





دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی - میکروبیولوژی

بررسی رابطه بین بیماری مولتیپل اسکلروزیس و برخی عفونت‌های باکتریایی

استاد راهنما:

دکتر سید حمید زرکش

استاد مشاور:

دکتر زهرا اعتمادی‌فر

پژوهشگر:

مریم مستاجران

۱۳۸۸/۱۰/۲۷

تسبیح دران  
اطلاعات دران سنی پور

دی ماه ۱۳۸۸

۱۲۹۵۹۶

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات  
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه  
متعلق به دانشگاه اصفهان است.



دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

## پایان نامه‌ی کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی - میکروبیولوژی

خانم مریم مستاجران تحت عنوان

### بررسی رابطه بین بیماری مولتیپل اسکلروزیس و برخی عفونت‌های باکتریایی

در تاریخ ۱۳۹۰/۱۰/۲۱ توسط هیأت داوران زیر بررسی و با درجه ..... عالی ... به تصویب نهایی رسید.

امضا  
امضا

۱- استاد راهنمای پایان نامه دکتر سید حمید زرکش با مرتبه‌ی علمی استادیار

۲- استاد مشاور پایان نامه دکتر زهرا اعتمادی فر با مرتبه‌ی علمی استادیار

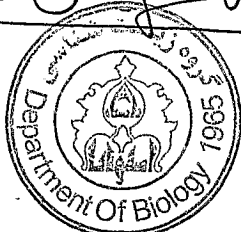
۳- استاد داور داخل گروه دکتر رسول روغنیان با مرتبه‌ی علمی استادیار

۴- استاد داور خارج از گروه دکتر مینو ادیب با مرتبه‌ی علمی استاد

امضا  
از زمان  
امضا  
نظرف

امضای مدیر گروه

۸۸/۱۰/۹



## تشکر و قدردانی:

منت خدای را عز و جل، به راستی شکر و سپاس مخصوص خداوندی است که بهشت را زیر پای مادر، آرامش بهشت را در قلب پدر، مهر و محبت را نزد خانواده و معلم را چراغ راه علم قرار داد و چه مفتخر است این بنده حقیر که از تتمه این نعمت‌ها در طول زندگی خود بهره برده و بر خود می‌بالم تا به شکرانه این نعمت‌ها بر ذره ذره تجربه اندوخته در سینه "پدرم" سر تعظیم فرود آورم، بر چهره پر مهر "مادرم" بوسه زنم، مهر و محبت خانواده را توشه راهم سازم، سپاسگزار راهنمایی‌ها و حمایت استاد بزرگوارم جناب آقای دکتر زرکش باشم و از لطف استاد مهربانم سرکار خانم دکتر اعتمادی فر تشکر و قدردانی نمایم.

از زحمات اساتید بزرگوار گروه به ویژه اساتید بخش میکروبیولوژی، که شش سال افتخار شاگردی این بزرگواران را داشته‌ام صمیمانه قدردانی و تشکر می‌نمایم.

از زحمات اساتید داور این پایان‌نامه، سرکار خانم دکتر ادیب "استاد داور خارج" و جناب آقای دکتر روغنیان "استاد داور داخل" و ناظر تحصیلات تکمیلی تشکر می‌نمایم.

از همکاری صمیمانه استاد بزرگوار جناب آقای دکتر اعتمادی فر، دکتر امیر هادی مغزی، آقای دکتر طیب پور، خانم دکتر برادران، آقای کاردی، کارشناسان محترم گروه زیست‌شناسی به ویژه آقای دباغ، خانم نصر و خانم کشفی و کارشناس محترم آزمایشگاه‌های تحقیقاتی، خانم پاکروان سپاسگزاری می‌نمایم.

زیباترین لحظات زندگی را برای دوستان مهربان و همراهان دوران تحصیلی‌ام آرزو مندم. خانم‌ها: محمدی، لاجینانی، طالبی، ولی‌زاده، کریمی، مفاخر، حسینی، شاهرخ، رضایی، میر باقری، قربانی، رهبری، و آقایان: سیلانی، قاسمی، سلامیان، صباغی، بهرامی، کمی جانی

## چکیده

مولتیپل اسکلروزیس، بیماری التهابی تخریب‌کننده میلین و از شایع‌ترین بیماری‌های سیستم عصبی در انسان است که به طور معمول سیستم عصبی مرکزی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. گرچه بیش از یک میلیون نفر در سرتاسر دنیا به این بیماری مبتلا هستند، اما علت و سبب شناسی این بیماری هنوز به طور کامل مشخص نمی‌باشد. مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که عوامل ژنتیکی و محیطی هر دو در ابتلا به بیماری نقش دارند و پیشنهاد می‌شود که عوامل محیطی بر روی بستری از عوامل ژنتیکی عمل می‌کنند. نتایج حاصل از مطالعات ژنتیکی نشان می‌دهد که حضور یک یا چند ژن بر روی کروموزوم شش انسان در محدوده کمپلکس سازگاری نسجی اصلی می‌تواند در احتمال و استعداد افراد به این بیماری نقش داشته باشد. همچنین مطالعات مختلفی نقش فاکتورهای محیطی را در علت شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس گزارش کرده‌اند. در میان فاکتورهای محیطی شناخته شده، عوامل عفونی و غیر عفونی (مانند سبک زندگی، رفتارهای شخصی، مهاجرت، منطقه جغرافیایی) به عنوان عوامل مؤثر در القای بیماری مولتیپل اسکلروزیس پیشنهاد می‌گردند. همچنین مطالعات صورت گرفته نشان داده است که عوامل عفونی (باکتریایی و ویروسی) مختلفی در سبب شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس دخیل می‌باشند. بیماری مولتیپل اسکلروزیس به طور معمول به عنوان یک بیماری خود ایمن محسوب می‌شود که عوامل عفونی احتمالاً از طریق مکانیسم تقلید مولکولی، فعال شدن بای‌استند و یا هر دو می‌توانند در القای این بیماری نقش داشته باشند. ولی این بیماری چنان پیچیده است که شناسایی یک میکروارگانسیم منفرد به عنوان تنها عامل بیماری تا کنون میسر نگردیده است و در نتیجه قانون کخ مبنی بر "یک ارگانسیم - یک بیماری" را نمی‌توان به این بیماری نسبت داد. در سال‌های اخیر مطالعاتی به منظور بررسی رابطه این بیماری با باکتری‌هایی نظیر هلیکوباکتریلوری، گونه‌های آسیتوباکتر و استرپتوکوکوس پیوژنز صورت گرفته است که نتایج حاصل از این مطالعات بسیار امیدوارکننده می‌باشد. در گذشته، ایران از نظر ابتلاء به بیماری مولتیپل اسکلروزیس جزء مناطق با ریسک پایین محسوب می‌گردید اما مطالعات نشان داده است که شمار مبتلایان به این بیماری رو به افزایش است به طوری که این میزان در استان اصفهان از ۳۵/۵ بیمار در هر صد هزار نفر جمعیت به ۴۳/۸ بیمار افزایش یافته است. با توجه به مطالعات اندک صورت گرفته در مورد علت شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس در جمعیت ایران و افزایش تعداد مبتلایان به این بیماری به خصوص در استان اصفهان، بررسی رابطه بین بیماری مولتیپل اسکلروزیس و برخی عفونت‌های باکتریایی به عنوان هدف کلی در این تحقیق در نظر گرفته شد که این هدف در مورد عفونت‌های هلیکوباکتریلوری، استرپتوکوکوس پیوژنز و آسیتوباکتر کالکواستیکوس مورد بررسی قرار گرفت. در این تحقیق از سرم ۱۴۹ بیمار مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (۱۰۹ زن و ۴۰ مرد با میانگین سنی  $۳۳/۱۶ \pm ۹/۵۴$  سال) استفاده گردید. همچنین سرم ۱۵۰ فرد داوطلب سالم خون دهنده (۱۱۰ زن و ۴۰ مرد با میانگین سنی  $۳۳/۹۱ \pm ۱۰/۱۹$  سال) به عنوان نمونه‌های کنترل در این تحقیق استفاده شد. به منظور بررسی رابطه بین عفونت هلیکوباکتریلوری و بیماری مولتیپل اسکلروزیس از روش سرولوژی استفاده گردید و میزان آنتی بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکتریلوری در سرم بیماران و افراد سالم به روش الایزا اندازه‌گیری گردید. همچنین وجود آنتی استرپتولیزین O به عنوان شاخص آلودگی به استرپتوکوکوس پیوژنز در نمونه‌های سرم به روش کیفی مورد بررسی قرار گرفت و نمونه‌های مثبت حاصل از این بررسی جهت اندازه‌گیری میزان کمی آنتی استرپتولیزین O با دستگاه نفلومتری مورد ارزیابی قرار داده شد. در این تحقیق، برای بررسی

رابطه بین بیماری مولتیپل اسکلروزیس و باکتری آسینتوباکتر کالکوآستیکوس میزان آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد این باکتری در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و افراد سالم به روش سرولوژی و با استفاده از سیستم الایزای طراحی شده بررسی گردید. نتایج حاصل نشان داد که میزان آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکتریپیلوری در سرم بیماران و افراد سالم دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد. گرچه فراوانی نمونه‌های مثبت از نظر وجود آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکتریپیلوری در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس بیشتر بود ولی این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار قلمداد نگردید. نتایج حاصل از رگرسیون لجستیک نشان داد که رابطه معکوس ضعیفی بین ابتلا و یا عدم ابتلا افراد به بیماری مولتیپل اسکلروزیس و آنتی‌بادی IgG ضد هلیکوباکتریپیلوری وجود دارد. نتایج حاصل از بررسی کیفی و کمی آنتی‌استرپتولیزین O در نمونه‌های سرم بیماران و افراد سالم اختلاف معنی‌داری را بین بیماران و افراد سالم نشان نداد. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد باکتری آسینتوباکتر کالکوآستیکوس در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس نسبت به افراد سالم دارای افزایش معنی‌داری بوده است. علاوه بر این بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس از نظر سیر کلینیکی بیماری به ۵ گروه (تشدید یابنده- بهبود پذیر، پیشرونده ثانویه، پیشرونده اولیه، پیشرونده عود کننده و سندرم‌های کلینیکی مجزا) تقسیم بندی گردیدند و میزان هر کدام از آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد باکتری آسینتوباکتر کالکوآستیکوس در هر یک از این گروه‌ها مشخص گردید. نتایج نشان داد که بین گروه‌های مختلف بیماران از لحاظ میزان هر کلاس از آنتی‌بادی‌ها تفاوت معنی‌داری وجود ندارد. با توجه به نتایج متفاوت به دست آمده برای هر کدام از باکتری‌های مورد بررسی در این تحقیق این گونه به نظر می‌رسد که هر کدام از باکتری‌ها دارای نقش متفاوتی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس هستند که برای مشخص شدن دقیق این نقش و اختصاصیت آن مطالعات بیشتری نیاز می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** مولتیپل اسکلروزیس، عفونت‌های باکتریایی، آسینتوباکتر کالکوآستیکوس، هلیکوباکتر پیلوری، استرپتوکوکوس پیوژنز، الایزا، نفلومتری

## فهرست مطالب

صفحه

عنوان

### فصل اول: مقدمه

۱	۱-۱ بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۲	۱-۱-۱ تاریخچه .....
۳	۲-۱-۱ توزیع جغرافیایی .....
۴	۲-۱ آسیب شناسی بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۴	۱-۲-۱ علائم و نشانه‌ها .....
۵	۲-۲-۱ سیر کلینیکی .....
۷	۳-۱ علت‌شناسی بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۷	۱-۳-۱ زمینه ایمنوژنتیک و عوامل ژنتیکی .....
۸	۲-۳-۱ عوامل محیطی .....
۹	۱-۲-۳-۱ عوامل غیر عفونی موثر در علت شناسی بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۱۰	۲-۲-۳-۱ عوامل عفونی موثر در علت شناسی بیماری اسکروزیس .....
۱۱	۴-۱ مکانیسم‌های مورد استفاده توسط عوامل عفونی در القای بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۱۲	۱-۴-۱ تقلید مولکولی .....
۱۴	۲-۴-۱ فعال شدن بای استندر .....
۱۵	۵-۱ نقش عفونت‌های ویروسی در علت شناسی بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۱۵	۶-۱ نقش عفونت‌های باکتریایی در علت شناسی بیماری مولتیپل اسکروزیس .....
۱۶	۷-۱ هلیکوباکتر پیلوری .....
۱۷	۱-۷-۱ روش‌های تشخیص عفونت هلیکوباکتر پیلوری .....
۱۷	۱-۱-۷-۱ روش سرولوژی .....
۱۸	۲-۷-۱ تظاهرات بالینی عفونت هلیکوباکتر پیلوری .....
۲۰	۱-۲-۷-۱ هلیکوباکتر پیلوری و مولتیپل اسکروزیس .....
۲۰	۸-۱ استرپتوکوکوس پیوژنز .....
۲۱	۱-۸-۱ طبقه بندی استرپتوکوکوس‌ها .....
۲۲	۲-۸-۱ استرپتوکوکوس همولیتیک گروه A .....



۲۳	..... ۱-۲-۸-۱ تشخیص عفونت با استرپتوکوکوس پیوژنز
۲۳	..... ۳-۸-۱ استرپتوکوکوس و بیماری‌ها
۲۵	..... ۹-۱ آسینتوباکتر کالکواستیکوس
۲۶	..... ۱-۹-۱ آسینتوباکتر کالکواستیکوس و مولتیپل اسکروزیس
۲۸	..... ۱۰-۱ اهداف تحقیق

## فصل دوم: مواد و روش‌ها

۳۰	..... ۱-۲ دستگاه‌ها و وسایل مورد نیاز
۳۱	..... ۲-۲ جمع آوری نمونه‌های آزمایشگاهی
۳۲	..... ۳-۲ اندازه‌گیری میزان آنتی بادی‌های IgM و IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های سرم
۳۲	..... ۱-۳-۲ مواد مورد نیاز و آماده سازی محلول‌ها جهت انجام آلیزا
۳۲	..... ۱-۱-۳-۲ تهیه بافر شست و شو
۳۳	..... ۲-۱-۳-۲ تهیه محلول رقیق کننده سرم
۳۳	..... ۳-۱-۳-۲ تهیه سوبسترای مورد استفاده برای آزمایش
۳۳	..... ۲-۳-۲ مراحل انجام الایزا
۳۵	..... ۴-۲ تعیین کیفی آنتی استرپتولیزین O در سرم
۳۵	..... ۱-۴-۲ مراحل انجام تست کیفی آنتی استرپتولیزین
۳۵	..... ۵-۲ تعیین میزان کمی آنتی استرپتولیزین O در سرم
۳۶	..... ۱-۵-۲ مراحل انجام روش نفلومتری
۳۷	..... ۶-۲ بررسی سرولوژی عفونت آسینتوباکتر کالکواستیکوس به روش الایزا
۳۷	..... ۱-۶-۲ تهیه مواد و محیط‌های کشت مورد نیاز
۳۷	..... ۱-۱-۶-۲ بافر فسفات نمکی
۳۸	..... ۲-۱-۶-۲ بافر کربنات
۳۸	..... ۳-۱-۶-۲ بافر بلاکینک الایزا
۳۸	..... ۴-۱-۶-۲ بافر شستشو و انکوباسیون الایزا
۳۸	..... ۵-۱-۶-۲ محلول اسید سولفوریک یک مولار
۳۹	..... ۶-۱-۶-۲ محیط کشت آگار مغذی

۳۹	..... محیط کشت آبگوشت مغذی ۷-۱-۶-۲
۳۹	..... محیط کشت SIM ۸-۱-۶-۲
۴۰	..... محیط کشت آگار خوندار ۹-۱-۶-۲
۴۰	..... محیط کشت‌های قندی ۱۰-۱-۶-۲
۴۰	..... تهیه کشت باکتری آسینتوباکتر کالکوآستیکوس ۲-۶-۲
۴۱	..... انجام تست‌های شناسایی باکتری آسینتوباکتر کالکوآستیکوس ۳-۶-۲
۴۱	..... رنگ آمیزی گرم ۱-۳-۶-۲
۴۱	..... بررسی واکنش کاتالاز ۲-۳-۶-۲
۴۱	..... بررسی واکنش اکسیداز ۳-۳-۶-۲
۴۲	..... بررسی همولیز ۴-۳-۶-۲
۴۲	..... بررسی حرکت ۵-۳-۶-۲
۴۲	..... بررسی تخمیر هیدرات کربن ۶-۳-۶-۲
۴۲	..... تهیه مایه میکروبی جهت کوت نمودن چاهک‌های ایزا ۴-۶-۲
۴۳	..... مراحل انجام ایزا ۵-۶-۲
۴۵	..... تعیین غلظت بهینه مواد در سیستم ایزا ۶-۶-۲
۴۵	..... بررسی اختصاصات سیستم ایزای طراحی شده ۷-۶-۲
۴۶	..... آنالیزهای آماری ۷-۲

## فصل سوم: نتایج

۴۷	..... ۱-۳ مطالعات کلینیکی و جمعیت شناختی بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس و افراد سالم
۴۹	..... ۲-۲ میزان سرمی آنتی‌بادی‌های IgM و IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری
۴۹	..... ۱-۲-۳ بررسی توصیفی میزان آنتی‌بادی‌های IgM و IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های سرم
۵۰	..... ۲-۲-۲ مقایسه میانگین‌ها
۵۱	..... ۳-۲-۳ مقایسه فراوانی‌ها
۵۲	..... ۴-۲-۳ رگرسیون لجستیک
۵۳	..... ۳-۳ بررسی کیفی و کمی آنتی استرپتولیزین O در نمونه‌های سرم

۴-۳	بررسی سرولوژی آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد آسینتوباکتر کالکواستیکوس در نمونه‌های سرم....	۵۴
۱-۴-۳	تست‌های شناسایی باکتری آسینتوباکتر کالکواستیکوس .....	۵۴
۲-۴-۳	تعیین غلظت بهینه مواد در سیستم الیزا و بررسی اختصاصیت سیستم الیزای طراحی شده ....	۵۶
۳-۴-۳	میزان آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد آسینتوباکتر کالکواستیکوس در نمونه‌های سرم .....	۵۸

### فصل چهارم: بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات

۱-۴	هلیکوباکتر پیلوری و مولتیپل اسکروزیس .....	۶۱
۲-۴	آسینتوباکتر کالکواستیکوس و مولتیپل اسکروزیس .....	۶۴
۳-۴	استریتوکوکوس پیوژنز و مولتیپل اسکروزیس .....	۶۷
۴-۴	پیشنهادات .....	۶۹

### پیوست‌ها

۱	نتایج حاصل از اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکتر پیلوری در سرم	
بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس و افراد سالم .....		۷۰
۲	میزان قرائت جذب نوری هر یک از آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد آسینتوباکتر	
کالکواستیکوس در طول موج ۴۵۰ نانومتر در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکروزیس .....		۷۴
۳	میزان قرائت جذب نوری هر یک از آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد آسینتوباکتر	
کالکواستیکوس در طول موج ۴۵۰ نانومتر در سرم افراد سالم .....		۷۸
منابع و ماخذ .....		۸۲

## فهرست شکل‌ها

صفحه	عنوان
۶	شکل ۱-۱ انواع مختلف سیر کلینیکی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس .....
۱۳	شکل ۲-۱ برخی از انواع هومولوژی و تقلید مولکولی بین MBP و عوامل عفونی.....
۲۶	شکل ۳-۱ تشابه مولکولی بین آنزیم‌های آسینتوباکتر و آنتی ژن‌های مغزی .....
۲۷	شکل ۴-۱ مسیر احتمالی پاتوژنز در بیماری مولتیپل اسکلروزیس توسط گونه‌های آسینتوباکتر .....
۳۴	شکل ۱-۲ دستگاه خواننده الایزا .....
۳۷	شکل ۲-۲ دستگاه نفلومتری .....
۴۹	شکل ۱-۳ نمودار توزیع پراکندگی سن در بین بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) و افراد سالم .....
۵۱	شکل ۲-۳ میانگین میزان (U/mL) آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکترپیلوری در سرم بیماران مولتیپل اسکلروزیس (MS) و افراد سالم به همراه اشتباه معیار میانگین‌ها .....
۵۲	شکل ۳-۳ فراوانی نمونه‌های سرمی مثبت از نظر آنتی‌بادی‌های IgG و IgM ضد هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) و افراد سالم .....
۵۳	شکل ۴-۳ بررسی کیفی ASO در ۴ نمونه سرم بیمار به همراه کنترل‌های مثبت و منفی .....
۵۵	شکل ۵-۳ تصاویر مربوط به تست‌های شناسایی باکتری آسینتوباکتر کالکواستیکوس .....
۵۸	شکل ۶-۳ میانگین و اشتباه معیار میزان آنتی‌بادی‌های IgA, IgM, IgG ضد آسینتوباکتر کالکواستیکوس در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) و افراد سالم .....
۶۰	شکل ۷-۳ میانگین و اشتباه معیار میزان آنتی‌بادی‌های IgA, IgM, IgG ضد آسینتوباکتر کالکواستیکوس در گروه‌های مختلف کلینیکی بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس .....

## فهرست جدول‌ها

صفحه	عنوان
۱۱	جدول ۱-۱ مکانیسم‌های به کار گرفته شده توسط عوامل عفونی برای فعال سازی سلول های T و B خودواکنشگر .....
۱۹	جدول ۲-۱ عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بیماری‌های وابسته .....
۴۵	جدول ۱-۲ تعیین غلظت بهینه مواد مورد استفاده در سیستم الایزا .....
۴۶	جدول ۲-۲ بررسی اختصاصیت سیستم الایزا .....
۴۸	جدول ۱-۳ مشخصات کلینیکی و جمعیت شناختی بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) .....
	جدول ۲-۳ جمع‌بندی نتایج حاصل از آمار توصیفی میزان آنتی‌بادی‌های IgM و IgG ضد
۵۰	هلیکوباکترپیلوری در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس (MS) و افراد سالم .....
۵۰	جدول ۳-۳ مقایسه میانگین مقادیر IgM و IgG در بیماران مولتیپل اسکلروزیس و افراد سالم .....
	جدول ۴-۳ مقایسه فراوانی نمونه‌های مثبت و سطح معنی‌دار در بیماران مبتلا به مولتیپل
۵۲	اسکلروزیس و افراد سالم برای آنتی‌بادی‌های IgM و IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری .....
	جدول ۵-۳ نتایج رگرسیون لجستیک برای بررسی رابطه بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بیماری
۵۳	مولتیپل اسکلروزیس .....
۵۴	جدول ۶-۳ میزان آنتی استرپتولیزین O (IU/mL) در نمونه‌های مثبت بیماران و افراد سالم .....
۵۵	جدول ۷-۳ تست‌های شناسایی باکتری آسینتوباکتر کالکواستیکوس .....
۵۶	جدول ۸-۳ تعیین غلظت سرم و آنتی‌بادی ثانویه (IgG) در سیستم الایزای طراحی شده .....
۵۷	جدول ۹-۳ بررسی اختصاصیت سیستم الایزا .....
	جدول ۱۰-۳ بررسی توصیفی هر کدام از آنتی‌بادی‌های IgA، IgM، IgG ضد آسینتوباکتر
۵۹	کالکواستیکوس در سرم بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس و افراد سالم .....

## فصل اول

### مقدمه

#### ۱-۱ بیماری مولتیپل اسکلروزیس

مولتیپل اسکلروزیس<sup>۱</sup>، بیماری التهابی تخریب کننده میلین و از شایع ترین بیماری های سیستم عصبی در انسان است که به طور معمول سیستم عصبی مرکزی (مغز و نخاع) را تحت تأثیر قرار می دهد (McFarlin and McFarland, 1982). این بیماری مزمن که اغلب در سنین ۲۰-۴۰ سالگی عوارض آن ظاهر می شود گستره جهانی دارد به طوری که تنها در ایالات متحده ۳۵۰۰۰۰ نفر به مولتیپل اسکلروزیس مبتلا می باشند (Sospedra and Martin, 2005). تخریب میلین در این بیماری معمولاً در نواحی خاصی از سیستم عصبی منجر به بروز علائم بالینی می گردد که مشخصه بیماری مولتیپل اسکلروزیس است. این بیماری منجر به ناتوانی بیمار در عملکردهای اساسی می گردد و می تواند علائم متنوعی مانند تاری دید ناگهانی، ناتوانی در حرکت اندامها، عدم تعادل و دو بینی را به همراه داشته باشد. گرچه در یک صد سال گذشته مطالعات گسترده ای پیرامون جنبه های اپیدمیولوژیک، علت شناسی، روش های تشخیصی و درمانی بیماری صورت گرفته، لیکن این بیماری همچنان به عنوان یک بیماری مرموز محسوب می گردد و علت واقعی بیماری هنوز مشخص نیست.

---

<sup>1</sup> Multiple Sclerosis (MS)

مطالعات اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که عوامل محیطی و ژنتیکی هر دو در ابتلاء به مولتیپل اسکلروزیس نقش دارند (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱).

### ۱-۱-۱ تاریخچه

بنا به اعتقاد وینر<sup>۱</sup>، تاریخچه‌ی هر بیماری به ۳ دوران تقسیم می‌گردد (Weiner, 2005):

۱- طبقه بندی بیماری به عنوان یک اصل زیستی مستقل و بی‌مانند.

۲- شناسایی تغییرات زیستی وابسته به بیماری.

۳- توسعه‌ی درمان بیماری.

موری<sup>۲</sup> که به عنوان یک نورولوژیست با تجربه و کارآمد در عرصه بیماری مولتیپل اسکلروزیس محسوب می‌شود، تاریخچه‌ی این بیماری و اولین موارد گزارش شده‌ی آن را در کتاب خود به تفصیل بیان نموده است. اولین مورد واضح گزارش شده بیماری مولتیپل اسکلروزیس مربوط به Augustus d'Este (۱۸۴۸-۱۷۹۴) نوه‌ی جورج سوم و پسر عموی ملکه ویکتوریا در انگلستان می‌باشد که شرح بیماری خود را در یادداشت‌های روزانه‌اش به تفصیل ثبت نموده است. لیکن، برخی از مورخین بر این اعتقاد هستند که لیدوینا<sup>۳</sup> متولد ۱۳۸۰ میلادی در کشور هلند نیز مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس بوده است. توصیف مولتیپل اسکلروزیس به عنوان یک بیماری مشخص توسط نورولوژیست فرانسوی جین-مارتین شارکوت<sup>۴</sup> در سال ۱۸۶۸ میلادی صورت گرفت. بعد از آن زمان، تئوری‌های مختلفی برای بیان علت بیماری مولتیپل اسکلروزیس مطرح گردید که عفونت‌ها و سموم به عنوان دو دسته از عوامل مسبب بیماری عنوان گردیدند. در دهه‌ی ۱۹۹۰ اولین داروهای مؤثر برای بیماری مولتیپل اسکلروزیس از طرف سازمان غذا و داروی آمریکا<sup>۵</sup> مورد تأیید قرار گرفته و به بازار عرضه گردیدند که تأثیر عملکرد این داروها از طریق تنظیم سیستم ایمنی بود (Weiner, 2005). توماس ریورز<sup>۶</sup> و همکارانش در سال ۱۹۳۰ با ایجاد مدل‌های تجربی بیماری اولین پایه‌های تئوری خودایمن بودن مولتیپل

<sup>1</sup> Weiner

<sup>2</sup> T. Jock Murray

<sup>3</sup> Lidwina

<sup>4</sup> Jean-Martin Charcot

<sup>5</sup> Food and Drug Administration (FDA)

<sup>6</sup> Thomas Rivers

اسکلروزیس را مطرح نمودند (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱) لیکن پیشرفت عمده تکنولوژی در زمینه تشخیص، مربوط به ثبت ام. آر. آی<sup>۱</sup> می‌باشد که کمک شایانی به درک فرآیند بیماری نموده است.

در مورد تاریخچه بیماری مولتیپل اسکلروزیس در کشور ایران اطلاع موثقی در دست نیست. استاد گرانقدر جناب آقای دکتر عباسعلی موحدیان که از پایه گزاران علم اعصاب در ایران می‌باشد در مورد تاریخچه این بیماری چنین می‌گوید (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱).

"... از سال ۱۳۳۱ بیماری مولتیپل اسکلروزیس تحت عنوان Sclerose en Plaque به صورت نظری و عملی جهت دانشجویان پزشکی در اصفهان تدریس می‌شده است. اساس تشخیص بیماری در ایران در آن زمان بیشتر متکی به علائم بالینی بود، مثل پراکنندگی علائم به گونه‌ای که تنها آن‌ها را به آسیب محل خاصی از دستگاه عصبی نسبت داد، بروز دوره‌های تشدید و تخفیف در سیر بیماری و بالاخره رد کردن کلیه بیماری‌هایی که می‌توانست علائم مذکور را ایجاد کند. امکانات تشخیص بیماری در آن زمان محدود و بیشتر منحصر به آزمایش مایع نخاع بود. در این زمینه نظر به این که در اکثر موارد از لحاظ تشخیص افتراقی، سفلیس دستگاه عصبی مرکزی مطرح بود، تشخیص بر اساس منفی بودن تست واسرمن مایع نخاع و مثبت شدن تست کلونیدال داده می‌شد (هر دو تست در سفلیس عصبی مثبت بود)..."

تاریخچه بیماری مولتیپل اسکلروزیس در نهایت به این سؤال وابسته است که توسط هر بیمار مبتلا پرسیده می‌شود "چه موقع این بیماری درمان می‌شود؟" و این یک سؤال جدید نمی‌باشد. در حقیقت سه راه درمانی برای بیماری وجود دارد: به حالت اولیه برگرداندن یک نقص ثابت عصبی، متوقف ساختن سیر پیشرفت بیماری، جلوگیری از وقوع بیماری. درمان‌های رایج و متداول امروزی بیشتر بر روی دومین مقوله درمانی یعنی متوقف ساختن سیر پیشرفت بیماری متمرکز می‌باشد و این در حالی است که به علت مشخص نبودن علت واقعی بیماری، درمان قطعی مولتیپل اسکلروزیس هنوز میسر نمی‌باشد (Weiner, 2005).

## ۱-۲ توزیع جغرافیایی

شیوع بیماری مولتیپل اسکلروزیس در مناطق مختلف جهان بسیار متغیر می‌باشد (Rodriguez, 1994) و کورتز که<sup>۲</sup> مناطق مختلف دنیا را بر اساس میزان شیوع این بیماری به صورت زیر تقسیم بندی کرده است (Kurtzke, 1991).

<sup>۱</sup> Magnetic Resonance Imaging (MRI)

<sup>۲</sup> Kurtzke



- ۱- نواحی با ریسک پایین: مناطقی با شیوع کمتر از ۵ مورد در هر صد هزار نفر جمعیت
- ۲- نواحی با ریسک متوسط: مناطقی با شیوع بین ۵ تا ۳۰ مورد در هر صد هزار نفر جمعیت
- ۳- نواحی با ریسک بالا: مناطقی با شیوع بیش از ۳۰ مورد در هر صد هزار نفر جمعیت

بیماری مولتیپل اسکلروزیس در قسمت‌های شمالی اروپا، جنوب استرالیا و قسمت‌های میانی آمریکای شمالی دارای بالاترین میزان شیوع می‌باشد و این گونه به نظر می‌رسد که این میزان در قسمت‌های جنوبی اروپا نیز رو به افزایش است (Rosati et al., 1996; Bufill et al., 1995). به طور کلی، میزان شیوع و مرگ و میر ناشی از این بیماری با عرض جغرافیایی منطقه تغییر می‌کند. در مناطق گرمسیری و استوایی شیوع بیماری بسیار کم است و با افزایش عرض جغرافیایی یا دور شدن از خط استوا در هر نیمکره، شیوع آن افزایش می‌یابد (Hogancamp et al., 1997). با وجود این یافته‌های جغرافیایی، تغییرات شیوع در دو نقطه مجاور یکدیگر ممکن است بسیار زیاد باشد، کما این که در ایتالیا تفاوت‌های فاحشی در شیوع بیماری بین مناطق و جزایری که از نظر جغرافیایی به هم نزدیکند اما از لحاظ ژنتیکی و تاریخچه فرهنگی با هم متفاوتند، دیده می‌شود. علاوه بر این، شیوع متفاوت بیماری در دو منطقه با عرض جغرافیایی یکسان یعنی شیوع بالای بیماری در بریتانیا (۸۵ در صد هزار نفر جمعیت) و شیوع پایین آن در ژاپن (۲۰-۶ در صد هزار نفر جمعیت) نشان‌دهنده این امر است که عوامل محیطی و ژنتیکی نیز علاوه بر عوامل جغرافیایی در انتشار و شیوع بیماری دخالت دارند (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱).

## ۲-۱ آسیب شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس

### ۱-۲-۱ علایم و نشانه‌ها

علایم عصبی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس به خاطر درگیری قسمت‌های مختلف دستگاه عصبی مرکزی، متنوع می‌باشد. به همین دلیل مولتیپل اسکلروزیس را بیماری هزار چهره نیز نامیده‌اند. در ۴۵ درصد از موارد، بیماری با یک علامت<sup>۱</sup> شروع می‌شود که می‌توان این علامت را به آسیب محل خاصی از دستگاه عصبی مرکزی ربط داد. این در حالی است که در ۵۵ درصد از بیماران شروع بیماری با چندین علامت بالینی<sup>۲</sup> پراکنده

<sup>۱</sup> Monosymptomatic

<sup>۲</sup> Polysymptomatic

می‌باشد (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱). افراد مبتلا به بیماری مولتیپل اسکلروزیس معمولاً از عوارض گوناگون عصبی رنج می‌برند. ضعف و بی‌قوتی اندام‌ها، اسپاسم ماهیچه، اشکال در راه رفتن، عدم توانایی در برقراری تعادل (Freeman, 2001)، مشکلات بینایی مانند دویینی (Kaur and Bennett, 2007)، خستگی، دردهای شدید یا مزمن (Pöllmann and Feneberg, 2008) و مشکلات ادراکی (Henze, 2005) از جمله علایم شایع بیماری می‌باشد.

## ۱-۲-۲ سیر کلینیکی

سیر کلینیکی بیماری مولتیپل اسکلروزیس در بین بیماران مختلف و در یک بیمار در زمان‌های مختلف ناهمگون و متفاوت می‌باشد، اما برای جلوگیری از پراکندگی و اختلاف در بین منابع مختلف می‌توان چندین فرم از بیماری را حسب نظر Pugliatti (۲۰۰۶) به صورت زیر دسته‌بندی کرد (شکل ۱-۱):

- ۱- فرم تشدید یابنده- بهبود پذیر<sup>۱</sup>: اختلالات نورولوژیک در طی چند روز تا چند هفته بروز کرده و سپس بهبودی کامل یا نسبی بروز می‌کند و یا گاه بهبودی واضحی رخ نمی‌دهد. بهبودی معمولاً طی چند هفته تا چند ماه بعد از وقوع علایم بروز کرده ولی به ندرت ممکن است بهبودی تا ۲ سال هم طول بکشد. در بین حملات هیچ‌گونه پیشرفت و بدتر شدن علایم عصبی وجود ندارد.
- ۲- فرم پیشرونده ثانویه<sup>۲</sup>: این فرم از بیماری معمولاً به صورت فرم تشدید یابنده- بهبود پذیر ظاهر می‌شود ولی سپس به شکل پیشرونده تغییر فرم می‌دهد. در این بیماران بین حملات، علایم عصبی تدریجاً تشدید می‌شود.
- ۳- فرم پیشرونده اولیه<sup>۳</sup>: در این فرم بیماری از ابتدا به صورت پیشرونده ظاهر می‌شود و پیشرفت تدریجی ناتوانی از زمان وقوع بیماری وجود دارد.
- ۴- فرم پیشرونده عود کننده<sup>۴</sup>: بیماری به صورت پیشرونده آغاز می‌شود. در این فرم حملات عود کننده وجود دارد، این حملات ممکن است با بهبودی همراه باشد یا این که بهبودی واضحی رخ ندهد. در فاصله زمانی بین حملات حالت پیشرونده بیماری دیده می‌شود.

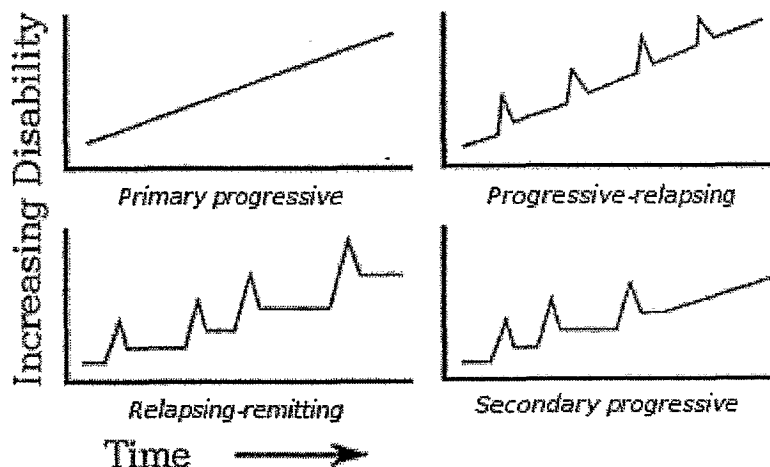
<sup>1</sup> Relapsing remitting (RR-MS)

<sup>2</sup> Secondary progressive (SP-MS)

<sup>3</sup> Primary progressive (PP-MS)

<sup>4</sup> Progressive relapsing (PR-MS)

فرم تشدید یابنده- بهبود پذیر در ۷۰٪ از بیماران، فرم پیشرونده عودکننده در ۱۵٪ و فرم پیشرونده اولیه در ۱۵٪ بیماران دیده می‌شود. نیمی از بیمارانی که مبتلا به فرم حملات تشدید یابنده- بهبود پذیر هستند در عرض ۱۰ سال به فرم پیشرونده ثانویه تبدیل می‌شوند (اعتمادی فر و اشتری، ۱۳۸۱). لازم به ذکر است که "حمله" به دورانی از اختلالات عصبی در بیماران اطلاق می‌گردد که حداقل ۲۴ ساعت طول بکشد. در بعضی از افراد تنها یک حمله از نوع متناسب با بیماری مولتیپل اسکلروزیس مثل التهاب عصب چشم حادث می‌شود که این حالت (CIS) Clinically Isolated Syndrome نامیده می‌شود. در بیشتر از ۸۰ درصد موارد این حالت به صورت بیماری مولتیپل اسکلروزیس توسعه پیدا می‌کند و در کمتر از ۲۰ درصد موارد به صورت فرآیند خود محدود شونده باقی می‌ماند (Frohman et al., 2003).



شکل ۱-۱ انواع مختلف سیر کلینیکی در بیماری مولتیپل اسکلروزیس، اقتباس از

([http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple\\_Sclerosis](http://en.wikipedia.org/wiki/Multiple_Sclerosis))

برای اندازه‌گیری میزان ناتوانی در بیماران مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس چندین مقیاس مختلف وجود دارد. معمول‌ترین مقیاس برای بیان میزان درجه ناتوانی بیماری<sup>۱</sup>، مقیاس کورتزکه است (Kurtzke, 1983b). در این مقیاس به میزان ناتوانی حاصل از هر کدام از قسمت‌های عملکردی دستگاه عصبی درجه خاصی تعلق می‌گیرد و به این ترتیب میزان ناتوانی کلی در بیماری به ۲۰ درجه مختلف (۱۰،.....، ۵/۵، ۱، ۰/۱، ۰) تقسیم می‌شود. به عنوان

<sup>۱</sup> Expanded Disability Status Score (EDSS)

مثال میزان درجه ناتوانی ۷-۹/۵ به بیمارانی تعلق می‌گیرد که نیاز به صندلی چرخ‌دار دارند یا بستری هستند و کاملاً وابسته می‌باشند و میزان درجه ناتوانی ۱۰ به افرادی تعلق می‌گیرد که به علت بیماری مولتیپل اسکلروزیس جان خود را از دست می‌دهند (Pugliatti, 2006).

### ۱-۳-۱ علت شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس

علت و سبب شناسی بیماری مولتیپل اسکلروزیس هنوز به طور کامل مشخص نمی‌باشد اما بر اساس اطلاعات موجود، بیماری در افراد مستعد از نظر ژنتیکی توسعه پیدا می‌کند و ممکن است ابتلا به این بیماری به فاکتورها و عوامل محیطی دیگری نیز نیازمند باشد.

#### ۱-۳-۱-۱ زمینه ایمنوژنتیک و عوامل ژنتیکی

مطالعات فراوانی در طی دهه‌های گذشته مشارکت عوامل ژنتیکی را در بیماری مولتیپل اسکلروزیس مطرح نموده‌اند. شیوع بیماری در اروپای شمالی و شمال آمریکا به طور تقریبی ۲۰۰-۶۰ نفر به ازای ۱۰۰۰۰۰ نفر می‌باشد و این در حالی است که در مناطق با شیوع پایین‌تر مانند ژاپن این میزان بین ۲۰-۶ نفر به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر متغیر می‌باشد. مطالعات جمعیتی، خانواده و دوقلوها نشان دهنده این است که شیوع بیماری در اعضای خانواده افراد مبتلا از احتمال بالاتری برخوردار است (Dyment, 2004). خویشاوندان درجه یک افراد مبتلا به مولتیپل اسکلروزیس به طور تقریبی ۲۰-۵۰ برابر (۵٪-۲٪) از ریسک بالاتری برای توسعه بیماری برخوردار هستند (Dyment, 2004; McFarland, 1992).

مطالعات زیادی به منظور بررسی و شناسایی ژن‌های تأثیرگذار در بیماری مولتیپل اسکلروزیس صورت گرفته است و نتایج این طور نشان می‌دهد که حضور یک یا چند ژن بر روی کروموزوم ۶p۲۱ انسانی در محدوده کمپلکس سازگاری نسجی اصلی<sup>۱</sup>، به میزان ۱۰ تا ۶۰ درصد به عنوان ریسک فاکتور ژنتیکی برای این بیماری محسوب می‌شود (Hillert and Olerup, 1993; Haines et al., 1998).

از لحاظ مطالعات ایمنی‌شناسی، بیماری مولتیپل اسکلروزیس به عنوان یک بیماری خودایمن وابسته به سلول‌های T یاری‌دهنده (Th1) نوع ۱ CD4<sup>+</sup> در نظر گرفته می‌شود (Martin et al., 1992; Hafler, 2004).

<sup>1</sup> Major Histocompatibility Complex (MHC)