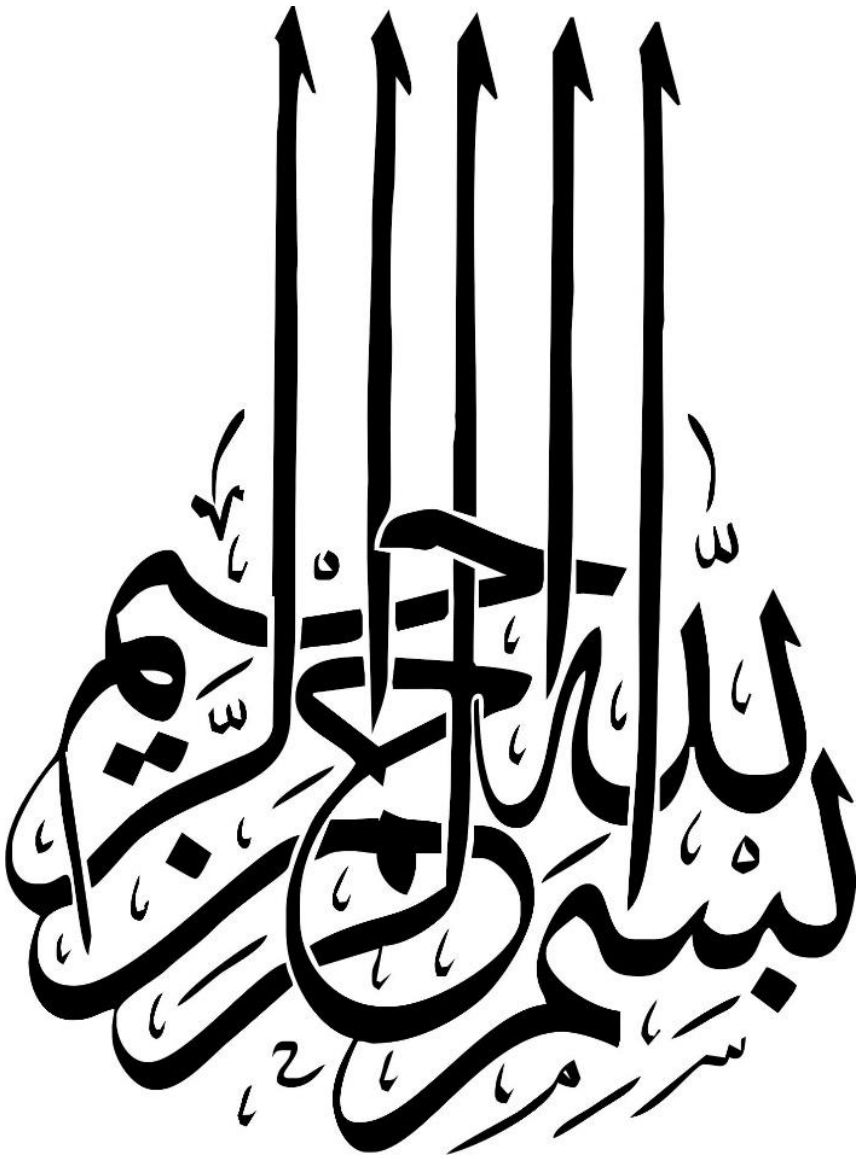
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجهٔ دکترای حرفه‌ای رشته پزشکی

عنوان:

بررسی وضعیت متیلاسیون پروموتر ژن hTERT در نمونه بافت معده بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری

نگارش:

شاهین لعلی سراب

اساتید راهنما:

دکتر امیراحمد عرب زاده

دکتر علیرضا شایگان نژاد

اساتید مشاور:

دکتر یاسمین پهلوان

دکتر رسول نعمتی

تیر ۱۴۰۲

شماره پایان نامه: پ/پ/۰۱۰۳۶

فـهـرست مـطـالـب

عـنـو ان

صفـحـه

چکیده ۱

فصل اول: مقدمه ۳

۱-۱-هلیکوباکترپیلوری ٤

۱-۱-۲-عامل اتیولوژیک ٥

۱-۱-۲-۱-سایر گونه های هلیکوباکتر پیلوری ٥

۱-۱-۳-اپیدمیولوژی ٦

۱-۱-۳-۱-شیوع عوامل خطر ٦

۱-۱-۳-۲-انتقال ٦

۱-۱-٤-آسیب شناسی و بیماری زایی ۷

۱-۱-٤-۱-فاکتورهای ویرولانس باکتری ۸

۱-۱-٤-۲-فاکتورهای محیطی و ژنتیکی میزبان ۹

۱-۱-٤-٤-پاتوژنز زخم دئودنوم ۱۰

۱-۱-٤-٥-پاتوژنز زخم گاستریک و ادنوکارسینوم معده ۱۱

۱-۱-٥-تظاهرات بالینی ۱۲

۱-۱-٥-۱-بیماری زخم پپتیک ۱۲

۱-۱-٥-۲-آدنوکارسینوم معده و لنفوم ۱۳

۱-۱-٥-۳-دیس پپسی عملکردی ۱۳

۱-۱-٥-٤-مراقبت در برابر بیماری عملکردی مری از جمله آدنوکارسینوم ۱٤

۱-۱-٥-٥-سایر آسیب‌شناسی ها ۱٥

۱-۱-٦-تشخیص ١٦
۱-٦-۱-۱-تست‌های بر پایه‌ی آندوسکوپی ١٦
۲-٦-۱-۱-تست‌های غیرتهاجمی ١٧
۳-٦-۱-۱-استفاده از این تست‌ها برای موفقیت در درمان ١٨
۱-۱-۷-درمان ١٩
۱-۱-۷-۱-اندیکاسیون‌های درمان عفونت هلیکوباکتر پیلوری ١٩
۱-۱-۷-۲-رژیم‌های درمانی ٢١
۱-۱-۸-پیشگیری: ٢٣
۱-۲-تلومر ٢٤
۱-۳-تلومراز ٢٤
۱-٤-ترانس کریپتاز معکوس تلومراز انسانی(hTERT) ٢٦
۱-۵- اهداف پژوهش ٢٨
۱-۵-۱- هدف کلی ٢٨
۱-۵-۲- اهداف اختصاصی ٢٨
۱-٦- سوالات و فرضیات مطالعه ٢٨
فصل دوم: بررسی متون ٢٨
فصل سوم: مواد و روش‌ها ٣٥
۱-۳ نوع مطالعه ٣٦
۲-۳-جامعه آماری و روش نمونه گیری ٣٦
۳-۳-حجم نمونه ٣٦
٤-۳-معیارهای ورود به مطالعه ٣٨

۳۸ ..... ۳-۵-معیارهای خروج از مطالعه
۳۸ ..... ۳-۶-روش‌های جمع آوری اطلاعات
۳۹ ..... ۳-۷- دستگاههای مورد نیاز
٤٠ ..... ۳-۸-روش انجام آزمایشات
٤٠ ..... ۳-۹-طرز تهیه محلولهای مورد نیاز
٤٠ ..... ۳-۹-۱- بافر فسفات سالین (PBS, Phosphat e Buf f er ed Sal i ne)
٤١ ..... ۳-۹-۲- محلول اتانول ۷۵٪
٤١ ..... ۳-۹-۳- محلولهای لازم جهت الکتروفورز کردن DNA
٤٢ ..... ۳-۱۰- طراحی پرایمر
٤٢ ..... ۳-۱۱- مراحل مربوط به استخراج DNA
٤٣ ..... ۳-۱۲- تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده
٤٤ ..... ۳-۱۲-۱- روش اسپکتروفتومتری :
٤٥ ..... ۳-۱۳- تهیه ژل آگارز و الکتروفورز محصولات PCR
٤٧ ..... ۳-۱٤ -بررسی متیلاسیون به روش تکنیک PCR مختص متیلاسیون
٤٨ ..... ۳-۱۵- آنالیز آماری دادهها
٤٨ ..... ۳-۱٦- ملاحظات اخلاقی

فصل چهارم: نتایج ٤۹

۵۰ ..... ٤-۱-اطلاعات دموگرافیک و خصوصیات بالینی گروهها
۵۲ ..... ٤-۲ نتیجه بررسی DNA استخراج شده
۵۳ ..... ٤-۳ نتایج بررسی متیلاسیون پروموتر ژن hTERT در بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری

فصل پنجم: بحث ٥٦

١-٥- بحث ٥٧

٥-٢- محدودیت های مطالعه ٦٣

٥-٣- نتیجه گیری ٦٤

٥-٤- پیشنهادات ٦٥

٥-٥- ترجمان دانش ٦٦

منابع ٦٧

فهرست جدول ها

جدول ۱-۳ مواد و تجهیزات مورد نیاز..... ۳۹

جدول۲-۳ توالی پرایمر ژن GAPDH و توالی پرایمرهای مورد استفاده در بررسی متیلاسیون hTERT..... ٤۲

جدول ۱-٤ مشخصات دموگرافیک، بالینی و آزمایشگاهی بیماران ۵۰

جدول ۲-٤ مقادیر OD و غلظت‌های سنجیده شده توسط نانودراپ ۵۳

فهرست شکل ها

شکل ۱-۱نمودها و جنبه های مختلف عفونت هلیکوباکتر پیلوری..... ۹
شکل ۲-۱ شکلی که نشان میدهد تلومراز چگونه باعث طولانی شدن انتهای تلومر به صورت پیشرونده میشود. ۲۵
شکل ۱-۳ روش استخراج DNA..... ٤۳
شکل ۱-٤ تغییر نسبی میزان متیلاسیون ژن hTERT. ٥٤
شکل ۲-٤ بررسی متیلاسیون پروموتر ژن hTERT..... ٥٥

فهرست علائم اختصاری

TERT: Telomerase Reverse Transcriptase

NF-κ B : Nuclear factor kappa B

hTERT: human Telomerase Reverse Transcriptase

IL: Interleukin

TNFα: Tumor necrosis factor alpha

TERC: Telomerase RNA component

RNA: Ribonucleic acid

DNA: Deoxyribonucleic acid

CagA: Cytotoxin associated gene A

VacA: vacuolating cytotoxin A

ure: urea channel

pH: Potential of Hydrogen

TERRA: Telomeric Repeat-Containing RNA

Fl: Flagellin

Pse: pseudaminic acid

BabA: Pylori antigen binding adhesin

SabA: Sialic acid-binding adhesin

SPSS: Statistical Package for the Social Sciences

NAP: Neutrophil-activating protein

cagPAI: Helicobacter pylori cag Pathogenicity Island

MET: Mesenchymal-epithelial transition factor

بررسی وضعیت متیلاسیون پروموتر ژن hTERT در نمونه بافت معده بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری

چکیده

زمینه: باکتری هلیکوباکتر پیلوری به طور شایع در مخاط معده انسان کلونیزه شده و زمینه بروز بسیاری از بیماری ها از جمله التهاب در مخاط معده را موجب می شود. هنوز مکانیسم دقیق پاتوژنز این عفونت شناخته نشده است. تغییرات در سطح اپی ژنتیک نقش قابل توجهی در پاتوژنز بیماری دارد. ارتباط بین متیلاسیون ژن hTERT و التهاب القا شده با عفونت هلیکوباکتر پیلوری مشخص نشده است در این پروژه به نقش میزان متیلاسیون ژن hTERT در التهاب القا شده توسط هلیکوباکتر پیلوری پرداخته شده است.

هدف: هدف از این مطالعه تعیین تغییرات متیلاسیون پروموتر ژن hTERT در بافت معده بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری است.

مواد و روش کار: در این مطالعه مورد–شاهدی ۱۰۰ نمونه شامل ۵۰ نمونه مثبت ازنظرابتلا به هلیکوباکترپیلوری و ۵۰ نمونه منفی ازنظرابتلا به هلیکوباکترپیلوری تهیه گردید. از بافت های تهیه شده DNA استخراج شد. پس از تهیه ژل آگارز و الکتروفورز محصولات PCR، متیلاسیون به روش PCR اختصاصی متیلاسیون بررسی گردید. تحلیل میزان متیلاسیون با استفاده از آزمون sample t-test و ANOVA در محیط نرم افزار SPSS 22 انجام شد.

یافته‌ها: میانگین سنی افراد شرکت کننده ۱٤/۵±٤۵/۳ سال بود و ۵۰ شرکت کننده (۵۰٪) از نظر آلودگی به عفونت هلیکوباکترپیلوری مثبت بودند و ۵۰ شرکت کننده (۵۰٪) از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری منفی بودند. در گروه افراد آلوده از نظر عفونت هلیکوباکتر پیلوری

۵۳ درصد زن و ٤٧ درصد مرد بودند. ٤٠ درصد این گروه مصرف سیگار داشتند و ۳۳ درصد مصرف الکل داشته اند. در گروه کنترل نیز ٤٤ درصد مرد و ٥٦ درصد زن بودند و در این گروه ۳۱ درصد افراد مصرف سیگار و ۱۲ درصد افراد مصرف الکل داشته اند. در این مطالعه بررسی میزان متیلاسیون پروموتر ژن hTERT در افراد گروه بیماران مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری نسبت به افراد گروه کنترل تفاوت معنی داری نشان نداد.

نتیجه گیری: با توجه به اینکه تغییرات متیلاسیون می تواند در مکانیسم های مولکولی ایجاد بیماری دخیل باشد، در این مطالعه، احتمال تاثیر مکانیسم های دیگری به جز متیلاسیون در ایجاد تغییر در ناحیه پروموتر ژن hTERT و در نتیجه آن تغییر بیان ژن hTERT وجود دارد.

کلمات کلیدی: هلیکوباکتری پیلوری، hTERT، گاستریت