴۰
جدول ۳-۵	متغیرهای به‌کاررفته در پژوهش.....	۴۳
جدول ۴-۱	مقایسه ویژگی‌های دموگرافیک گروه‌های مورد مطالعه.....	۴۷
جدول ۴-۲	جدول توزیع علائم بالینی در بیماران اسکروز سیستمیک.....	۴۸

جدول توزیع علائم پاراکلینیکال در بیماران اسکروز سیستمیک.....	۵۰	<b>جدول ۴-۳</b>
سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA در گروه های مورد مطالعه.....	۵۳	<b>جدول ۴-۴</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA با سن افراد مورد مطالعه.....	۵۴	<b>جدول ۴-۵</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA با جنسیت افراد مورد مطالعه.....	۵۵	<b>جدول ۴-۶</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA با تاهل افراد مورد مطالعه.....	۵۵	<b>جدول ۴-۷</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA با شغل افراد مورد مطالعه.....	۵۶	<b>جدول ۴-۸</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA بر حسب علائم بالینی بیماران.....	۵۶	<b>جدول ۴-۹</b>
مقایسه سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA بر حسب آزمایشات پاراکلینیک بیماران.....	۵۷	<b>جدول ۴-۱۰</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM محلول در گروه بیمار و کنترل.....	۵۹	<b>جدول ۴-۱۱</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM محلول با سن افراد مورد مطالعه.....	۶۰	<b>جدول ۴-۱۲</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM محلول با جنسیت افراد مورد مطالعه.....	۶۱	<b>جدول ۴-۱۳</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM محلول با تاهل.....	۶۱	<b>جدول ۴-۱۴</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM محلول با شغل افراد مورد مطالعه.....	۶۱	<b>جدول ۴-۱۵</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM با علائم بالینی بیماران.....	۶۲	<b>جدول ۴-۱۶</b>
مقایسه علائم پاراکلینیک بیماران با سطح سرمی ۱ VCAM.....	۶۳	<b>جدول ۴-۱۷</b>
سطح سرمی ۱ VCAM بر حسب طول مدت بیماری.....	۶۶	<b>جدول ۴-۱۸</b>
سطح سرمی ۱۲۶-mi RNA بر حسب طول مدت بیماری.....	۶۶	<b>جدول ۴-۱۹</b>
مقایسه سطح سرمی ۱ VCAM با ۱۲۶-mi RNA در بیماران اسکروزدرمی.....	۶۷	<b>جدول ۴-۲۰</b>

## فهرست اختصارات

ACA	Anti-centromere Antibody
ANA	Anti- Nuclear Antibody
Anti CCP	Anti-cyclic citrullinated peptide
Anti dsDNA	Anti-double stranded DNA
Anti scl-70	Anti-topoisomerase 1
CPK	Creatine Phosphokinasse
FTP	Finger to Palm
FVC	Forced Vital Capacity
Hx SRC	History of Scleroderma Renal Crisis
LDH	Lactate Dehydrogenase
miRNA-126	MicroRNA-126
MRSS	Modified Rodnan Score System
PAH	Pulmonary artery hypertension
VCAM-1	Vascular Cell Adhesion Molecule-1

تعیین میزان بیان مولکول miRNA-126 و سطح سرمی پروتئین VCAM-1 در بیماران مبتلا به اسکروز سیستمیک و ارتباط آن‌ها با علائم بالینی بیماری

### چکیده

زمینه: اسکروز سیستمیک (SSc) یک بیماری چند سیستمی ناشایع با مرگ و میر بالا به علت درگیری ارگان‌های حیاتی از جمله قلب، ریه، دستگاه گوارش و کلیه است. علت بیماری به صورت کامل مشخص نشده است اما تایید شده است که آسیب عروق ریز اولین رویداد SSc است و سلول‌های آندوتلیال آسیب دیده ممکن است متمایز شوند به میوفیبروبلاست‌ها، که سلول‌های مسئول فیبروز و رسوب کلاژن هستند. VCAM-1 یک تنظیم‌کننده اصلی چسبندگی لکوسیت و مهاجرت می‌باشد. VCAM-1 محلول در فعال سازی فیبروبلاست و تبدیل سلول اپیتلیال به مزانشیمال نقش دارد و نشانگر فعال سازی سلول‌های ایمنی و فعال سازی سلول‌های آندوتلیال است. miRNA ها به عنوان تعدیل کننده‌های مهم هومئوستاز اندوتلیال شناخته شده‌اند. اختلال در تنظیم miRNA ها با اختلال عملکرد اندوتلیال و گسترش و پیشرفت بیماری عروقی ارتباط دارد و فرصت‌های جدیدی برای استفاده از miRNA ها به عنوان اهداف درمانی بالقوه در بیماری‌های عروقی ایجاد می‌کند. نقش miRNA ها در SSc نامشخص است. miR-126 جزء فراوان‌ترین miRNA های تولید شده در سلول اندوتلیال است که مسئول یکپارچگی عروقی و پاسخ به استرس همودینامیک می‌باشد.

**هدف:** در این مطالعه میزان سرمی پروتئین VCAM-1 و میزان بیان miR-126 در بیماران مبتلا به اسکروز سیستمیک و گروه کنترل سنجیده شد و ارتباط آن با علائم بالینی بیماری ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مورد-شاهدی تعداد ۲۶ نمونه بیمار اسکروز سیستمیک مراجعه‌کننده به درمانگاه روماتولوژی در استان اردبیل که تشخیص آن‌ها براساس معیارهای ACR مسجل شده بود و ۲۳ نمونه گروه کنترل مطالعه قرار گرفتند. در نمونه سرم میزان پروتئین VCAM-1 به روش الیزا و میزان بیان مولکول miRNA-126 به روش real time PCR اندازه گیری شد، با نرم افزار آماری تجزیه تحلیل شد و با علائم بالینی بیماران مطابق با پرسشنامه طراحی شده و معاینه، مورد ارزیابی قرار گرفت.

**نتایج:** سطح سرمی miRNA-126 در گروه بیماران نسبت به گروه کنترل کاهش معنی دار ( $P=0/02$ ) داشت. همچنین ارتباط معکوس معنی داری بین سطح سرمی miRNA-126 با علائم ریوی شامل PAH و فیبروز

ریوی مشاهده شد. VCAM-1 محلول در سرم بیماران نسبت به گروه کنترل افزایش معنی داری نشان داد ( $P < 0.001$ )، اما ارتباطی بین میانگین سطح سرمی VCAM-1 محلول با شدت علائم بالینی مختلف مشاهده نشد. همچنین بین سطح سرمی miRNA-126 و VCAM-1 محلول همبستگی معنادار ( $P = 0.08$ ) مشاهده نشد.

**نتیجه گیری:** نتایج پیشنهاد می کنند که miRNA-126 و VCAM-1 ممکن است در پاتوفیزیولوژی بیماری نقش داشته باشند. همچنین miRNA-126 ممکن است بتواند به عنوان نشانگر پیش آگهی فیروز ریه و افزایش فشارخون شریان ریوی بکار گرفته شود.

**کلمات کلیدی:** miRNA-126 - اسکروز سیستمیک - VCAM-1