به نام خداوند جان و خرد

۱۳۷۹۴۹

دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی قزوین

دانشکده پزشکی شهید بابائی

پایان نامه جهت اخذ دکترای تخصصی بیماری های داخلی

عنوان

بررسی آلودگی پلاک های دندانی و بافت معده با باکتری هلیکو باکتر پیلوری

استاد راهنما

جناب آقای دکتر همایون شیخ الاسلامی

اساتید مشاور

جناب آقای دکتر علی اکبر حاج آقا محمدی

جناب آقای دکتر علی زرگر

جناب آقای دکتر جلال الدین حمیصی

۱۳۸۹/۳/۱۷

سرکار خانم دکتر اصلانی مهر

جناب آقای مهندس امیر جوادی

نگارش

دکتر رامین رفیعی

شماره پایان نامه ۱۹۶

سال تحصیلی: ۱۳۸۷-۸۸

۱۳۷۹۴۹

با تشکر از استاد ارجمند جناب آقای دکتر همایون شیخ الاسلامی

به جهت راهنمائی های ارزنده شان در انجام هرچه بهتر این پژوهش

****

و همچنین با تشکر از

جناب آقای دکتر حاج آقا محمدی

جناب آقای دکتر زرگر

جناب دکتر حمیصی

جناب آقای دکتر سرائی

سرکار خانم دکتر اصلانی مهر

جناب آقای مهندس جوادی

جناب آقای علیزاده

تقدیم به همسر مهربانم

و فرزند عزیزم رادین

تقدیم به پدر و مادرم

دستانشان را می بوسم.

فهرست مطالب

مقدمه.....1

اهداف

هدف اصلی.....3

اهداف فرعی.....3

اهداف کاربردی.....3

سوالات پژوهش.....4

فرضیات پژوهش.....5

تاریخچه.....6

باکتریولوژی.....8

اپیدمیولوژی.....10

روشهای انتقال.....11

فاکتورهای التهاب زا.....12

پاتولوژی و پاتوژنز.....22

تظاهرات بالینی.....26

روش های تشخیصی.....29

میکروبیولوژی پلاک دندانی.....41

ساختمان و ترکیب پلاک دندانی.....42

مرور مقالات.....46

مواد و روش ها.....52

جداول.....60

بحث.....69

محدودیت ها.....73

پیشنهادات.....74

منابع.....75

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری یک باکتری گرم نگاتیو، S شکل و میکروائروفیلیک می باشد که در ایجاد زخم پتیک، ادنوکارسینوم معده و لمفوم بافت لمفوئید موجود در مخاط معده (*MALT*)نقش دارد.

هلیکوباکتر پیلوری در سراسر دنیا وجود دارد و حدود نیمی از کره زمین با این باکتری آلوده میباشد. انسان منبع اصلی آلودگی برای *H.pylori* است و بیشترین روش انتقال از طریق مدفوعی – دهانی می باشد. آلودگی ممکن است از منابع محیطی ،حیوانات و حشرات و یا انسانهای دیگر کسب شود. شواهدی وجود دارد که نقش هر یک از موارد یاد شده را به عنوان منبع آلودگی تائید می کند .

به غیر از انسان، *H.pylori* را از گربه های خانگی جدا کرده اند . این باکتری از دسته ای از گربه ها که جهت مقاصد تجارتی نگه داری می شوند ، جداسازی و کشت داده شده است . با این حال مشخص نیست که آلودگی در میان گربه های خانگی تا چه حد وسعت دارد ولی احتمالاً بیشتز گربه ها به *H.felis* آلوده هستند.

H.pylori را از میمونها نیز کشت داده اند ولی به نظر نمی رسد این حیوان نقش مهمی را در پراکندگی وسیع آلودگی این باکتری داشته باشد .تا به امروز نتوانسته اند *H.pylori* را از منابع محیطی کشت دهند ولی مدارکی وجود دارد که حاکی از آلودگی گسترده محیطی بـه وسیلـه ایـن باکتری است. *DNA* باکتری را با روش *PCR* درآب آشامیدنی شناسایی کرده اند با این وجود روش *PCR* زنده بودن ارگانیسم در آب را نشان نمی دهد.

محیطی بـه وسیلـه ایـن باکتری است. *DNA* باکتری را با روش *PCR* درآب آشامیدنی شناسایی کرده اند با این وجود روش *PCR* زنده بودن ارگانیسم در آب را نشان نمی دهد.

در یکسری از مطالعات نیز *H.pylori* در بزاق و پلاکهای دندانی افراد با یا بدون عفونت معـده بـا روش *PCR*، یـافت شـده اند. در یکسری مطالعات نشان داده شده است که باکتری های جدا شده از پلاک دندانی و بافت معده یکسان بوده اند(1)در همان مطالعه ذکر شده است که پس از درمان ریشه کنی (بیسموت، تینیدازول و اموکسی سیلین یا داکسی سایکلین)، *H.pylori* در پلاکهای دندانی باقی مانده و نتیجه گیری شده بود که پلاکهای دندانی به عنوان منبعی برای انتقال یا عود عفونت می باشد .

از طرف دیگر در یک مطالعه به شیوع پائین آلودگی پلاکهای دندانی با *H.pylori* در افرادمبتلا به سوء هاضمه اشاره شده و نیز در نقاط دیگر حفره دهان یافت نشده است.(1)در همین مطالعه نتیجه گیری شده است که *H.pylori* یک میکروارگانیسم موقت دهان می‌باشد. مطالعات انجام شده در این خصوص اطلاعات ضدو نقیضی را ارائه میکند و اکثر محققین مطالعات بیشتری را جهت تأئید یارد این موضوع پیشنهاد نموده اند.

در این مطالعه به ارتباط بین آلودگی پلاکهای دندانی و بافت معده با *H.pylori* پرداخته شده است.

اهداف طرح

1- **هدف اصلی طرح :**

تعیین ارتباط آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری در پلاسمای دندانی با آلودگی بافت معده با هلیکوباکتر پیلوری

2- **هدف های فرعی (اختصاصی) طرح :**

1- تعیین شیوع آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری در بافت معده بیماران مراجعه کننده با مشکلات گوارشی

2- تعیین شیوع آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری در پلاکهای دندانی بیماران مراجعه کننده با مشکلات گوارشی

3- تعیین شیوع پلاسمای دندانی در بیماران مراجعه کننده با مشکلات گوارشی

4- تعیین شیوع آلودگی پلاسمای دندانی با هلیکوباکتر پیلوری در بیماران با تست اوره از مثبت

5- تعیین شیوع آلودگی پلاسمای دندانی با هلیکوباکتر پیلوری در بیماران را با تست اوره ازمنفی

3- **هدف های کاربردی طرح :**

کاهش عود عفونت دستگاه گوارشی با هلیکوباکتر پیلوری از طریق ریشه کنی هلیکوباکتر در پلاکهای دندانی

4- **فرضیه ها یا سوال های پژوهش (باتوجه به هدف های طرح) :**

سوالات :

1) شیوع آلودگی H.P در بافت معده در بیمارانیکه با مشکلات گوارشی به بخش اندوسکوپی مراجعه کرده اند چقدر است؟

2) شیوع آلودگی H.P در پلاکهای دندانی بیماران مراجعه کننده با شکایت گوارش چقدر است؟

3) شیوع آلودگی H.P در پلاکهای دندانی در بیماران با تست اوره از مثبت چقدر است؟

4) شیوع آلودگی H.P در پلاکهای دندانی در بیماران با تست اوره از منفی چقدر است؟

شیوع پلاکهای دندانی در بیماران مراجعه کننده با مشکلات گوارشی چقدر است؟

فرضیات

آلودگی هلیکوباکتر پیلوری در پلاسمای دندانی با آلودگی بافت معده با هلیکوباکتر پیلوری ارتباط دارد .

تاریخچه

باکتری های اسپیرال در انسان و حیوانات از بیش از صد سال پیش مشاهده شده بودند. مشاهده اولین مورد انها در معده حیوانات در سال 1881 توسط *Rappin*گزارش شده است.

در سال 1893، و در سال 1896 ، وجود باسیلهای اسپیرال را در نمونه های به دست امده از معده سگ گزارش نمودند در سال 1906 *Krientiz*، ارگانیسمهای مشابهی را در معده انسان توصیف نمود. در سال 1938، *Doenges* باکتریهای اسپیرال را در نکروپسی معده 50٪ افراد قربانی در تصادفات مشاهده کرد و به عنوان اسپیروکت گزارش نمود.

در سال 1940 ، *Freedberg, Baron* ارگانیسم های مشابهی را در 37٪ نمونه های گاسترکتومی بیماران مبتلا به زخم معده یا کارسینوم گزارش کردند. در سال 1975 گزارشی مبنی بر وجود باکتری های خمیده و مارپیچی شکل بر روی مخاط و زیر لایه موکوسی در مبتلایان به زخم معده ارائه گردید و در سال 1983 ، *Waren* این باکتری را در نمونه های بیوپسی مبتلایان به گاستریت و زخم پپتیک در استرالیا نشان داد و در همان سال *Marshal* نیز موفق به کشف باسیل های کوچک و خمیده که توسط *Waren* کشف شده بود گردید. بدین ترتیب شناسائی و بررسی این باکتری امکانپذیر شد. مشاهده باکتری با میکروسکوپ نوری و تشابه نسبت درصد سیتوزین و گوانین با کمپیلو باکتر و میکروائروفیل بودن و عدم تخمیر قندها باعث گردید که ان را در جنس «کمپیلو باکتر» قرار دهند و نیز به علت جایگاه خاص باکتری در پیلور معده و شباهت

بـــه کمپیـــلو بـاکتر در سال 1984 ان را «کمپیلو باکترپیلوریدیس» نامیدند. ولی *Hartman* و همکاران لغت پیلوریدیس را از نظر دستوری درست ندانسته و به جای ان «پیلوری» را پیشنهاد نمودند سپس بررسیهای مختلف از نظر اولتر میکروسکوپی، ترکیب اسیدهای چرب، داشتن انزیم اوره آز قوی، دیواره تقریباً صاف باکتری، نداشتن کینون تنفسی، عدم توانائی احیاء نیترات، داشتن 4-6 فلاژل غلاف دار قطبی و اهمیت کلینیکی کمپیلو باکتر پیلوری باعث شد که ان را در جنس دیگری طبقه بندی نمایند. به همین دلیل در سال 1989 کمیته طبقه بندی باکتریها به علت اینکه باکتری مارپیچی شکل بوده و از پیلور معده به دست می آید ، انرا در جنس جدیدی به نام «هلیکو باکتر» قرار داده و ان را «هلیکو باکتر پیلوری» نامید.

باکتریولوژی :

مورفولوژی :

H.pylori بـــاسیلی است گـــرم منفی ، کوچک ، *S* شکل ، متحرک و بدون اسپور به طول 2/5-4 و عرض 0/5-1 میکرومتر ، دارای4 تا 6 و حداکثر 8 فلاژل غلاف دار قطبی که از نظر شکل ظاهری کمی صاف تر از کمپیلوباکترها می باشد . شکل ان در محیط کشت مایع بهتر دیده می شود ولی در کشت های کهنه و یا در مجاورت هوا ، باکتری به شکل کوکوئید در می آید .

هلیکوباکتری پیلوری باکتری مشکل پسندی است و برای رشد خود احتیاج به محیط های حاوی خون یا *Hemin*، سرم ، نشاسته و نیز شرایط میکروائروفیل (5-2٪ دی اکسید کربن ،80-90٪ نیتروژن و5-10٪ اکسیژن)و رطوبت کافی دارد.

این باکتری اکسید از و کاتالاز مثبت بوده و اوره آز فراوانی تولید میکند ولی هیپورات را هیدرولیز نمی کند. دارای فعالیت آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانس پپتیداز است، نیترات .را احیاء نمی کند، نسبت به پنی سیلین، امپی سیلین، اموکسی سیلین، اریتومایسین، جنتامایسین، کانامیسین ریفامپین و تتراسیکیلین حساس است و نسبت به ونکو مایسین، سولفونامید و تری متوپریم مقاوم می باشد .همچنین مقاومت متغیری نسبت به نالیدیکسیک اسید، مترونیدازول و پلی میکسین نشان میدهد.

وجود 4-6 فلاژل قطبی به باکتری اجازه می دهد حتی در محیط باویسکوزیته بالا حرکت کند .(3)

این باکتری می تواند از اسیدیته موجود در لومن معده گریخته و در لایه ضخیم موکوسی نفوذ کرده و نهایتاً خود را به سطح مخاط معده برساند.

یکی از مهمترین ویژگیهای *H.pylori* و سایر گونه های هلیکوباکتر که در مخاط معده سایر پستانداران جایگزین میشود، توانایی انها در هیدرولیز اوره توسط انزیم اوره آز و ایجاد محیط خنثی در اطراف باکتری است.(4)

مانند سایر باکتری ها، اوره آز *H.pylori* برای فعالیت خود نیاز به یون های نیکل دارد .

مقدار آنزیم اوره آز در داخل باکتری بسیار زیاد است و تا 6٪ پروتئین های باکتری را تشکیل میدهد. اوره آز*H.pylori* و سایر هلیکوباکترهای معده ای تمایل بیشتری برای مصرف یا تجزیه اوره ،در مقایسه با اوره آز سایر باکتریها دارند . مطالعات نشان داده است که آنزیم اوره آز، برای محافظت باکتری در برابر اسید معده ضروری است . یون آمونیوم و

دی اکسید کربن حاصل از تجزی اوره (نتیجه فعالیت اوره آز) یک *PH* خنثی در اطراف باکتری ایجاد کرده و بدین ترتیب آن را در مقابل اسید معده حفظ می کند.

اپیدمیولوژی :

هلیکوباکتر پیلوری عامل گاستریت مزمن فعال و زخم های پپتیک در انسان است و ارتباط آن با ادنوکارسینوم معده و لنفوم معده نیز مورد تائید می باشد .

شیوع *H.pylori* در بین بالغین ایالات متحده حدود 30٪ بوده ، در حالیکه در کشورهای در حال توسعه شیوع ان در بین بالغین بیش از 80٪ می باشد.(5و6)

این باکتری را از مخاط ملتهب معده بعضی از میمون ها و گربه های خانگی جدا کرده اند . انواع هلیکوباکتر از معده بسیاری از پستانداران دیگر شامل سگ ، گربه ، موش ، *rat* ، سمور، میمون و یوزپلنگ جدا گردیده که باعث درجات مختلفی از گاستریت در میزبان های مربوطه شده اند .(7و8)

عفونت: *H.pylori* یکی از شایعترین عفونت های باکتریال در دنیاست، به طوری که در کشورهای در حال توسعه درابتدای کودکی آلودگی ایجاد میشود.(7و9)

مطالعات نشان میدهد که 70٪ بیماران با گاستریت، زخم های معده یا دوازدهه با *H.pylori* آلوده اند. از جمله فاکتورهای خطری که در اکتساب آلودگی *H.pylori* مطرحند یکی وضعیت اقتصادی – اجتماعی پایین دربالغین و دیگری شرایط نامناسب زندگی در دوران کودکی نظیر استفاده از رختخواب مشترک و تراکم درمحل زیست می باشد .

انتشار آلودگی در بین اعضای یک خانواده ممکن است اتفاق بیافتد و حضور یک کودک آلوده به باکتری در جمع خانواده میتواند به عنوان منبع الودگی باشد . همچنین آلودگی ممکن است بین زوجین منتقل شود .(10و11)

اینکه *H.pylori* از طریق مدفوعی - دهانی . یا دهانی – دهانی اتفاق می افتد ، مشخص نمی باشد اما *H.pylori* به سهولت از محتویات استفراغ و نیز محتویات حاصل از ریفلاکس معدی – مروی و با سهولات کمتر از مدفوع قابل رشد دادن می باشد .

مسئله حساسیت ژنتیکی نسبت به الودگی *H.pylori* نیز مطرح شده است . مطالعات انجام شده بر روی دوقلوهای تک تخمکی نیز تاثیر ژنتیک افراد را در آلودگی به این باکتری نشان داده است . مسئله دیگر، ارتباط شغلی است . در میان گاستروانترولوژیست ها و سایر کارکنان بخش درمان که در تماس با ترشحات مجاری فوقانی گوارشی بیماران هستند، میزان آلودگی بیشتری گزارش شده است.(12)

روشهای انتقال :

انسان منبع اصلی آلودگی برای *H.pylori* است و بیشترین روش انتقال از طریق مدفوعی – دهانی می باشد .(9و13) با این وجود ، حضور این باکتری در بزاق و پلاکهای دندانی از طریق کشت و با *PCR* نشان داده شده است . این مسئله انتقال الودگی از طریق دهانی – دهانی را مطرح می کند .(14)

به غیر از انسان *H.pylori* را از گربه های خانگی جدا کرده اند . این باکتری از دسته ای از گربه ها که جهت مقاصد تجارتی نگهداری می شوند ، جداسازی و کشت داده شده

است . با این حال مشخص نیست که آلودگی *H.pylori* در میان گربه های خانگی تا چه حد وسعت دارد.(15)

H.pylori را از میمون ها نیز کشت داده اند ولی به نظر نمی رسد این حیوان نقش مهمی در پراکندگی وسیع آلودگی این باکتری داشته باشد.(16)

تا به امروز نتوانسته اند *H.pylori* را از منابع محیطی کشت دهند . با این وجود مدارکی موجود است که دلالت گسترده محیطی به وسیله این باکتری دارد .

DNA باکتری را با روش *PCR* در اب آشامیدنی شناسایی کرده اند . با این وجود روش *PCR* زنده بودن ارگانیسم را در آب نشان نمی دهد .

فاکتورهای التهاب زا :

H.pylori به مخاط معده حمله نمی کند، با این حال باعث بروز گاستریت می شود. بنابراین ارگانیسم باید بتواند موادی را ترشح کند که باعث کموتاکسی و تکثیر سلولهای التهابی به خصوص نوتروفیل و مونوسیت ها در سطح مخاطی شود. در ذیل برخی از محصولات باکتری که باعث التهاب در مخاط معده می گردد ، شرح داده می شود.

1- ژن مرتبط با سیتوتوکسین : *(Cag-A) Cytotoxin-associated gene A*

در چندین مطالعه نشان داده شده است که عفونت *H.pylori* باعث تولید فاکتورهای التهاب زا مثل *IL6* , *TNF-α* و *IL8* توسط مخاط معده می شود . *IL8* خود مسئول فعال سازی نوتروفیل ها نیز می باشد. فاکتورهای مختلف باکتریایی درتولید این سیتوتوکسین ها نقش دارند.(17)

محققین ژنی را تحت عنوان *CagA* شناسایی کرده اند که مسئول سنتزیک پروتئین سطحی به وزن مولکولی 120-140 کیلو دالتون می باشد . این پروتئین دارای خاصیت آنتی ژنتیک قویی است وحدود 60٪ سوش های جدا شده *H.pylori* (د رکشورهای پیشرفته) دارای این آنتی ژن هستند .(18)

این انتی ژن در سوش های سم زای *H.pylori* بیشتر تظاهر می نمایند . شواهدی وجود دارد که نشان می دهد سوش های *CagA* مثبت ، خواص التهاب زایی ویژه ای دارند .

در مواردی که آلودگی با سوش های *CagA* مثبت صورت گرفته ، مقادیر زیادتری از سیتوکسین های *IL8, IL1β, IL1∝* تولید شده است . مطالعات بافت شناسی نشان داده که واکنش التهابی (ناشی از فعالیت نوتروفیل ها) به طور مشخص درسوش های *CagA* مثبت شدیدتر از سوش های *CagA* منفی است . به علاوه وجود انتی بادی ضد *CagA* د رسرم افراد الوده خطر ابتلا به زخم پیتیک ، گاستریت آتروفیک ، متاپلازی روده ای و آدنوکارسینوم معده را افزایش می دهد . با این وجود تحقیقات اخیر ، این فرضیه را قوت بخشیده که محصول ژن *CagA* به طور مستقیم باعث القاء تولید *IL8* نمی شود ، بلکه محصولات ژن هایی که با *CagA* همراه هستند . جهت القاء پاسخ سیتوکسینی التهاب زا ، توسط سلولهای پوششی ضروری هستند . دوژن دیگر تحت عنوان *PicA* و *PicB* که در نزدیکی ژن *CagA* قرار دارند ، به عنوان مسئول فعالیت التهاب زایی در سوش های *CagA* مثبت شناخته شده اند .(17)