

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه علوم پزشکی شیراز

دانشکده دندانپزشکی

پایان نامه جهت اخذ درجه دکترای دندانپزشکی تخصصی

عنوان:

**مقایسه وضعیت پریدنتال. سطح سرمی و پلی مرفیسم ژنی
IL-17 بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با افراد فاقد بیماری
آرتریت روماتوئید**

اساتید راهنما: دکتر فرین کیانی ، دکتر اسکندر کمالی سروستانی

استاد مشاور: دکتر الهام افلاکی

توسط
دکتر سحر علیزاده

نگارش: دکتر سارا معصومی

۱۳۸۹/۹/۱۴

شماره پایان نامه : ۱۲۴۲

تیرماه ۱۳۸۹

مرکز تحقیقات خود ایمنی

۱۴۷۲۲۱

به نام خدا

ارزیابی پایان نامه

پایان نامه شماره ۱۲۴۲ در رشته تخصصی پریدنتولوژی

تحت عنوان:

مقایسه وضعیت پریدنتال، سطح سرمی و پلی مرفیسم ژنی IL-17 بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با افراد فاقد بیماری آرتریت روماتوئید

توسط دکتر سارا معصومی در تاریخ ۸۹/۴/۲ در کمیته بررسی پایان نامه مطرح و با نمره ۲۰ و درجه عالی به تصویب رسید.

اساتید محترم راهنما:

سرکار خانم دکتر فرین کیانی

جناب آقای دکتر اسکندر کمالی سروستانی

استاد محترم مشاور:

سرکار خانم دکتر الهام افلاکی

هیات داوران:

۱. سرکار خانم دکتر هنگامه خسروپناه نماینده معاون آموزشی تخصصی

۲. جناب آقای دکتر هومان حورشیدی

۳. جناب آقای دکتر سعید رئوفی نماینده معاون پژوهشی

۴. جناب آقای دکتر حمید رضا شیربانی نماینده سرپرست تخصصی

۵. جناب آقای دکتر هومن ابراهیمی نماینده معاون آموزشی

شماره پایان نامه : ۱۲۴۲

تیرماه ۱۳۸۹

مرکز تحقیقات خود ایمنی

تقدیم به پدر و مادر عزیز و مهربانم

به آنانکه هر آنچه از کودکی تاکنون از ایشان در وجودم نقش بسته است، تنها عشق است و بس.

به آنان که همواره سختی های را هم را بر جان فریده اند.

تقدیم به دکتر شاهین ستوده مرام

همسر مهربان و فداکارم

به همقدم و همراه همیشگی ام

که مظهر عشق و فداکاری بوده و یاور و پشتیبانم می باشد.

که محبت او مایه آرامش من است و طی این مسیر بدون

همراهی او ممکن نبود.

تقدیم به خواهران عزیزم (ساناز، سولماز) :

که سازنده بهترین لحظات زندگی‌م بوده‌اند.

تقدیم به پدر و مادر عزیز همسرم:

آنها که راه چگونگی پاک زیستن را به من آموختند.

تقدیم به استاد عزیزم سرکار خانم دکتر فرین کیانی

که در مضر ایشان بسیار آموختم و در تمام دوره
تصیلم راهنمایم بوده اند امید آنکه بتوانم قدردان
زحمات بی دریغشان باشم.

تقدیم به استاد ارجمند جناب آقای دکتر کمالی

که در مقطعی از تصیلم بر نظام فکری ام تاثیر گذاشته
و صبورانه هدایتیم کرده اند.

تقدیم به استاد گرامی سرکار خانم دکتر افلاکی

به پاس زحمات و راهنماییهای ارزشمندشان

با سپاس بیکران از استادان گرانقدر بخش پریو که
در طول دوران تحصیل راهنمایم بودند و همواره به
شاکردی ایشان اقتفاری می‌کنم. امید آنکه بتوانم
قدر دان محبت و زحمت بی دریغ ایشان باشم.

تقدیم به تمامی دوستان عزیزم در بخش پریو
که تا ابد نام و یادشان در ذهن و قلبم باقی خواهد ماند.

با تشکر از محبت های بی دریغ

سرکار خانم میرزائی که در طراحی و شکیلی کردن قسمت
های مختلف پایان نامه وقت گرانبهای خود را صرف کردند.

فهرست مطالب:

چکیده فارسی

- ۱..... مقدمه
- ۶..... آرتریت روماتوئید.....
- ۷..... - تعریف بیماری
- ۸..... - اپیدمیولوژی
- ۸..... - میزان شیوع
- ۹..... - تظاهرات بالینی
- ۱۰..... -مفاصل درگیر
- ۱۰..... -تظاهرات خارج مفصلی
- ۱۱..... - اتیولوژی
- ۱۲..... - پاتوژنز
- ۱۳..... -نقش فاکتورهای ایمنولوژیک.....
- ۱۴..... -نقش سایتوکاین ها و کموکاین ها.....
- ۱۶..... -نقش ژنتیک
- ۱۷..... - تشخیص بیماری
- ۱۷..... -یافته های آزمایشگاهی
- ۱۸..... -ارزیابی رادیوگرافیک
- ۱۹..... - معیارهای تجدید شده سال ۱۹۹۲ برای طبقه بندی آرتریت روماتوئید
- ۲۰..... - درمان

- پرئودنتتت ٢٢
- پرئودنتتت مزمن ٢٣
- اتئولوژی و پاتوژنز بئمارئ هائ پرئودنتال ٢٤
- مقائسه دو بئمارئ آرتريت روماتوئئد و پرئودنتتت ٢٧
- شباهت هائ كلئنكئ دو بئمارئ ٢٨
- شباهت هائ پاتوژنز دو بئمارئ ٢٨
- شباهت هائ ژنتكئ دو بئمارئ ٣١
- شباهت هائ ائمنولوژك دو بئمارئ ٣٢
- شئوع آرتريت روماتوئئد در بئماران پرئودنتتت ٣٣
- شئوع پرئودنتتت در بئماران آرتريت روماتوئئد ٣٣
- نقش پرئودنتتت به عنوان فاكفور علتئ در پاتوژنز آرتريت روماتوئئد ٣٨
- نقش آرتريت روماتوئئد به عنوان فاكفور علتئ در پاتوژنز پرئودنتتت ٣٩
- مسئر هائ غير علتئ ٤١
- مرورئ بر ژنتك ٤٣
- كروموزوم و ساختار كروموزوم (كارئوتئپ) ٤٤
- اسئدهائ نوكلئك ٤٥
- رمز ژنتكئ (Genetic code) ٤٤
- ژن و ساختمان آن ٤٧
- موتاسئون و پلئ مورفئسم ژئئ ٤٨
- ارتباط ژنتك با شاخص هائ پرئودنتال ٥١
- ارتباط ژنتك با خونرئزئ حئن پروب كردن و شاخص لئه ٥٢
- ارتباط ژنتك با مئزان تئلئل استخوان، از دست رفتن چسبندگئ و عمق پاكف ٥٣

- ۵۳ ارتباط ژنتیک با از دست دادن دندان
- ۵۴ ارتباط ژنتیک با ترمیم پرپودنتال پس از درمان
- ۵۵ سایتوکاین ها
- ۵۶ نقش سایتوکاین ها در پاتوژنز آرتریت روماتوئید و پرپودنتیت
- ۵۹ ارتباط پلی مورفیسم ژنی سایتوکاین های مختلف با آرتریت روماتوئید و پرپودنتیت
- ۶۰ IL-1
- ۶۱ IL-1 و آرتریت روماتوئید
- ۶۱ پلی مورفیسم IL-1 و آرتریت روماتوئید
- ۶۲ پلی مورفیسم IL-1 و پرپودنتیت
- ۶۳ (Tumor necrotic factor) TNF
- ۶۳ پلی مورفیسم TNF- α و آرتریت روماتوئید
- ۶۴ پلی مورفیسم TNF- α و پرپودنتیت
- ۶۵ IL-6
- ۶۶ پلی مورفیسم IL-6 و آرتریت روماتوئید
- ۶۶ پلی مورفیسم IL-6 و پرپودنتیت
- ۶۷ IL-17
- ۶۷ نقش IL-17 در بیماریهای التهابی
- ۷۰ نقش IL-17 در پاتوژنز آرتریت روماتوئید
- ۷۳ نقش IL-17 در پاتوژنز بیماریهای پرپودنتال
- ۷۷ پلی مورفیسم ژن HLA در آرتریت روماتوئید و پرپودنتیت
- ۷۹ مواد و روش ها
- ۸۰ انتخاب نمونه ها

- ۸۱ معاینات دهانی
- ۸۳ مراحل آزمایشگاهی
- ۸۳ استخراج DNA به روش Salting out
- ۸۴ تعیین غلظت DNA استخراج شده
- ۸۵ تعیین تعیین پلی مورفیسیم A/G در ژن IL-17 (rs2275q13)
- ۸۷ الکتروفورز محصول PCR
- ۸۷ (Restriction Fragment length polymorphism) RFLP
- ۸۸ الیزا (ELISA)
- ۸۹ اندازه گیری IL-17 به روش الیزا
- ۹۰ آنالیز آماری
- ۹۱ یافته ها
- ۱۰۹ بحث
- ۱۰۹ بحث
- ۱۲۵ نتیجه گیری
- ۱۲۶ پیشنهادات
- ۱۲۸ منابع
- ۱۵۷ چکیده لاتین

فهرست جداول :

۱۵	جدول ۱
۳۰	جدول ۲
۵۸	جدول ۳
۶۹	جدول ۴
۷۶	جدول ۵
۹۳	جدول ۶
۹۳	جدول ۷
۹۷	جدول ۸
۹۷	جدول ۹
۹۸	جدول ۱۰
۹۸	جدول ۱۱
۹۹	جدول ۱۲
۹۹	جدول ۱۳
۱۰۰	جدول ۱۴
۱۰۱	جدول ۱۵
۱۰۱	جدول ۱۶
۱۰۲	جدول ۱۷
۱۰۳	جدول ۱۸

۱۰۳	جدول ۱۹
۱۰۴	جدول ۲۰
۱۰۴	جدول ۲۱
۱۰۵	جدول ۲۲
۱۰۶	جدول ۲۳
۱۰۷	جدول ۲۴
۱۰۷	جدول ۲۵

فهرست نمودارها :

۹۴	نمودار ۱
۹۴	نمودار ۲
۹۵	نمودار ۳
۹۵	نمودار ۴
۹۶	نمودار ۵
۹۶	نمودار ۶
۱۰۰	نمودار ۷
۱۰۲	نمودار ۸
۱۰۵	نمودار ۹
۱۰۶	نمودار ۱۰
۱۰۸	نمودار ۱۱

مقایسه وضعیت پریدونتال، سطح سرمی و پلی مورفیسم ژنی IL-17

بیماران مبتلا به آرتریت روماتوئید با افراد فاقد بیماری آرتریت روماتوئید

چکیده:

بیان مسئله: امروزه شواهد زیادی نشانگر یک ارتباط قوی بین گسترش و شدت بیماریهای پریدونتال و آرتریت روماتوئید (RA) است. در عین حال که به نظر نمی رسد این ارتباط یک رابطه ی علتی باشد، این مسئله عنوان شده است که افراد مبتلا به RA پیشرفته به احتمال بیشتری دارای مشکلات قابل توجه پریدونتال در مقایسه با افراد فاقد RA هستند و بر عکس.

همچنین شواهد متعددی در خصوص حضور و نقش IL-17 در پاتوژنز RA و پریدونتیت مزمن وجود دارد. نقش پلی مورفیسم ژنی برای سایتوکاین های پیش التهابی و گیرنده های آن به عنوان تاثیر گذار بالقوه در پاتوژنز بیماریهای RA و پریدونتیت مطرح شده است.

هدف: هدف از این پژوهش بررسی وضعیت پریدونتال بیماران RA استان فارس و ارتباط آن با سطح سرمی و پلی مورفیسم ژنی IL-17 در مقایسه با افراد سالم (فاقد RA) بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه مورد-شاهدی پلی مورفیسم موجود در ژنوتیپ IL-17 در موقعیت 197A/G - در ۱۴۲ بیمار مبتلا به RA (به عنوان گروه مورد) و ۱۰۶ فرد سالم (به عنوان گروه کنترل) به روش RFLP-PCR تعیین شد. سطح سرمی IL-17 در ۴۷ فرد مبتلا به RA (گروه مورد) و ۳۰ فرد سالم (گروه کنترل) به روش الیزا اندازه گیری شد و مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. برای کلیه ی افراد معیارهای کلینیکی پریدونتال شامل عمق پاکت پریدونتال (PPD)، سطح اتصالات کلینیکی (CAL)، ایندکس خونریزی

(BI) Lenox و ایندکس پلاک (PI) O'leary (نیز اندازه گیری شد و مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت .

همچنین پارامترهای پاراکلینیکی RF ، ESR و CRP در گروه بیماران RA ارزیابی شد.

یافته ها : CAL و PPD در گروه مورد که دارای پریدونتیت متوسط و شدید بودند نسبت به

همان افراد در گروه کنترل بالاتر بود (CAL, P = ۰/۰۳) (PPD, P = ۰/۰۳).

اما تعداد دندانهای از دست رفته، BI و PI در این دو گروه تفاوت آماری قابل توجه ای نشان ندادند.

بالاترین سطح سرمی IL-17 در مبتلایان به پریدونتیت متوسط / شدید در هر دو گروه دیده شد، گروه مورد (P = ۰/۰۱۳) و گروه کنترل (P = ۰/۰۲۶) .

اما این پارامتر بین دو گروه مورد و کنترل تفاوت آماری معنی داری نشان نداد. (P = ۰ / ۲۵۳).

پارامترهای پاراکلینیکی (RF, ESR, CRP) در گروه مورد، با شدت پریدونتیت ارتباط مثبت نشان دادند.

توزیع ژنوتیپ IL-17 در موقعیتهای ذکر شده بین دو گروه مورد و کنترل تفاوت آماری معناداری نشان نداد.

همچنین ژنوتیپ های یاد شده با جنسیت افراد، تعداد دندانهای از دست رفته، CAL ، PPD ، BI و PI در دو گروه مورد بررسی ارتباط نداشت. پارامترهای پاراکلینیکی نیز ارتباط آماری قابل توجه ای با ژنوتیپ های ذکر شده نشان ندادند.

نتیجه: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که مبتلایان به RA مستعد ابتلا به پریودنتیت متوسط و شدید هستند و سطح سرمی IL-17 ارتباط آماری مثبتی با شدت پریودنتیت در هر دو گروه مورد و کنترل دارد. همچنین ارتباط آماری قابل توجهی بین ژنوتیپ IL-17 در موقعیت A/G ۱۹۷- و شیوع و شدت پریودنتیت در دو گروه مبتلایان به RA و افراد سالم وجود ندارد.

واژگان کلیدی: آرتریت روماتوئید، پریودنتیت مزمن ، پلی مورفیسم IL-17

مقدمه

مقدمه:

بیماری آرتریت روماتوئید شایعترین فرم پلی آرتریت مزمن التهابی می باشد که تقریباً ۱-۵٪ درصد افراد جامعه را تحت تاثیر قرار می دهد. آرتریت روماتوئید نتیجه ی برخورد میزبان مستعد از نظر ژنتیکی با آنتی ژن های ناشناخته می باشد. بیماری های پریدونتال جزء بیماری های عفونی مزمن می باشند. وجود پلاک میکروبی برای آغاز پریدونتیت ضروری است، اما مقدار پلاک لزوماً در ارتباط با شدت بیماری نمی باشد. سیستم ایمنی میزبان شبکه پیچیده ای از تداخل عمل سلول ها و مولکول های تنظیم کننده است. اندوتوکسین باکتری ها موجب ترشح و آزاد سازی پروستا گلاندین ها، ماتریکس متالوپروتینازها و سایتوکاین های پیش التهابی نظیر IL-1 ، TNF- α ، IL-6 ، IL-8 و IL-17 از سلول های التهابی می شوند.^(۱) IL-17 یک سایتوکاین پیش التهابی مشتق از T-cell است، که نقش مهمی در تنظیم پاسخ التهابی و ایمنی و در نتیجه پیشرفت بیماری های اتوایمیون دارد. علاوه بر این IL-17 یک نقش سینرژیک با TNF- α و IL-1 در التهاب غضروف و تخریب مفاصل دارد، همچنین این سایتوکاین باعث تحریک MMP-1 و MMP-3 در فیبروبلاست های لته که نقش مهمی در تخریب بافت در پریدونتیت دارند، می شود. تجمع سلول های التهابی (شامل نوتروفیل ها، سلول های T, B و مونوسیت ها) همراه با آزاد سازی مدیاتورهای التهابی، ادما، پرولیفراسیون سلولهای اندوتلیایی و تخریب ماتریکس در هر دو بیماری دیده میشوند که تحت تاثیر عوامل سیستمیک، ژنتیک و محیطی تعدیل میشوند.^(۲) سایتوکاین های پیش التهابی زیادی نظیر IL-1 – IL-6 ، IL-8 ، TNF- α و IL-17 با مقادیر بالا در مایع شیار لته ای و بافت های پریدونتال مبتلایان به پریدونتیت و همچنین در سرم و مایع سینویال مبتلایان به آرتریت روماتوئید یافت شده است که تاثیر مهمی در تخریب بافت های پریدونتال و استخوانی دارند. به

علت تشابه در پاتوژنز دو بیماری این فرضیه مطرح می شود که افرادی که در معرض ریسک ابتلا به آرتریت روماتوئید هستند ممکن است در معرض ریسک ابتلا به پریدونتیت هم باشند و برعکس. مطالعات گذشته نگر زیادی نشان داده اند که افراد مبتلا به آرتریت روماتوئید در مقایسه با افراد سالم به احتمال بیشتری دچار پریدونتیت متوسط و شدید می شوند.^(۳)

با توجه به احتمال بالا بودن بیماری پریدونتیت در مبتلایان به آرتریت روماتوئید و لزوم حفظ سلامت دندانها و لثه در این افراد، بررسی وضعیت دندانها و پریدونشیوم مبتلایان به آرتریت روماتوئید استان فارس (مراجعه کنندگان به درمانگاه شهید مطهری) هدف اولیه ی تحقیق حاضر می باشد تا در صورت بالا بودن شدت بیماری پریدونتیت در این افراد (در مقایسه با افراد سالم) اقدامات پیشگیری و درمانی لازم برای آنها صورت پذیرد. این اقدامات میتواند شامل آگاهی دادن به بیماران آرتریت روماتوئید ، دندانپزشکان و متخصصان داخلی جهت رعایت استانداردهای دقیق بهداشت دهان و دندانها، تشخیص زود هنگام بیماری پریدونتیت، ارجاع و درمان به موقع آنها باشد.

همان طور که اشاره شد به نظر میرسد که این دو بیماری جنبه های مشترک پاتولوژیک زیادی داشته باشند. تحقیقات اخیر به دنبال یافتن مکانیزمهای مشترک پاتولوژیک/ ایمنولوژیک در این دو بیماری هستند. برخی محققین معتقدند که دو بیماری آرتریت روماتوئید و پریدونتیت می توانند از طریق مسیر مشترک " اختلال در عملکرد سیستم التهابی میزبان " در ارتباط نزدیک با یکدیگر باشند، بطوریکه تخریب بافت هم بند و استخوانی حاصل در دو بیماری حاصل اختلال در عملکرد سیستم ایمنی می باشد. ماهیت این اختلال هنوز به طور کامل شناخته نشده است ولی به نظر می رسد که بهم خوردن تعادل مابین فعالیت سایتوکاینهای پیش التهابی و ضد التهابی در این مسیر تخریبی موثر باشد.^(۱)