

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل
دانشکده پزشکی

پایان نامه جهت دریافت درجه دکترای حرفه ای پزشکی

عنوان:

بررسی غلظت سرمی آنزیم MMP-9

(ماتریکس متالوپروتئیناز)

در مبتلایان به عفونت هلیکوباکتر پیلوری

استاد راهنما:

دکتر مجتبی امانی

استاد مشاور:

آقای غلامحسین اتحاد

نگارش:

ندا پرستار

شماره پایان نامه: ۳۶۴-

بهمن ۱۳۸۹

خداوندا

حمد و سپاس تو را سزااست که مرا یاری نمودی تا قطره ای از دریای بیکران
علومت را بیاموزم و آن را در جهت خدمت به بندگان و رفع آلام دردمندان بکار
بندم. زین پس، بیش از پیش یاری ام کن که بتوانم در ادامه مسیر تحصیل و
زندگی ام سرفراز و موفق و آنگونه که خواسته ای باشم.

تقدیم به

مولای عصر، مولای عشق، صاحب اختیار و هستی ام، طبیب درد و درمانم

حضرت مهدی (عج)

تقدیم به

روح بزرگوار پدر و مادرم، که اگر چه دست تقدیر ناجوانمردانه و زودهنگام مرا
از آغوش پیر از عشق و محبت ایشان محروم کرد و چشمان دلم را تا ابد گریبان گذاشت
، ولی همواره دست یاریگر و نوازشگر شان را از ورای عالم وجود، با تمام وجود،
بر سر و شانه هایم احساس کرده و میکنم.

تقدیم به خانواده مادری ام

مادر بزرگ سربلندم با تمام مهر مادری و صلابت پدری اش
دایی مهربان و فداکارم، ستون همیشه استوار زندگی ام
خاله های عزیزتر از جانم که هرگز محبتشان را از من دریغ نکرده اند و وجودشان
همواره باعث دلگرمی و آرامش من بوده و هست

تقدیم به

زیباترین و دوست داشتنی ترین بهانه های زندگی ام، برادران عزیزم

طاها، سینا و پویا پرستار

تقدیم به

پدر و مادر همسر عزیزم ، دو جواهری که خداوند تبلوری از تمام زیبایی ها ،
مهربانی ها و عظمتش را در وجود ایشان خلاصه کرد ، عاشقانه بر دستان پر مهرشان
که پناهگاه امن و جاودانه ام است ، بوسه می زنم .

تقدیم به همسر نازنینم ، دکتر فرزاد جامعی

فرزاد جان

در پیشگاه خدای مهربان سر بر سجده شکر می گذارم که همسفر زندگی ام توهستی
تو که با وجودت کلبه دلم را گرم و پرنور کردی

محبت را در پاکی نگاهت معنا کردم و صداقت را در وجود مهربانت

بدان که آهنگ زیبای هستی و آرامش زندگی را در کنار وجود مقدس تو احساس

میکنم . . .

تقدیم به

فراز و مینوی عزیزم ، که از صمیم قلب دوستشان دارم و برایشان آرزوی سلامتی ،
موفقیت و خوشبختی دارم .

تقدیم به اساتید ارجمند، اساتید علم و ادبم

جناب آقای دکتر مجتبی امانی و جناب آقای دکتر غلامحسین اتحاد

تقدیم به

دوستان و همکاران گرامی ام که امیدوارم همواره سلامت و موفق باشند:

خانم دکتر الهام توکل، خانم دکتر سولماز جلال زاده، خانم دکتر زهرا محمدزاده،

خانم دکتر زهرا ولی نژاد، خانم دکتر فیروزه افشار، خانم دکتر محدثه صالحی،

آقای دکتر احد فرضی، آقای دکتر رضا رضازاده، آقای دکتر حمید نوتاراج

تقدیم به

جناب آقای دکتر جعفرزاده، جناب آقای دکتر خلیلی، جناب آقای دکتر حسینی،

جناب آقای دکتر پیری و کادر محترم آزمایشگاه مرکزی بیمارستان امام خمینی اردبیل

که در سخت ترین مراحل این طرح صمیمانه همراه و پشتیبان من بودند.

و در پایان

تقدیم به تمام آنهایی که طب را بر بالین آنها آموختم...

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
.....	چکیده.....
	فصل اول - مقدمه
1.....	1-1- مقدمه و بیان مساله.....
3.....	2-1- هلیکوباکتر پیلوری.....
3.....	1-2-1- تاریخچه.....
4.....	2-2-1- مورفولوژی.....
5.....	1-2-3- اشکال کوکوئید.....
6.....	1-2-4- مشخصات بیوشیمیایی.....
6.....	1-2-5- شرایط رشد هلیکوباکتر پیلوری و کشت.....
7.....	1-2-6- اپیدمیولوژی.....
8.....	1-2-7- انتقال.....
9.....	1-2-7-1- انتقال دهانی.....
9.....	1-2-7-2- انتقال مدفوعی.....
9.....	1-2-8- پاتوژنز.....
11.....	1-2-9- عفونت هلیکوباکتر پیلوری.....
12.....	1-2-10- سندرمهای بالینی.....
12.....	1-2-11- تشخیص.....
13.....	1-2-11-1- هیستولوژی.....

- ۱۳-۱-۲-۱۱-۲-وره آز سریع ۱۳
- ۱۳-۱-۲-۱۱-۳-تست تنفسی اوره (UBT) ۱۳
- ۱۴-۱-۲-۱۱-۴-سرولوژی ۱۴
- ۱۴-۱-۲-۱۱-۵-PCR ۱۴
- ۱۴-۱-۲-۱۲-درمان ۱۴
- ۱۷-۱-۳-آنزیم های ماتریکس متالوپروتئیناز (mmps) ۱۷
- ۲۲-۱-۴-آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ (mmp-9) ۲۲
- ۲۴-۱-۵-آنزیم ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ (mmp-9) و ارتباط آن با هلیکوباکتریلوری ۲۴
- ۲۵-۱-۶-اهداف ۲۵
- ۲۵-۱-۶-۱-هدف کلی ۲۵
- ۲۵-۱-۶-۲-هدف اختصاصی ۲۵
- ۲۵-۱-۶-۳-هدف کاربردی ۲۵
- ۲۵-۱-۷-فرضیات و سوالات پژوهشی ۲۵
- فصل دوم: مواد و روشها
- ۲۷-۱-۲-نوع مطالعه ۲۷
- ۲۷-۲-۲-جامعه آماری و روش نمونه گیری و حجم نمونه ۲۷
- ۲۷-۲-۳-ابزار و روش گردآوری اطلاعات ۲۷
- ۲۷-۲-۴-جمع آوری نمونه ها ۲۷
- ۲۸-۲-۵-سنجش آنتی ژن H.P در مدفوع ۲۸
- ۲۸-۲-۵-۱-آماده سازی مدفوع ۲۸

۲۸..... ۲-۵-۲- روش کار

۳۰..... ۳-۵-۲- محاسبه نتایج به روش کیفی

۳۱..... ۴-۵-۲- منحنی استاندارد آنتی ژن H.P

۳۳..... ۶-۲- سنجش آنزیم mmp-9 در سرم

۳۳..... ۱-۶-۲- آماده سازی محلولها و مواد آزمایش

۳۴..... ۲-۶-۲- روش کار

۳۴..... ۳-۶-۲- منحنی استاندارد آنزیم mmp-9

۳۵..... ۷-۲- روش آنالیز و تحلیل داده ها

۳۶..... پرسشنامه تحقیقاتی

فصل سوم: نتایج

۳۸..... گزارش توصیفی

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری

۵۱.....

۵۵..... منابع

..... چکیده ی انگلیسی

فهرست جداول و نمودارها

- جدول ۱-۲- غلظت کالیبراتورها ۲۹
- جدول ۲-۲- جذب نوری بلانک و کالیبراتورها ۳۰
- جدول ۳-۲- بررسی نتایج H.P. ۳۱
- نمودار ۱-۲- منحنی استاندارد آنتی ژن H.P. ۳۲
- نمودار ۲-۲- منحنی استاندارد آنزیم mmp-9 ۳۵
- جدول ۱-۳- توزیع فراوانی سنی و جنسی در افراد مورد مطالعه ۳۸
- جدول ۲-۳- توزیع فراوانی مصرف سیگار در افراد مورد مطالعه ۳۹
- جدول ۳-۳- توزیع فراوانی بیماری خاص در افراد مورد مطالعه ۴۰
- جدول ۴-۳- توزیع فراوانی شغلی در افراد مورد مطالعه ۴۱
- جدول ۵-۳- توزیع فراوانی قد و وزن و BMI در افراد مورد مطالعه ۴۲
- جدول ۶-۳- توزیع فراوانی ابتلا به عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۳
- جدول ۷-۳- ارتباط سن با عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۴
- جدول ۸-۳- ارتباط جنس با عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۵
- جدول ۹-۳- ارتباط قد و وزن و BMI با عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۷
- جدول ۱۰-۳- ارتباط سیگار و بیماری خاص با عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۸
- جدول ۱۱-۳- ارتباط شغل با عفونت H.P. در افراد مورد مطالعه ۴۹
- جدول ۱۲-۳- میانگین میزان آنزیم mmp-9 در افراد H.P. مثبت و منفی ۵۰
- نمودار ۱-۳- میانگین میزان آنزیم mmp-9 در افراد H.P. مثبت و منفی ۵۰

فهرست علائم اختصاری

- PAF:** Platelet Activating Factor
DNA: Deoxyribonucleic Acid
MALT: Mucosa Associated Lymphoid Tissue
RNA: Ribonucleic Acid
PCR: Polymerase Chain Reaction
FDA: Food and Drug Administration
GERD: Gastroesophageal Reflux Disease
H.pylori: Helicobacter pylori
MMP: Matrix Metalloproteinase
MT-MMP: Membrane-type Matrix metalloproteinase
ECM: Extracellular Matrix
TIMP: Tissue Inhibitors of Metalloproteinase
P-APMA: P-amino Phenyl Mercuric Acetate
EGF: Epidermal Growth Factor
IGF: Insulin-like Growth Factor
TGF- β : Transforming Growth Factor- β
bFGF: Basic Fibroblast Growth Factor
VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor
N.K CELL: Natural Killer Cell
IBD: Inflammatory Bowel Disease
UPA: Urokinase Plasminogen Activator
TNF- α : Tumor Necrosis Factor- α
IL : Interleukin

چکیده

مقدمه: هلیکوباکتریپیلوری یک باکتری گرم منفی است که در مخاط معده کلونیزه شده و موجب طیف وسیع عوارض گوارشی از گاستریت خفیف تا سرطان معده میشود. و-mmp آنزیمی با فعالیت پروتئازی است که نقش مهمی در مهاجرت سلولهای سرطانی و ایجاد متاستاز دارد. با توجه به شیوع بالای سرطان معده در اردبیل مطالعه حاضر با این سوال مهم که آیا افزایش آنزیم و-mmp در سطح سرمی قبل ایجاد سرطان معده بواسطه عفونت با H.P. اتفاق می افتد یا نه؟ انجام پذیرفت.

مواد و روشها: ۲۰۰ نفر افراد سالم در این بررسی به صورت تصافی مورد مطالعه قرار گرفتند. از این افراد همزمان نمونه خون جهت سنجش آنزیم و-mmp در سرم و نمونه مدفوع جهت سنجش آنتی ژن H.P. و تعیین آلودگی به عفونت هلیکوباکتریپیلوری تهیه گردید. نمونه ها تا زمان انجام آزمایشات در دمای ۷۰- درجه نگهداری شدند. سپس با استفاده از کیت‌های مربوطه با روش الیزا نمونه های سالم و مبتلا به H.P. شناسایی و غلظت آنزیم و-mmp در همه نمونه ها سنجیده شد.

نتایج: نتایج حاصله بیانگر افزایش سطح سرمی آنزیم و-mmp در افراد مبتلا به عفونت هلیکوباکتریپیلوری (میانگین: $38/22 \pm 8/65$) نسبت به افراد سالم (میانگین: $34/77 \pm 11/76$) می باشد هرچند این افزایش معنی دار نیست.

بحث: در مطالعات قبلی افزایش غلظت و-mmp در نمونه‌های بافتی تهیه شده از معده افراد مبتلا به H.P. مشاهده شده است. مطالعه حاضر بیانگر افزایش غلظت و-mmp در سطح سرمی است ولی این افزایش معنی دار نمی باشد. اختلاف نتایج با گزارشات قبلی می تواند ناشی از تفاوت‌های نژادی، سوش H.P.، نحوه نمونه برداری و تشخیص ابتلا به H.P. باشد. لذا پیشنهاد می شود در آینده مطالعه‌ی مشابهی با توجه به این تفاوتها انجام شود.

کلید واژه ها: هلیکوباکتریپیلوری، و-mmp، سرطان معده، آنتی ژن مدفوعی هلیکوباکتریپیلوری

فصل اول:

مقدمه

۱-۱- مقدمه :

. سرطان معده دومین سرطان شایع در سطح جهان می باشد ولی شیوع آن در کشورهای مختلف متفاوت است. میزان شیوع سرطان معده در مناطق و نژادهای مختلف یک کشور خاص نیز متفاوت می باشد. به طور مثال در مناطق شمال غرب ایران (اردبیل) به طور بارز شایع تر از مناطق مرکزی کشور (یزد) می- باشد (۱).

نتایج مطالعات مختلف حاکی از آن است که اپیدمیولوژی عفونت با *H.pylori* مشابه اپیدمیولوژی سرطان معده می باشد و همچنین افزایش بروز سرطان معده به دنبال عفونت با *H.pylori* حدود ۴ برابر گزارش شده است (۱). عفونت مزمن با هلیکوباکتریپیلوری موجب آتروفی مخاطی، متاپلازی روده ای، دیسپلازی و در نهایت سرطان معده می شود (۲). همچنین این باکتری ارتباط نزدیک و شناخته شده ای با چند فرایند آسیب شناختی در دستگاه گوارش فوقانی دارد که از آن جمله می توان گاستریت فعال مزمن، اولسرپپتیک، لنفوم اولیه معده و کانسر معده را نام برد (۳).

سرطان بیماری بسیار پیچیده ای است که اغلب با به هم خوردن و از تنظیم خارج شدن تنظیمات هموستاتیک داخل سلولی و بین سلولی شروع می شود و در مراحل بعدی و پیشرفته شدن سرطان و متاستاز آن، علاوه بر به هم خوردن این مسیرهای مولکولی، هضم ترکیبات ماتریکس سلولی و بر هم کنش سلول مهاجم با بافت هدف برای جایگزینی آن و متاستاز به بافت جدید لازم است (۴).

پیشرفت سرطان به طور بسیار شدیدی بقاء بیمار را به خطر می اندازد و استراتژی های درمانی را با شکست مواجه می کند. برای تهاجم، سلولهای سرطانی ابتدا باید به غشای پایه نفوذ کنند و سد ماتریکس خارج سلولی را از بین ببرند. در این مرحله آنزیم های پروتئاز دارای نقش بسیار مهمی هستند که با هضم ماتریکس خارج سلولی و ترکیبات آن باعث تسهیل متاستاز سلولهای سرطانی به بافتهای