بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه تبریز

دانشکده علوم طبیعی

گروه علوم جانوری

پایان‌نامه :

برای دریافت درجه کارشناسی‌ارشد در رشته زیست‌شناسی گرایش بیوشیمی

موضوع :

بررسی ارتباط آلل‌های d1,d2 ژن *vacA هلیکوباکترپیلوری* با آدنوکارسینومای معده

استادان راهنما :

دکتر رضا صفرعلیزاده

دکتر مرتضی جبارپور بنیادی

استادان مشاور :

دکتر محمدحسین صومی

دکتر مجید مهدوی

پژوهشگر :

زینب بصیری داشکسن

شهریور ماه ۱۳۹۲

تقدیم به

پدر و مادر بزرگوارم

فداکارم

خواهر و برادران عزیز و مهربانم

به پاس تمام فداکاریها و شکیبایی هایشان

«یا من اسمه دواو ذکره شفاء»

شکر و سپاس بی پایان مخصوص خدایی است که بشر را آفریده و به او قدرت اندیشیدن داده و توانایی‌هایی بالقوه را در وجود انسان قرار داده و او را امر به تلاش و کوشش نموده و راهنمایی را برای هدایت بشر فرستاده است.

پس از ارادت خاضعانه به درگاه خداوند بی همتا، از راهنمایی‌های استادان راهنمای ارجمند جناب آقای دکتر رضا صفر علیزاده و دکتر مرتضی جبارپور بنیادی که در تمام مراحل اجرا و نگارش این پایان نامه همواره از تدابیر خردمندانه و یاری بی دریغشان بهره مند بودم، تشکر و قدردانی می نمایم.

بی شک این مقوله بی شور و مشورت با اساتید محترم مقدور و میسر نبود، بنابراین بجا است که از مشاوره ها و راهنمایی‌های استادان بزرگوار جناب آقای دکتر محمد حسین صومی و دکتر مجید مهدوی کمال سپاس را ابراز دارم.

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر محمد علی حسینپور فضنی که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را تقبل نموده و موجب پربار شدن آن شده اند تشکر می کنم.

از مدیریت محترم گروه جناب آقای دکتر سید مهدی بانان خجسته بخاطر همکاری صمیمانه شان در طول اجرای این تحقیق سپاسگذارم.

از تمامی اساتید محترم گروه ژنتیک و بیوشیمی که حق استادی بر گردن این جانب داشته و افتخار کسب علم و ادب را در محضرشان داشته ام، قدردانی می نمایم.

از زحمات و تلاش مدیریت محترم مرکز تحقیقات گوارش و کبد بیمارستان امام رضا (ع) جناب آقای دکتر محمد حسین صومی، تمامی کارکنان بخش آمدو سکوپی و تمامی بیمارانی که صمیمانه با ما همکاری داشتند کمال سپاس را ابراز دارم.

از زحمات و راهنمائی های صمیمانه دکتر میری نژاد، دکتر لطیفی نوید، دکتر افتخار السادات، دکتر مودب، دکتر نقاشی، دکتر بوستانی و دکتر آزادبخت سپاسگذارم.

از مدیریت محترم آزمایشگاه ژنتیک بیمارستان امام رضا (ع) جناب آقای دکتر مرتضی جبارپور بنیادی و کارشناسان محترم این آزمایشگاه جناب آقای رضا عبدالمحمدی که حق استادی بر گردن ایشان دارند به خاطر راهنمائی های بی دریغشان و خانم سوسن گرامی و همچنین از کارشناسان محترم آزمایشگاه ژنتیک پزشکی دکتر بنیادی جناب آقای شیخ زادگان و خانم لشکری سپاسگذارم.

از دوست عزیزم بتول مقتی، از همه هم کلاسی ها و هم آزمایشگاهی های عزیزم بخاطر یاری این جانب به طور صمیمانه سپاسگذارم.

در پایان از دو شمع فروزان زندگیم، پدر و مادر عزیز و بزرگوارم به پاس فداکاریها، گذشتها، صبر و بردباریشان تشکر نموده و بر دستان پر مهرشان بوسه می زنم.

زینب بصیری دانشکن شهریور ۹۲

نام: زینب نام خانوادگی: بصیری داشکسن

موضوع: بررسی ارتباط آلل‌های d1,d2 ژن *vacA* *هلیکوباکترپیلوری* با آدنوکارسینومای معده

استادان راهنما: دکتر رضا صفرعلیزاده و دکتر مرتضی جبارپور بنیادی
استادان مشاور: دکتر محمدحسین صومی و دکتر مجید مهدوی

درجه: کارشناسی ارشد رشته: زیست‌شناسی گرایش: بیوشیمی
دانشگاه: دانشگاه تبریز دانشکده: علوم طبیعی تاریخ فراغت از تحصیل: ۱۳۹۲/۶/۱۷
تعداد صفحات پایان‌نامه: ۱۲۵

واژگان کلیدی: آدنوکارسینومای معده، هلیکوباکترپیلوری و آلل‌های d1,d2 ژن *vacA*

چکیده:

زمینه تحقیق: سرطان معده (با ۹۰٪ آدنوکارسینوما)، چهارمین سرطان شایع دنیا و دومین علت مرگ‌ومیر (سالیانه ۷۰۰۰۰۰ نفر) در اثر سرطان می‌باشد. بعد از اینکه آژانس بین‌المللی تحقیقات در سرطان، در سال ۱۹۹۴ عفونت *HP* را در رده‌ی اول سرطان‌زاها قرار داد، آدنوکارسینومای معده یک نوع بیماری عفونی در نظر گرفته شد. در میان سویه‌های متفاوت هلیکوباکترپیلوری تنوع ژنتیکی وجود دارد. بنابراین تشخیص سویه‌هایی که باعث افزایش سرطان معده می‌شوند ضروری می‌باشد. هلیکوباکترپیلوری از فاکتورهای بیماریزایی گسترده‌ای جهت غلبه بر مکانیسم‌های دفاعی میزبان استفاده می‌کند. چنانچه نشان داده شده است این فاکتورها نقش مهمی در تعیین بیماریزایی هلیکوباکترپیلوری دارند. یکی از فاکتورهای مستقل هلیکوباکترپیلوری که منجر به افزایش بیماری می‌شود، سیتوتوکسین واکوئله‌کننده (*vacA*) می‌باشد که پروتئین *VacA* سمی ترشحی را کد می‌کند. تنوع در میزان سمیت این پروتئین به تنوع اللی در سه ناحیه موجود در ژن *vacA* نسبت داده می‌شود: ناحیه پپتید نشانه (s)، میانی (m) و حدواسط (i) که هر کدام دارای دو آلل مختلف شامل s1,s2، m1,m2 و i1,i2 می‌باشند. مطالعه‌ای اخیرا نشان داده ناحیه چهارم و مرتبط با ایجاد بیماری‌ها ناحیه‌ای حذفی d می‌باشد که بین دو ناحیه i و m واقع شده است. ناحیه d می‌تواند به دو زیرواحد d1 (بدون حذف) که به عنوان ریسک فاکتور سرطان معده در سویه‌های غربی شناخته شده، و d2 (با حذف ۶۹ تا ۸۱ جفت‌باز) تقسیم شود.

هدف: آیا آلل d1 ژن *vacA* می‌تواند به عنوان نشانگر آدنوکارسینومای معده و بیماری زخم پپتیک در بیماران مراجعه‌کننده به بیمارستان امام رضا (ع) در نظر گرفته شود؟

روش: نمونه‌های بیوپسی از ناحیه آنتروم ۱۱۵ بیمار با بیماریهای مختلف معده-دوازدهه جمع‌آوری شد (هیچ‌یک از بیماران حداقل سه ماه قبل آندوسکوپی از داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی یا داروهای استروئیدی استفاده نکرده بودند). بر اساس بررسی‌های بافت‌شناسی و یافته‌های آندوسکوپی از ۱۱۵ بیمار، ۱۶ بیمار دارای زخم‌پپتیک، ۶۵ بیمار دارای التهاب (افرادی که دچار زخم پپتیک و بدخیمی معده

نبودند) و ۳۴ نفر دارای سرطان معده بودند. از ۳۴ فرد سرطانی، ۳۰ فرد دارای آدنوکارسینومای معده بودند که از این ۳۰ نفر، ۲۷ نفر دارای آدنوکارسینومای نوع روده‌ای و ۳ نفر دارای آدنوکارسینومای نوع منتشر بودند.

ژنوتیپ ناحیه d ژن *vacA* در ۸۳ سویه جدا شده از بیمارانی با ناراحتی‌های مختلف معده-دوازدهه با روش PCR تعیین گردید.

نتایج: آنالیز داده‌ها با استفاده از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS انجام گرفت و P value کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار در نظر گرفته شد. نتایج تست‌های کای دو (X^2) و فیشر و نیز آنالیزهای رگرسیون چندگانه خطی و رگرسیون چندگانه لجستیک نشان داد که ارتباط معنی‌داری بین آدنوکارسینومای معده و زخم معده با ژنوتیپ ناحیه *vacA* d1 هلیکوباکترپیلوری در بیماران مبتلا به آدنوکارسینومای معده و زخم پپتیک وجود دارد.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌کند که ژنوتیپ *vacA* d1 (یک نشانگر جدید سرطان معده) مارکر مفیدی جهت پیش‌گویی آدنوکارسینومای معده، زخم معده در منطقه آذربایجان، ایران می‌باشد.

فهرست مطالب

مقدمه ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱ هلیکوباکتر پیلوری ۵

۱-۱-۱ تاریخچه کشف ۵

۱-۱-۲ میکروبیولوژی ۷

۱-۲ معده ۱۰

۱-۲-۱ آناتومی دستگاه گوارش و معده ۱۰

۱-۲-۲ فیزیولوژی معده ۱۱

۱-۲-۳ محل کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری ۱۱

۱-۳ هلیکوباکترپیلوری و بیماری‌ها ۱۲

۱-۳-۱ اپیدمیولوژی ۱۲

۱-۳-۲ مخازن و راههای انتقال عفونت هلیکوباکترپیلوری ۱۳

۱-۳-۲-۱راههای انتقال هلیکوباکترپیلوری ۱۳

۱-۳-۲-۲ منابع آلودگی ۱۴

۱-۳-۲-۲-۱ فقر (وضعیت اقتصادی-اجتماعی پائین) ۱۴

۱-۳-۲-۲-۲ تماس شخص به شخص ۱۴

۱-۳-۲-۲-۳ تعداد افراد خانواده ۱۶

۱-۳-۲-۲-۴ فقر بهداشت و مواد غذایی آلوده ۱۶

۱-۳-۲-۲-۵ آب آشامیدنی ۱۶

۱-۳-۲-۲-۶ حشرات ۱۶

۱-۳-۳ پاسخ ایمنی به کلونیزه شدن هلیکوباکترپیلوری ۱۶

۱-۳-۳-۱سیستم ایمنی ذاتی ۱۷

۱-۳-۳-۲ سیستم ایمنی تطبیقی ۲۱

۱-۳-۳-۳ آسیب به سلول‌های نرمال ۲۳

۱-۳-۳-۴ سیستم ایمنی نمی‌تواند باعث حذف کامل هلیکوباکترپیلوری شود ۲۳

۱-۳-۳-۵ چگونه هلیکوباکتر پیلوری از سیستم ایمنی فرار می‌کند؟ ۲۳

۱-۳-۳-۵-۱ تولید پروتئین‌های سمی ۲۴

۱-۳-۳-۵-۱-۱ پروتئین *cagA* ۲۴

۱-۳-۳-۵-۱-۲ پروتئین *vacA* ۲۴

۱-۳-۳-۵-۱-۳ آنزیم آرژیناز ۲۴

۱-۳-۳-۵-۲ عمل به صورت انگل داخل سلولی ۲۵

۱-۳-۳-۵-۲-۱ داخل سلول‌های ایمنی ۲۵

۱-۳-۳-۵-۲-۲ داخل سلول‌های اپیتلیال ۲۵

۱-۴ جنبه‌های بالینی بیماری‌های مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری ۲۶

۱-۴-۱بیماری‌ها و اختلالات خارج از دستگاه گوارش ۲۶

۱-۴-۱-۱پورپورای ناشناس کاهش پلاکت (ITP) ۲۶

۱-۴-۱-۲ کم‌خونی فقر آهن (IDA) ۲۷

۱-۴-۱-۲-۱ مکانیسم‌های عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۲۷

۱-۴-۱-۲-۱-۱ از دست دادن خون در اثر خونریزی‌های معده ۲۷

۱-۴-۱-۲-۱-۲ کاهش توانایی جذب آهن توسط میزبان ۲۸

۱-۴-۱-۲-۱-۳ کاهش مقدار آهن قابل جذب توسط مخاط معده ۲۸

۱-۴-۱-۳ بیماری‌های قلبی-عروقی ۲۹

۱-۴-۱-۴ آسم ۲۹

۱-۴-۱-۵ التهاب روده (IBD) ۲۹

۱-۴-۱-۶ بیماری بهجت ۲۹

۱-۴-۲ بیماری‌ها و اختلالات دستگاه گوارش ۳۰

۱-۴-۲-۱ الگوهای التهاب ۳۰

۱-۴-۲-۱-۱ فنوتیپ التهاب ساده یا خوش‌خیم ۳۰

۱-۴-۲-۱-۲ فنوتیپ زخم دوازدهه ۳۰

۱-۴-۲-۱-۳ فنوتیپ سرطان معده ۳۱

۱-۴-۲-۲ زخم پپتیک ۳۱

۱-۴-۲-۳ لنفومای MALT معده ۳۱

۱-۴-۲-۴ بیماری رفلکس معده-مری (GERD) ۳۲

۱-۴-۲-۵ سرطان معده و ارتباط آن با هلیکوباکترپیلوری ۳۲

۱-۴-۲-۵-۱ اپیدمیولوژی ۳۲

۱-۴-۲-۵-۲ تقسیم‌بندی سرطان معده: ۳۳

۱-۴-۲-۵-۲-۱محل آناتومیک تومور ۳۳

۱-۴-۲-۵-۲-۲ بافت شناسی تومور (سیستم لورن) ۳۴

۱-۴-۲-۵-۲-۲-۱ آدنوکارسینومای نوع منتشر ۳۴

۱-۴-۲-۵-۲-۲-۲ آدنوکارسینومای نوع روده‌ای ۳۴

۱-۴-۲-۵-۲-۲-۲-۱ مراحل ایجاد کننده آدنوکارسینومای نوع روده‌ای ۳۵

۱-۵ فاکتورهای تعیین کننده نتیجه عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۳۶

۱-۵-۱ فاکتورهای ژنتیکی میزبان ۳۷

۱-۵-۲ فاکتورهای محیطی ۳۸

۱-۵-۲-۱رژیم غذایی و جنبه‌های تغذیه ۳۸

۱-۵-۲-۲ میوه و سبزیجات ۳۹

۱-۵-۲-۳ مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها ۳۹

۱-۵-۲-۴ مصرف بالای غذاهای پرنمک، سرخ کرده و گوشت قرمز ۳۹

۱-۵-۲-۵ مصرف الکل/ تنباکو ۳۹

۱-۵-۲-۶ وضعیت اقتصادی- اجتماعی فرد در دوران کودکی ۴۰

۱-۵-۳ فاکتورهای بیماریزایی هلیکوباکتر پیلوری ۴۰

۱-۵-۳-۱مقاومت اسیدی ۴۱

۱-۵-۳-۲ تحرک ۴۱

۱-۵-۳-۲-۱ حرکت هدایت شونده هلیکوباکتر پیلوری ۴۲

۱-۵-۳-۲-۲ مارپیچی‌شکل بودن باکتری ۴۲

۱-۵-۳-۲-۳ کلاژناز ۴۲

۱-۵-۳-۳ غشای خارجی هلیکوباکترپیلوری ۴۲

۱-۵-۳-۳-۱ لیپوپلی‌ساکارید (LPS) ۴۲

۱-۵-۳-۳-۲ فضای پری‌پلاسمیک ۴۳

۱-۵-۳-۳-۲-۱ آنزیم اوره‌آز ۴۳

۱-۵-۳-۳-۲-۲ آنزیم α-کربونیک انیدراز ۴۴

۱-۵-۳-۴ چسبندگی و پروتئین‌های غشای خارجی ۴۴

۱-۵-۳-۵ سایتوتوکسین همراه با ژن A (cagA) و جزایر بیماریزای cag (PAI) ۴۵

۱-۵-۳-۶ ژن پیش‌برنده زخم دوازدهه (*dupA*) ۴۷

۱-۵-۳-۷ تحریک شونده در اثر تماس با اپیتلیوم A (*IceA*) ۴۷

۱-۵-۳-۸ پروتئین *vacA* (سیتوتوکسین واکوئله کننده) ۴۷

۱-۵-۳-۸-۱ پلی‌مورفیسم *vacA* ۵۱

۱-۵-۳-۸-۲ تاثیر *vacA* بر روی سلول‌های اپیتلیالی ۵۲

۱-۵-۳-۸-۲-۱ تغییرات نفوذپذیری غشاء سلول‌های اپیتلیالی ۵۲

۱-۵-۳-۸-۲-۲ ایجاد منفذ در غشای سلول‌های اپیتلیالی ۵۳

۱-۵-۳-۸-۲-۳ تشکیل واکوئل در سلول‌های اپیتلیالی ۵۳

۱-۵-۳-۸-۲-۴ آپوپتوز ۵۳

۱-۵-۳-۸-۳ تاثیر *vacA* بر روی سلول‌های سیستم ایمنی ۵۳

۱-۵-۳-۸-۳-۱ مهار ارائه آنتی‌ژن‌ها توسط لنفوسیتT ۵۴

۱-۵-۳-۸-۳-۲ مهار تکثیر لنفوسیت‌های موجود در خون ۵۴

۱-۵-۳-۸-۳-۳ مهار بیان گیرنده IL-2Rα ۵۴

۱-۶ ارتباط سرطان معده با ژنوتیپ *vacA* d1 هلیکوباکتر پیلوری ۵۵

۱-۶-۱ شیوع سرطان معده در دنیا ۵۵

۱-۶-۲ شیوع سرطان معده در ایران ۵۶

۱-۶-۳ شیوع سرطان معده در آذربایجان شرقی ۶۰

۱-۶-۳-۱-۱ ارتباط *vacA* با بیماری‌ها در مدلهای حیوانی و در انسان ۶۰

۱- ۷ لزوم انجام مطالعه ۶۳

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱ تجهیزات و لوازم مورد استفاده ۶۵

۲-۲ مواد ۶۶

۲-۲-۱ مواد مصرفی عمومی ۶۶
۲-۲-۲ مواد مصرفی شیمیایی ۶۷
۲-۲-۳ مواد مصرفی بیولوژیک ۶۸
۲-۳ محلولها ۶۸
۲-۳-۱ محلولهای لازم جهت تست‌های تشخیصی ۶۸
۲-۳-۱-۱ محلول تست‌اوره‌آز ۶۸
۲-۳-۱-۲ محلول فرمالین ۱۰٪ ۶۸
۲-۳-۲ محلولهای لازم جهت استخراج ۶۹
۲-۳-۲-۱ ایزوپروپانول(در دمای پایین) ۶۹
۲-۳-۲-۲ اتانل ۷۰٪ ۶۹
۲-۳-۳ محلولهای لازم جهت واکنش PCR: ۶۹
۲-۳-۳-۱ بافر ۱۰X PCR ۶۹
۲-۳-۳-۲ آغازگرها ۶۹
۲-۳-۴ محلولهای لازم جهت الکتروفورز کردن DNA ۷۰
۲-۳-۴-۱ بافر الکتروفورز TAE ۷۰
۲-۳-۴-۲ بافر بارگذاری DNA در ژل ۷۰
۲-۳-۴-۳ محلول اتیدیوم بروماید ۷۰

۲-۴ تهیه نمونه‌های بافت ۷۱

۲-۴-۱ محل مطالعه و اطلاعات بیماران ۷۱

۲-۵ تست‌های تشخیص آلودگی هلیکوباکترپیلوری ۷۲

۲-۵-۱ تست‌های تشخیصی به کار رفته در این مطالعه ۷۳

۲-۵-۱-۱ تست اوره‌آز یا RUT (Rapid urease test) ۷۳

۲-۵-۱-۲ بافت شناسی (Histology) ۷۴

۲-۵-۱-۳ روش های مولکولی (Molecular methods) ۷۵

۲-۶ استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت DNP□□ kit و کیت DNG□□ -plus ۷۵

۲-۶-۱ کیت DNP™ ۷۵

۲-۶-۲ کیت DNG□□ -plus ۷۶

۲-۷ تعیین کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ۷۸

۲-۷-۱ تعیین کیفیت DNA استخراج شده ۷۸

۲-۷-۱-۱ روش الکتروفورز روی ژل آگارز ۷۸

۲-۷-۲ تعیین کمیت DNA استخراج شده ۷۸

۲-۷-۲-۱ روش اسپکتروفتومتری ۷۸

۲-۸ بررسی پلی‌مورفیسم با روش PCR ۷۹

۲-۸-۱ واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) ۷۹

۲-۸-۲ برنامه دمایی تکثیر پس از بهینه‌سازی ۸۰

۲-۸-۳ تهیه ژل آگارز و الکتروفورز محصولات PCR ۸۰

۲-۸-۴ رنگ آمیزی با اتیدیوم برماید و عکسبرداری از ژل ۸۱

۲-۹ بررسی آلل‌های d1 وd2 ژنvacA (بررسی پلی‌مورفیسم d) ۸۲

۲-۱۰ بررسی آماری ۸۴

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱ نتایج ۸۷

۳-۱-۱ نتایج حاصل از نمونه‌گیری ۸۸

۳-۱-۲ نتایج حاصل از تستهای تشخیص آلودگی هلیکوباکترپیلوری ۸۸

۳-۱-۳ نتایج حاصل از آندوسکوپی و بافت‌شناسی ۸۹

۳-۱-۴ تائید اختصاصیت پرایمرها ۹۰

۳-۱-۵ نتایج حاصل از تکنیک PCR ۹۱

۳-۱-۶ فراوانی کلی آلل‌های d1 و d2 ..... ۹۲

۳-۱-۷ فراوانی آلل‌های d1 و d2 به تفکیک بیماریها ۹۳

۳-۱-۸ نتایج آنالیزهای کای-اسکوئر (χ^2) و فیشر ۹۴

۳-۱-۹ نتایج آنالیز رگرسیون چندگانه خطی ۹۴

۳-۱-۱۰ نتایج آنالیز رگرسیون چندگانه لجستیک ۹۵

۳-۱-۱۱ بررسی فراوانی آدنوکارسینومای نوع روده‌ای ۹۶

۳-۱-۱۲ بررسی فراوانی آدنوکارسینومای نوع منتشر ۹۷

۳-۱-۱۳ بررسی فراوانی لنفومای MALT ۹۷

۳-۱-۱۳-۱-۱ بررسی فراوانی سرطان کارسینوما ۹۸

۳-۱-۱۴ مقایسه فراوانی انواع سرطانهای معده ۹۹

۳-۱-۱۵ بررسی ارتباط گاستریت، زخم معده و سرطان معده با آلودگی هلیکوباکترپیلوری ۱۰۰

۳-۱-۱۵-۱ فنوتیپ التهاب ساده ۱۰۰

۳-۱-۱۵-۲ فنوتیپ زخم دوازدهه ۱۰۰

۳-۱-۱۵-۳ فنوتیپ سرطان معده ۱۰۰

۳-۲ بحث ۱۰۱

فصل چهارم: نتیجه‌گیری و پیشنهادات

۴-۱ نتیجه‌گیری ۱۰۸

۴-۲ پیشنهادات ۱۰۹

فهرست اشکال

شکل ۱-۱: هلیکوباکترپیلوری یک باسیل گرم‌منفی، هوازی، تاژکدار و مارپیچی‌شکل می‌باشد. ۸

شکل ۱-۲: معده و مواد تولید شده توسط بخشهای مختلف آن ۱۰

شکل ۱-۳: بافت‌شناسی معده نشاندهنده ساختار بافتی نواحی مختلف معده و انواع سلولهای مرتبط با عملکردهای عمده معده می‌باشد. ۱۲

شکل ۱-۴: انتقال هلیکوباکترپیلوری در بین اعضای خانواده ۱۵

شکل ۱-۵: پیام ایجاد شده توسط PAMPsهای باکتریایی در نهایت باعث ایجاد التهاب و پاسخ ایمنی ذاتی می‌شود ۱۹

شکل ۱-۶: نوتروفیلها وارد بافتهای آسیب دیده می‌شوند. ۲۱

شکل ۱-۷: مراحل فاگوسیتوز شدن هلیکوباکترپیلوری توسط ماکروفاژ ۲۲

شکل ۱-۸: عفونت هلیکوباکترپیلوری باعث تشکیل اتوآنتی‌بادیهایی بر علیه پلاکتها می‌شود ۲۷

شکل ۱-۹: عفونت هلیکوباکترپیلوری باعث کاهش مقدار آهن قابل جذب توسط مخاط معده می‌شود. ۲۸

شکل ۱-۱۰: مراحل ایجاد کننده آدنوکارسینومای نوع روده‌ای ۳۶

شکل ۱-۱۱: فاکتورهای ژنتیکی میزبان، فاکتورهای محیطی و فاکتورهای ویرولانسی هلیکوباکترپیلوری تعیین کننده نتیجه عفونت هلیکوباکترپیلوری می‌باشند. ۳۷

شکل ۱-۱۲: هلیکوباکترپیلوری دارای فاکتورهای ویرولانسی زیادی نظیر آنزیم اوره‌آز، تاژک، پروتئینهای چسبندگی، پروتئینهای vacA وcagA میباشد که باعث کلونیزه شدن و غالب آمدن این باکتری بر مکانیسم دفاعی میزبان می‌شود. ۴۰

شکل ۱-۱۳: سلولهای هلا غیر عفونی با هلیکوباکترپیلوری(سمت چپ) و عفونی (سمت راست). تشکیل واکوئلها در سلولهای عفونی باعث تخریب این سلولها می‌شود. ۴۸

شکل ۱-۱۴: VacA یک ژن پلیمورفیک بوده که یک پروتئین اتوترانسپورتر را کد میکند. این پروتئین دارای سه قسمت N-ترمینال، C-ترمینال و دومین مرکزی بوده که در پی عبور از غشای هلیکوباکترپیلوری قسمت N-ترمینال و C-ترمینال حذف شده و دومین مرکزی پروتئین بالغ را تشکیل می‌دهد. ۴۹

شکل ۱-۱۵: الیگومرهای vacA ۵۰

شکل ۱-۱۶: غشای یک سلول اپیتلیالی که در معرض *vacA* قرار گرفته شده است. خطوط نشاندهنده یک هگزامر *vacA* با قطر 28nm می‌باشد. ۵۰

شکل ۱-۱۷: ژن *VacA* دارای پلیمورفیسم‌هایی در نواحی پپتید نشانه (s)، میانی (m)، حد واسط (i) و ناحیه حذفی (d) می‌باشد. ۵۱

شکل ۱-۱۸: vacA دارای اعمال متنوعی بر روی سلولهای اپیتلیالی معده و سلولهای سیستم ایمنی میباشد. که از آن جمله میتوان به تشکیل واکوئل در سلولهای اپیتلیال معده، تغییر نفوذپذیری غشا، به راه اندازی مسیرهای آپاپتوز اشاره کرد. ۵۴

شکل ۱-۱۹: شیوع سرطان در آسیا، شمال و شرق آفریقا، غرب و شرق اروپا، آمریکای شمالی و استرالیا بالا می‌باشد. ۵۶

شکل ۱-۲۰: مقایسه میزان بروز تطبیق داده شده سنی (ASR) در مردان در هر صد هزار نفر در ایران و جهان ۵۷

شکل ۱-۲۱: میزان بروز مرگ و میر ناشی از سرطان در ایران ۵۸

شکل ۱-۲۲: شیوع سرطان معده در آقایان با توجه به ASMR در سالهای ۲۰۰۵-۲۰۰۴ ..... ۵۹

شکل ۱-۲۳: آنالیز فیلوژنتیکی هفت ژن Housekeeping در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از کشورهای همسایه مختلف ،سویه‌های مختلف را شناسایی و تحت نامهای hpAfrica2، hpAfrica1،

hpEAsia ،hpAsia2 ،(hpEurope2 and hpEurope1) hpEurope ،hspNEAfrica،
hpMaori and hpAmerind طبقه‌بندی کرده‌اند. نشان داده شده کـه سـویه‌هـای ایرانـی دارای منشـاء اروپایی میباشند. رنگها نشان دهنده منشاء باکتریایی می‌باشند. ۶۲
شکل ۲-۱: قسمتی از ژن vacA به طول (رنگ قرمز نشان دهنده‌ی محل پرایمرها هستند) ۸۲
شکل ۳-۱: الکتروفورز محصول PCR آللهای d1 و d2 ژن vacA در ژل آگارز ۱/۲ ٪ ، چاهک ۱- کنتـرل منفی، چاهک ۲-آلل d2، ۳- آلل d1، ۴-Ladder DNA و چاهک ۵-آلل d1 وd2 ..... ۹۰
شکل ۳-۲: الکتروفورز محصول PCR آللهای d1 و d2 ژن vacA در ژل آگارز ۱/۲ ٪ ، چاهک ۱- کنتـرل منفی (آب دوبار تقطیر شده)، چاهک ۲-آلل d1 (کنترل مثبـت)، چاهـک۳ – آلـل d2 (کنتـرل مثبـت)، چاهک ۵،۴ و ۶- آلل d2، چاهک ۷- کنترل منفی (نمونه هلیکوباکترپیلوری منفی) و چاهک ۸- Ladder DNA ۹۱
شکل ۳-۳: الکتروفورز محصـول PCR آللهـای d1 و d2 ژن vacA و کنتـرل داخلـی 16S rDNA در ژل آگارز ۱/۲٪ ، چاهک ۱- کنتزل منفی، چاهک ۲- آلـل d1 و کنتـرل داخلـی، چاهـک ۳ و ۴ – آلـل d2 و کنترل داخلی، چاهک ۵- کنترل داخلی، چاهک ۶ و ۷ – نمونه هلیکوبـاکترپیلوری منفـی و چاهـک ۸ – Ladder DNA ۹۲
شکل ۳-۴: بررسی فراوانی d1 و d2 در منطقه آذربایجان (ایران) ۹۳
شکل ۳-۵: بررسی فراوانی آللهایd1 و d2 به تفکیک بیماریها در منطقه آذربایجان (ایران) ۹۳
شکل ۳-۶: مقایسه آدنوکارسینومای نوع روده‌ای با سایر سرطانهای معده ۹۶
شکل ۳-۷: مقایسه آدنوکارسینومای نوع منتشر با سایر سرطانهای معده ۹۷
شکل ۳-۸: مقایسه سرطان لنفومای مالت با سایر سرطانهای معده ۹۸
شکل ۳-۹: مقایسه سرطان کارسینوما با سایر سرطانهای معده ۹۹
شکل ۳-۱۰: مقایسه فراوانی انواع سرطان معده ۹۹

شکل ۳-۱۱: مقایسه سه نوع فنوتیپ ایجاد شده به دنبال عفونت هلیکوباکترپیلوری ۱۰۱

شکل ۳-۱۲: مقایسه فراوانی آلل d1 بین کشورهای آسیایی (رنگ آبی)، کشورهای غربی (رنگ سبز) و کشور ایران (رنگ صورتی) ۱۰۴

شکل ۳-۱۳: مقایسه ارتباط آلل d1 با بیماریهای معده-دوازدهه بین کشورهای آسیایی، غربی و ایران ۱۰۵