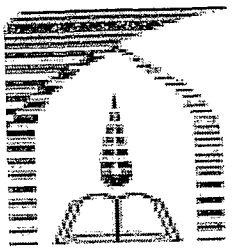
٤٤٧٥

١٩٩٨م

۸۷/۱۰/۸۷۲
۸۸/۲/۵



دانشگاه تربیت مدرّس

دانشکده پزشکی

پایان‌نامه دوره کارشناسی ارشد قارچ شناسی پزشکی

عنوان:

کلون نمودن ژن Aspf1 ، کدکننده آنتی ژن/ آلرژن Aspf1 آسپرژیلوس فومیگاتوس در TA-vector

نگارش:

سارا مردانی

استاد راهنمای اول:

فاطمه غفاری فر

استاد راهنمای دوم:

شهلا رودبارمحمدی

استاد مشاور:

محمد حسین یادگاری

پاییز۸۷

۱۳۸۸/۱۱/۱۸

۱۰۹۹۸۳

فرم تأییدیه اعضای هیأت داوران مندرج در پایان‌نامه کارشناسی ارشد»

بدینوسیله پایان‌نامه کارشناسی ارشد خانم سارا مردانی **رشته: قارچ شناسی گرایش:**
تقدیم می‌شود. اینجانبان نسخهٔ نهائی این پایان‌نامه را از نظر فرم و محتوی بررسی و تأیید کرده و پذیرش آنرا برای تکمیل درجهٔ کارشناسی ارشد پیشنهاد می‌کنیم.

نام و نام خانوادگی و امضاء اعضای هیأت داوران:

دکتر فاطمه غفاری فر (استاد راهنمای اصلی)

دکتر شهلا رودبار محمدی (استاد راهنمای دوم)

دکتر محمد حسین یادگاری (استاد مشاور)

دکتر مجید ریاضی پور (استاد ناظر)

دکتر طراوت بامداد (استاد ناظر)

دکتر معصومه شمس (نماینده تحصیلات تکمیلی)

آئین نامه پایان نامه (رساله) های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس مبین بخشی از فعالیتهای علمی ـ پژوهشی دانشگاه است .بنابراین به منظورآگاهی و رعایت حقوق دانشگاه ، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

ماده ۱: در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود ،مراتب را قبلا به طور کتبی به دفتر " دفتر نشر آثار علمی " دانشگاه اطلاع دهد.

ماده ۲: در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه) عبارت ذیل را چاپ کند :

" کتاب حاضر ، حاصل پایان نامه کارشناسی ارشد / رساله دکتری نگارنده دررشته تاریخ شناسی است که در سال ۱۳۸۷ دردانشکده علوم پزشکی دانشگاه تربیت مدرس به راهنمایی دکتر غفاری ، مشاوره آقای دکتر ... از آن دفاع شده است."

ماده ۳ : به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه ،تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به "دفتر نشر آثار علمی" دانشگاه اهداء کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قراردهد .

ماده ۴: در صورت عدم رعایت ماده ۳ ، ۵۰ ٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس ،تادیه کند.

ماده ۵: دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداختهای بهای خسارت ،دانشگاه مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه ووصول کند ،به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود ، ازطریق دادگاه ، معادل وجه مذکور در ماده ۴ رااز محل توقیف کتابهای عرضه شده نگارنده برای فروش ،تامین نماید .

ماده ۶: اینجانب سارا مردانی دانشجوی رشته تاریخ شناسی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده ، به آن ملتزم می شوم.

نام ونام خانوادگی

تاریخ و امضا

۸۷/۱۱/۱۲

دستورالعمل حق مالکیت مادي و معنوي در مورد نتایج پژوهشهاي علمي
دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان ، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی که با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده ۱ - حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها/ رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده ۲ - انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما مسئول مکاتبات مقاله باشند.
تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه/ رساله نیز منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳ - انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آئین نامه های مصوب انجام می شود.

ماده ۴ - ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی حاصل از نتایج مستخرج از پایان نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ۵ - این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هر گونه تخلف از مفاد این دستورالعمل، از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

نام و نام خانوادگي .
تاریخ و امضاء

۸۷/۱۱/۱۳

تقدیم به :

پدر ، مادر و همسر عزیزم که همواره مشوق وپشتیبان من بوده و در تمامی مراحل زندگی مرا مورد لطف و محبت خود قرار داده اند

تشکر و قدردانی:

- از استاد ارجمندم خانم دکتر غفاری فر که با توان علمی و تواضع خویش و راهنمایی های بسیار ارزنده مرا در به پایان رساندن این امر یاری کردند، کمال قدردانی و تشکر را دارم

- از استاد عزیزم خانم دکتر محمدی که راهنمایی اینجانب را در کمال صبر و آرامش در تمامی مراحل پایان نامه بر عهده داشته و از هیچ مساعدتی، هیچگاه دریغ نکرده ا ند ،سپاسگزارم.

- از استاد محترم جناب آقای دکتر یادگاری که مشاوره این پایان نامه را بر عهده داشتند به خاطر تمام همکاریهایشان کمال تشکر را دارم.

- ازکارشناسان گروه ها خانمها رازقی، قاسمی و آقایان رجبعلیها و آقای کروندیان به خاطر حضور صمیمانه و همکاریهای بی دریغشان در تمام مراحل انجام کار،سپاسگزارم

- از دوستان خوبم خانم ها اسلامی ،جرجانی ،رودباری،جعفری، حیدری و آقایان خسروشاهی و وحیدی کچویی، قربانیان،نجیب زاده به خاطرتمامی مساعدتها و راهنمای هایشان کمال تشکر را دارم.

- از کلیه کارمندان آموزش و پژوهش دانشکده پزشکی متشکرم.

چکیده

مقدمه: آسپرژیلوزیس یکی از بیماریهای مهم در انسان و حیوان و به ویژه یک تهدید جدی در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی می باشد.جنس آسپرژیلوس شامل ۱۸۵ گونه که مهمترین عضو این گروه آسپرژیلوس فومیگاتوس است که عامل اتیولوژیک ۸۰٪ بیماری های مرتبط با آسپرژیلوس می باشد. بیماری های آسپرژیلوسی از یک فرم خفیف مانند کلنیزه شدن ساپروفیتی در ریه یا آسپرژیلوما و فرم حدواسط نظیر آسم ، سینوزیت آلرژیک، رینیت آلرژیک تا فرمی که زندگی انسان را به مخاطره می اندازد مانند آسپرژیلوزیس سیستمیک مهاجم و آسپرژیلوزیس برونکوپلمونری آلرژیک (ABPA) وجود دارد. آنتی ژن / آلرژن Aspf1 یکی از آنتی ژنهای اصلی آسپرژیلوس فومیگاتوس می باشد .این آلرژن در آسپرژیلوزیس مهاجم و آلرژیک نقش دارد وبه عنوان یک ریبوتوکسین با فعالیت ریبونوکلئازی گزارش شده است.

مواد و روشها: ابتدا آسپرژیلوس فومیگاتوس استرین PTCC5009 روی محیط PDA کشت داده شد سپس اسپور های آن توسط بافر PBS جمع آوری گردید و با استفاده از نیتروژن مایع و بافر لیزکننده اسپورهای قارچ خرد شد. DNA آ.فومیگاتوس با روش فنل کلروفرم استخراج گردید وبه عنوان الگو برای تکثیر ژن Aspf1 استفاده شد. سپس محصول PCR درون وکتور PTZ57R\T کلون ودر نهایت در باکتری E-coli ترانسفرم گردید.باکتری ها روی محیط LB حاوی آمپی سیلین، IPTGوX-GAL کشت داده شد.سپس پلاسمید از کلنی سفیدتخلیص و تعیین توالی انجام شد.

نتایج: DNA ژنومیک آ. فومیگاتوس از عصاره کونیدی جدا شد وپس از PCR ژن Aspf1 باند ۶۵۸bp روی ژل آگارز ۱٪مشاهده گردید.نتایج نشان داد که ژن Aspf1 کلون گردیده و بعد از تخلیص پلاسمید وانجام تعیین توالی مشخص شد که نتیجه تعیین توالی در مقایسه با توالی های ژن Aspf1 موجود در بانک ژنی ۱۰۰٪ مطابقت دارد.

بحث: آسپرژیلوزیس یک بیماری پیچیده با میزان مرگ و میر بالا بویژه در افراد مبتلا به آسپرژیلوزیس مهاجم و ABPA می باشد بنابراین شناسایی و تشخیص سریع برای داشتن یک عملکرد مناسب در برابر این بیماری مهم است . در سال های اخیر، روش های مولکولی جهت تسهیل در تشخیص آسپرژیلوزیس در حال گسترش هستند و آنتی ژن/آلرژن های نوترکیب میتوانند جهت تهیه معرف های استاندارد تشخیصی مفید باشند . از آنجایی که Aspf1 ژن اصلی و اختصاصی آ.فومیگاتوس محسوب می شود، میتواند جهت شناسایی این قارچ در نمونه های کلینیکی مورد استفاده قرار گیرد همچنین کلونینگ این ژن در یک وکتور مناسب میتواند در PCR بعنوان کنترل مثبت کمک کننده باشد.بعلاوه کلونینگ میتواند زمینه تحقیقات بیشتر را روی این آلرژن چه از نظر تشخیصی چه از نظر ایمونوتراپی فراهم کند

کلمات کلیدی: : آسپرژیلوزیس، Aspf1 ، آسپرژیلوس فومیگاتوس،ژن کلونینگ

فهرست مطالب

عنوان صفحه

فصل اول: مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱.آسپرژیلوزیس..... ۱

۱-۱-۱.آناتومی حفره بینی..... ۱

۱-۱-۲.سینوزیت های قارچی..... ۳

۱-۱-۲-۱.سینوس های پارانازال..... ۳

۱-۱-۲-۲.انواع سینوزیت های قارچی..... ۴

۱-۱-۲-۲-۱ .توده غیرمهاجم قارچی یا فانگوس بال..... ۵

۱-۱-۲-۲-۲.سینوزیت های قارچی مهاجم..... ۶

۱-۱-۲-۲-۳.رینو سینوزیت مزمن(CRS)..... ۷

۱-۱-۲-۲-۴ .رینو سینوزیت آلرژیک قارچی(AFRS)..... ۸

۱-۱-۳.آسم آلرژیک..... ۸

۱-۱-۴.آسپرژیلوما..... ۹

۱-۱-۵.آسپرژیلوزیس مهاجم..... ۱۰

۱-۱-۶.آسپرژیلوزیس برونکوپولمونری آلرژیک(ABPA)..... ۱۱

۱-۱-۶-۱. مشخصات کلینیکی و مراحل بیماری..... ۱۱

۱-۱-۶-۲. فاکتورهای مستعد کننده بیماری..... ۱۴

۱-۱-۶-۳. معیارهای تشخیصی..... ۱۵

۱-۲. آلرژن های آ.فومیگاتوس ۱۷

۱-۲-۱.آنتی ژن / آلرژن Aspf1 ..... ۲۰

۱-۲-۲.سایر آلرژن های آ.فومیگاتوس..... ۲۱

۱-۳. مکانیسم های دفاعی میزبان علیه قارچ ها..... ۲۵

۱-۴. مقدمه ای بر ژن کلونینگ..... ۲۸

۱-۴-۱. مراحل اصلی ژن کلونینگ..... ۲۸

۱-۴-۲. خلاصه ای بر انواع وکتورهای مورد استفاده در ژن کلونینگ..... ۳۰

۱-۴-۳. آماده سازی قطعه DNA مورد نظر به منظور ژن کلونینگ..... ۳۱

۱-۴-۴. اتصال به وکتور..... ۳۲

۱-۴-۵. مکانیسم عمل آنزیمDNA لیگاز..... ۳۲

۱-۴- ۶. انتقال DNA به باکتری..... ۳۳

۱-۴-۷. کلون نمودن در TA vector..... ۳۳

۱-۵. مروری بر مطالعات گذشته..... ۳۶

فصل دوم: مواد و روش ها

۲-۱. کشت آسپرژیلوس فومیگاتوس..... ۳۹

۲-۲. تخلیص DNA..... ۳۹

۲-۲-۱. استخراج DNA (DNA Extraction)..... ۳۹

۲-۲-۲. اندازه گیری غلظت DNA و تعیین خلوص آن..... ۴۱

۲-۲-۳. الکتروفورز ژل آگارز DNA..... ۴۱

۲-۳. Polymerase Chain Reaction(PCR)..... ۴۳

۲-۳-۱. تکثیر DNA باروش PCR..... ۴۳

۲-۳-۲. بررسی محصولات PCR..... ۴۶

۲-۴. خالص ساز محصول PCR..... ۴۷

۲-۴-۱.استخراج DNA توسط کیت Agarose gel DNA extraction kit ۴۷
۲-۵. کلونینگ در ناقلهای پلاسمیدی ۴۸
۲-۵-۱.اتصال قطعات DNA(DNA ligation) ۴۸
۲-۶. انتقال پلاسمید به باکتری(Transformation) ۴۹
۲-۶-۱. محیط های کشت باکتری ۴۹
۲-۶-۲. محیط نگهدارنده باکتری ها ۵۰
۲-۶-۳. تهیه باکتری مستعد(روش کلرید کلسیم) Competent cell ۵۰
۲-۶-۴. سلول مستعد منجمد شده (Frozen cell) ۵۱
۲-۶-۵. انتقال پلاسمید به درون باکتری (Bacterial transformation) ۵۲
۲-۷. غربال کردن کلون های باکتری حاوی پلاسمید نوترکیب (Screening) ۵۳
۲-۷-۱. مقاومت کلون به آنتی بیوتیک ۵۳
۲-۷-۲. کامل کردن ۵۳
۲-۸. کشت باکتری برای استخراج پلاسمید ۵۴
۲-۸-۱.استخراج پلاسمید ۵۴
۲-۹. روش های تأیید وجود قطعه DNA در حامل پلاسمیدی ۵۵
۲-۹-۱. PCR ۵۵
۲-۹-۲. تعین توالی مولکول DNA ۵۵
۲-۱۰.استخراج DNA از خون ۵۶

فصل سوم: نتایج

۳-۱. نتایج حاصل از کشت آسپرژیلوس فومیگاتوس ۵۹
۳-۲. نتایج حاصل از استخراجDNA ۵۹

۳-۲-۱. نتایج اندازه گیری DNA و تعیین خلوص آن..... ۶۰
۳-۳. نتایج حاصل از تکثیر DNA با روش PCR..... ۶۰
۳-۴. نتایج حاصل از تهیه باکتری مستعد..... ۶۲
۳-۵. نتایج حاصل ازاستخراج محصول PCR از روی ژل آگارز..... ۶۲
۳-۶. نتایج حاصل از کلونینگ در ناقل های پلاسمیدی..... ۶۴
۳-۷. نتایج حاصل از ترانسفورم کردن..... ۶۴
۳-۸. نتایج حاصل از غربالگری باکتری حاوی پلاسمید نوترکیب..... ۶۴
۳-۹. نتایج حاصل از تخلیص پلاسمید..... ۶۶
۳-۱۰. نتایج حاصل از تأئید وجود قطعه Aspf1 در پلاسمید نوترکیب..... ۶۷
۳-۱۰-۱. نتایج حاصل از PCR پلاسمید نوترکیب..... ۶۷
۳-۱۰-۲. نتایج حاصل ازتعین توالی..... ۶۹
۳-۱۱. نتایج حاصل از استخراج DNAو PCR خون بیماران..... ۷۱

فصل چهارم:بحث و پیشنهادها

۴-۱. بحث..... ۷۳
۴-۲. پیشنهادها..... ۸۳
فهرست منابع و ماخذ..... ۸۴

فصل اول

مقدمه و مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱. آسپرژیلوزیس

جنس آسپرژیلوس شامل ۱۸۵گونه می باشد که مهمترین عضو این گروه آسپرژیلوس فومیگاتوس است که عامل اتیولوژیک ۸۰٪ بیماری های مرتبط با آسپرژیلوس می باشد. بیماری های آسپرژیلوسی از یک فرم خفیف مانند کلنیزه شدن ساپروفیتی در ریه (آسپرژیلوما) و فرم حدواسط نظیر آسم ، سینوزیت آلرژیک، رینیت آلرژیک تا فرمی که زندگی انسان را به مخاطره می اندازد مانند آسپرژیلوزیس سیستمیک مهاجم و آسپرژیلوزیس برونکوپلمونری آلرژیک[1] (ABPA) وجود دارد[۱].

این گونه قارچی با ظرفیت اسپورزائی بالا در حد ۱۰۰-۱ اسپور در متر مکعب به قطر کونیدی μ ۴-۲از طریق استنشاق وارد مناطق آلوئولی ریه شده و چناچه از طریق حرکت مژک های راه های تنفسی به بیرون دفع نشود توانایی اتصال به فیبرونکتین و کلاژن تیپ I و IV پارانشیم ریوی را پیدا می کند [۲].

با توجه به اینکه عمده ترین راه ورود اسپورهای قارچی ، حفرات بینی می باشد به اختصار ، به آناتومی حفره بینی می پردازیم .

۱-۱-۱. آناتومی حفره بینی

حفره بینی از سمت دهانه خلفی به نازوفارنکس متصل می شود [۳]. حجم این حفره در انسان $16\ cm^3$ تخمین زده می شود [۴]و بوسیله دیواره کناری که ساختمان پیچیده ای دارد و شامل بخش های از چند استخوان است ،احاطه شده که سه تا از این استخوان ها اساس توربینت های[2] بینی را تشکیل می دهد. (به شکل ۱-۱ رجوع شود)

---

[1] . Allergiac bronchopulmonary aspergillosis

[2] . Turbinate

عملکرد این توربینیت ها تصفیه و مرطوب نگه داشتن و تنظیم دمای هوای تنفسی شده است [۵].

سطح حفره بینی، توربینیت ها و سینوس های پارانازال با مخاط پوشیده شده و از چهار تیپ اپی تلیوم مجزا تشکیل شده که شامل:

1. Olfactory epithelium [OE]
2. Stralified squamuous epithelium [SE]
3. Respiratory epithelium [RE]
4. Non ciliated cuboidal/columnar epithelium [NCE]

می باشد که هر یک از این تیپ سلول ها، جمعیت سلولی واحدی هستند که سراسر حفره بینی را در بر گرفته اند [۶].

مکانیسمی که برای پاکسازی حفره بینی از ذرات خارجی وجود دارد بدین صورت است که ذرات تنفس شده در موکوس غلیظی که اپی تلیوم دستگاه تنفسی را پوشانده به دام می افتد و به واسطه حرکات هماهنگ موکوسیلیاری، موکوس در بین حفره های بینی حرکت کرده و به داخل نازوفارنکس رانده می شود و در آنجا ذرات تنفس شده بلعیده و هضم می گردند یا توسط ماکروفاژ های موجود فاگوسیته می شوند.

وقتی که دریچه اوستیوم[1] بسته می شود یا موکوس خیلی غلیظ می گردد، این پروسه دچار اشکال می گردد[۶،۷].

بطور کلی اپی تلیوم حفره بینی بعنوان یک سد آناتومیکی عمل می کند تا نه تنها مانع رسیدن آنتی ژن ها به بافت های سطحی شود بلکه باترشح لیزوزیم و دیفنسین ها، کلنیزه شدن میکروب های پاتوژن را کاهش دهد [۷].

[1] ostium

همانطور که قبلا گفته شد آسپرژیلوزیس مجموعه ای از بیماری ها می باشد که به اشکال مختلف در انسان و حیوان دیده می شود [۸] که در ادامه به برخی از انواع آسپرزیلوزیس اشاره می گردد.

۱-۱-۲. سینوزیت های قارچی

به درگیری یکی از چهار حفره سینوس پارانازال، سینوزیت گفته می شود [۹].لذا مختصرا" به بررسی سینوس های پارانازال پرداخته می شود

۱-۱-۲-۱. سینوس های پارانازال

در چهارچوبی از غضروف، استخوان و توربینیت چهار حفره سینوسی ناحیه پارانازال قرار دارند که نقش آنها مرطوب نمودن هوای وارد شده به حفره بینی، خارج کردن ذرات موجود در هوای تنفس شده، کمک به رزونانس صدا، سبک کردن وزن کاسه سر و حفاظت از مغزدر برابر ضربات مستقیم می باشد.

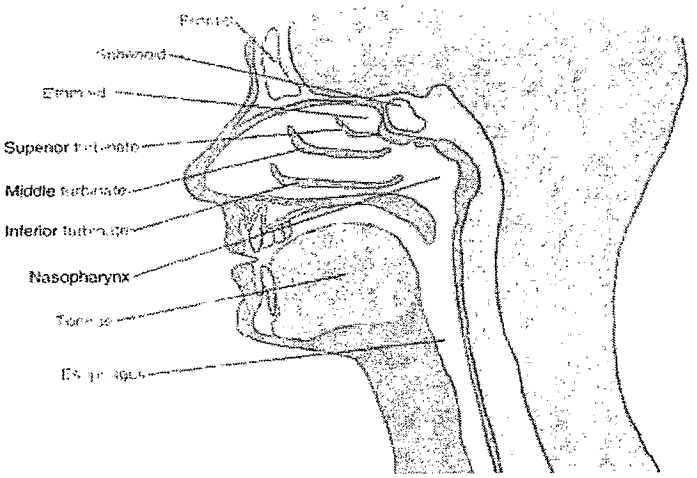
همه سینوس های پارانازال از طریق دریچه ای که اوستیوم نامیده می شود به حفره بینی متصل می شوند. این دریچه ها باعث می شوند که فشار سینوس ها کاهش یافته و مایعات زائد و موکوس از هر یک از حفره ها درناژ گردد.

از آنجایکه اوستیوم تنها راهی که از طریق آن موکوس و مایعات از سینوس ها درناژ می شوند ، اگر این دریچه در اثر التهاب یا بیماری، باریک یا بسته شود، ارگانیسم های فرصت طلب می توانند در حفره سینوسی نفوذ کرده و باعث عفونت شوند [۷،۹].

هر سینوس به واسطه استخوانی که روی آن یا درون آن قرار گرفته نام گذاری می شود، در نتیجه نام های فرونتال[1] ،اسفنوئید[2] ، اتموئید[3] وماکسیلاری[4] برای آنها در نظر گرفته شده است. حفره فرونتال کوچک تا متوسط بوده و بالای حدقه چشم ها و در هر دو طرف صورت قرار دارد. سینوس اتموئید

[1] frontal
[2] sphenoid
[3] ethmoid
[4] maxillary

ظاهری شبیه کندوی عسل دارد و هر قسمت از آن شامل ۱۲-۶ سلول هوایی است و محل قرار گیری آن بالای بینی و در نزدیکی سینوس فرونتال می باشد. پشت سینوس اتموئید و نزدیکی وسط کاسه سر دو حفره نامتقارن اسفنوئید قرار دارند. و بالاخره بزرگترین سینوس ، ماکسیلاری است که زیر گونه ها در هر دو طرف صورت قرار گرفته است [۳،۹]. (به شکل ۱-۱ رجوع شود)



شکل۱-۱ محل قرار گیری سینوس های پارانازال و توربینیت های بینی

۱-۱-۲-۲.انواع سینوزیت های قارچی

سینوزیت های قارچی به ۴ دسته طبقه بندی می شوند

۱. توده غیر مهاجم قارچی (به طور کلی فانگوس بال گفته می شود)
۲. سینوزیت های مهاجم (حاد یا مزمن)
۳. رینوسینوزیت مزمن[1] (CRS)
۴. رینوسینوزیت آلرژیک قارچی[2] (AFRS)

[1] Chronic Rhinosinusitis

[2] .allergic fungal rhinosinusitis

نوع و شدت بیماری با توجه به وضعیت سیستم ایمنی میزبان که آتوپیک است ،ضعف یا صلاحیت سیستم ایمنی دارد متفاوت است [۱۰].

۱-۱-۲-۲-۱ .توده غیرمهاجم قارچی یا فانگوس بال

فانگوس بال ها انواع سینوزیت های قارچی غیرمهاجم و غیر ایمونوژنیک در افراد درای صلاحیت سیستم ایمنی می باشند. توده های آنها میسلیوم های درهم پیچیده ای می باشد که می تواند در حفره های سینوسی برای ماه ها یا سال ها بدون هیچ تهاجمی به بافت باقی بمانند. این توده ها به صورت پنیری شکل، شن مانند، لاستیک مانند و یا توده های روغنی دیده می شوند که به راحتی از مخاط قابل افتراق هستند. رنگ آنها ممکن است سیاه یا مایل به قهوه ای باشد و اغلب دارای بوی نامطبوع هستند. یک پاسخ التهابی کوچک می تواند در محل دیده شود، ولی شکل بینی تغییر پیدا نمی کند [۱۱].

این توده خوش خیم اغلب در سینوس ماکسیلاری و به ندرت در سینوس اسفنوئید دیده می شود. از علائم شایع گرفتگی مزمن بینی، درد موضعی در سینوس ماکسیلاری و آب ریزش است. گونه های مختلف قارچ بعنوان عامل اتیولوژیک سینوزیت های غیر مهاجم قارچی گزارش شده اند؛ ولی ارگانیسم های شایع شامل آ.فومیگاتوس ، آ.فلاووس، گونه های آلترناریا و در موارد نادر پنی سیلیوم می باشند [۱۲].

بیماری زایی توده غیر مهاجم هنوز شناخته نشده است ولی احتمالاً علت آن پایداری اسپورهای قارچ در حفره بینی است [۱۳]. وقتی یک اسپور در حال رویش و جوانه زایی می باشد، ممکن است توسط حرکات موکوسیلیاری حذف نشود، بنابراین هایف ها طویل می شوند و حذف آنها توسط عوامل فیزیولوژی مشکل می گردد. درمان معمول این توده جراحی بوده ولی برای برداشتن توده های کوچک می توان از شستشو استفاده کرد[۸،۱۳].

۱-۱-۲-۲-۲. سینوزیت های قارچی مهاجم

سینوزیت های قارچی مهاجم به دو زیر گونه مجزا تقسیم می شوند: ۱- حاد ۲- مزمن.

سینوزیت های حاد در افراد دچار ضعف سیستم ایمنی رخ می دهد، مانند افرادی که پیوند مغز استخوان شده اند یا مبتلایان به HIV و غیره، و معمولاً کمتر از ۴ هفته طول می کشد.و بعنوان سینوزیت های کشنده[1] که با پیشرفت سریع بیماری و تخریب ساختمانی همراه است شناخته می شود [۱۴]. مشخصه این بیماری رشد هایف و گسترش آن در حفره های سینوسی و تهاجم به مخاط و سیستم عروقی و در حالت های شدیدتر تهاجم به کاسه سر می باشد.

مطالعات هیستولوژیکی گسترش هایف، نفوذ سلولی و نکروز بافت اطراف را نشان می دهد. در مطالعات انجام شده توسط Ruduck در نمونه مخاط افراد مبتلا به سینوزیت حاد غلظت سایتوکاین های IL-3, IL-6, IL-1β و IL-8 در مقایسه با مخاط افراد سالم افزایش نشان دادند که این نشانه پاسخ ایمنی ذاتی بر علیه تهاجم قارچی است [۱۵].

در اکثر موارد سینوزیت حاد با یک سرما خوردگی آغاز می شود [۱۶] البته این سرما خوردگی های ویروسی به خودی خود دلیل سینوزیت های حاد نیستند ولی در التهاب سینوس ها و مخاط اطراف موثرند [۸].

از عوامل شایعی که در این بیماری دیده شده اند، آ.فومیگاتوس، آ.فلاووس و گونه های آلترناریا و در موارد نادر ک.نئوفورمنس، ک.آلبیکنس می باشند. سینوزیت های قارچی مزمن از نوع حاد آن متفاوت است از نظر اینکه میزبان دارای صلاحیت مناسب ایمنی بوده و علائم مربوط به بیماری بیشتر از ۴ هفته ادامه می یابد [۱۱]. این بیماران دارای یک تاریخچه طولانی آلرژی، آسم و پولیپ بینی هستند.

بیماری می تواند ماه ها یا سال ها پیشرفت داشته باشد و علائم آن شامل آسیب دیدگی سد های جداکننده سینوسهای پارانازال و ساختمان های مجاور مانند حدقه، مغز و غده هیپوفیز می باشد. بعلاوه

[1] fulminant

بیماران ازآنوریسم[1] قارچی، پارگی سرخرگ گردن، سائیدگی کف ماکسیلاری که منجر به تخریب کام می شود و سائیدگی تیغه غربالی که منجر به سردردهای مزمن و سکته و کاهش توانایی ذهنی می شود، نیز رنج می برند [۱۷]. عوامل اتیولوژیک سینوزیت مزمن مشابه عوامل سینوزیت حاد می باشد [۱۲].

در مطالعات انجام شده توسط Ruduck در مخاط مبتلایان به سینوزیت مزمن تنها سایتوکاینی که سطح بالایی را نشان می داد IL-3 بود [۱۵]. ولی در کارهایی که اخیراً انجام شده، افزایش IL-8, Il-6, IL-5, IL-1β و TNF-α نیز در مخاط سینوزال بیماران نشان داده شده است [۲۴]. این نوع سینوزیت ها معمولاً تشخیص داده نمی شوند مگر بعد از عدم بهبودی پس از مصرف طولانی مدت آنتی بیوتیک [۱۸].

۱-۱-۲-۲-۳. رینو سینوزیت مزمن(CRS)

CRS التهاب مخاط پارانازال و بینی است که بیش از سه ماه ادامه پیدا می کند. درمان های جراحی و پزشکی اغلب کمک کننده نمی باشند و در مطالعات هیستوپاتولوژیک التهاب لایه مخاطی، هایپرپلازی سلول های گابلت[2] ، ادم در ناحیه زیر اپیتلیال و ارتشاح سلول های مونونوکلئر دیده می شود [۱۹]. گسترش پولیپ ها نیز اغلب همراه با این بیماری است [۱۴]. در سال ۱۹۹۹ Ponikau و همکارانش پیشنهاد کردند که یک واکنش افزایش حساسیت به قارچ مسئول ایجاد CRS است [۲۰].

لوکوسیت های اصلی در این بیماری، ائوزینوفیل ها بوده ولی در فرم مهاجم اغلب نوتروفیل ها دیده می شوند [۲۱]. سایتوکاین هایی نظیر IL-1β, IL-6, MCP-1[3], TNF-α و PGE2[4] در CRS دیده شده اند که احتمالاً درپایداری التهاب نقش دارند [۲۲].

---

[1] aneurysms
[2] goblet
[3] Membrane cofactor protein
[4] Prostaglandin E2