# بررسی فراوانی آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری در بافت پولیپ و مخاط سینوس بیماران مبتلا به پولیپ و مقایسه با بافت مخاط سینوس افراد سالم با روش‌های ایمونولوژیک و PCR


*آذردخت طباطبایی[I]

دکتر محمد فرهادی[II]

دکتر احمد رضا شمشیری[III]

دکتر ثمیله نوربخش[IV]

دکتر مهدی شکر آبی[V]

دکتر شیما جوادی‌نیا[VI]



## چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعات چندی بـه بررسـی هلیکوبـاکتر پیلـوری ((Helicobacter pylori-H.pylori در مخـاط سینوس و بینی بیماران مبتلا به رینوسینوزیت مزمن پرداخته اند، ولی مطالعه مستقیم ایـن بـاکتری در بافـت پولیـپ بینی محدود است. لذا، هدف از انجام این پژوهش بررسـی فراوانـی بـاکتری هلیکوبـاکتر پیلـوری در بافت پولیـپ و مخاط سینوس بیماران مبتلا به پولیپ بینی در مقایسه با مخاط سینوس افراد سالم بود.

**روش کار:** در این مطالعه مورد- شاهدی ٦٢ بیمـار مبـتلا بـه پولیـپ بینـی و تعـداد ٢٥ فـرد سـالم (کـه بـه دلیـل شکستگی بینی مورد عمل جراحی قرار گرفتند) با روش نمونه‌گیری غیر احتمالی متوالی وارد مطالعه شدند. این افراد سن بالاتر از ١٢ سال داشتند و مبتلا به بیماری زمینه‌ای مزمن نبودند. برروی سرم افراد، آزمون الیزا برای بررسی آنتی‌بادی‌های A و G ضد هلیکوباکتر پیلوری و برروی نمونه بافت پولیـپ بینـی بیمـاران و مخـاط سـینوس گـروه شاهد، آزمون PCR انجام شد. جهت مقایسه فراوانـی متغیرهـای مـورد مطالعـه بـین دو گـروه از آزمـون کـای-دو استفاده شد.

**یافته‌ها:** میانه سنی گروه بیماران ٣٨ سال (١٢ تا ٦٥ سال) و گروه شاهد ٢٦ سال (١٨ تا ٥٤ سـال) بـود. درصـد مردها در گروه بیماران ٦٣ ٪ و در گروه شاهد ٤٠ ٪ بود. موارد IgA مثبت بین دو گروه بیمار و شاهد یکسان بـود (١٤/٥ ٪ درمقابل ٤ ٪، p-value=٠/٢٧)، ولی IgG اختلاف معنی‌داری داشت (٧١ ٪درمقابل ٣٢ ٪، p-value=٠/٠٠١). نتایج PCR نیز بین دو گروه تفاوت داشت (٣٢/٣ ٪درمقابل ٤ ٪، p-value=٠/٠٠٥). موارد مثبت تـوام PCR و IgG نیز در گروه بیماران بیشتر بود (٢٩ ٪ درمقابل ٤ ٪، p-value=٠/٠١).

**نتیجه‌گیری:** به نظر می‌رسد باتوجه به مطالعات مولکولی و تغیرات غلظـت IgG بـرای هلیکوبـاکتر پیلـوری، ایـن باکتری می‌تواند به عنوان یکی از عوامل کاندید در بروز ضایعات پولیپی مطرح باشد.



**کلیدواژه ها:** ١-پولیپ بینی ٢-هلیکوباکتر پیلوری ٣-الیزا ٤-PCR

**تاریخ دریافت: ٨٨/٤/٢١، تاریخ پذیرش: ٨٩/٤/٨**


## مقدمه

پولیپ بینی یک توده خوش خیم پایه دار از مخاط بینـی یا سینوس‌ها است که در حدود یک تا ٤ ٪ مردم مبتلا به آن هستند. پولیپ بینی در زمینه بیماری سیـستیک فیبـروزیس، آسم یا افزایش حساسیت به آسپیرین دیده می‌شود و البتـه در اغلب موارد عامل خاصی برای آن یافت نمی‌شود. عوامل ایجاد پولیپ بینی شامل عفونت‌ها، التهاب یا به هـم خـوردن موازنـــه مـــسیرهای متابولیـــک و یـــک ســـری مـــسائل ایمونولوژیک (و نه لزوماً آلرژی) می‌شود.[١]


این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن و علوم وابسته دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است.



I) کارشناس ارشد علوم آزمایشگاهی، مربی و عضو هیئت علمی، مرکز تحقیقات عفونی کودکان، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، خیان ستارخان، خیلبان نیایش، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران (*مؤلف مسؤل)

II) استاد و متخصص گوش و حلق و بینی، مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن، بیمارستان حضرت رسول اکـرم (ص)، دانـشگاه علـوم پزشـکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

III) پزشک متخصص اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی تهران، تهران، ایران

IV) استاد و فوق تخصص عفونی اطفال، مرکز تحقیقات عفونی اطفال، بیمارستان حضرت رسول اکرم(ص)، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشـتی- درمـانی ایران، تهران، ایران

V) دانشیار و متخصص ایمونولوژی، گروه ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران، تهران، ایران

VI) پزشک عمومی





[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

هلیکوباکتر پیلوری که در بیمارزایی بسیاری از عوامل به عنوان عامل اتیولوژیک مطرح بوده است، می‌تواند از دهان و یا با مکانیسم رفلاکس معدی-مری از معده به سینوس‌های پارانازال و حتی گوش میانی راه پیدا کند و عامل بیماری‌های مختلفی از جمله سینوزیت، لارنژیت، فارنژیت، گلوسیت و اوتیت میانی شود.[۲]

اولین مطالعه منتشر شده در مورد کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری ژاپن در سال ۲۰۰۳ انجام شد و در ۱۱ بیمار نشان دادند که می‌توان از بافت‌های سینوس و بینی به دست آمده از بیماران مبتلا به سینوزیت مزمن، باکتری هلیکوباکتر پیلوری را جدا کرد.[۳] در این مطالعه از روش‌های مختلف ایمونوهیستوشیمیایی، کشت، تست اوره‌آز و PCR استفاده شد.

درسال ۲۰۰۳ در ترکیه مطالعه‌ای روی نمونه‌های ۱۲ بیمار مبتلا به رینوسینوزیت مزمن و ۱۳ بیمار مبتلا به کونکا بولوزا انجام شده بود. در این مطالعه به روش Nested PCR از ٤ بیمار مبتلا به رینوسینوزیت مزمن، هلیکوباکتر پیلوری جدا شد، ولی از ۱۳ نمونه کنترل موردی به دست نیامد.[٤]

در مطالعه دیگر روی ۳۰ بیمار و ۲۰ شاهد، آزمایش‌های ایمونوهیستوشیمیایی انجام شد تا کلونیزاسیون بافت‌های پولیپ را با هلیکوباکتر پیلوری بررسی کنند. از آزمون الیزا برای بررسی سرولوژیک افراد تحت مطالعه استفاده شد. نتیجه آنکه دو گروه بیمار و شاهد از نظر سرولوژیک (IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری) یکسان بودند؛ به طوری که ۸٦/۷٪ بیماران و ۸۵٪ گروه شاهد تست مثبت داشتند، ولی از نظر کلونیزاسیون بافتی متفاوت بودند، به طوری که هیچ مورد کلونیزاسیون در گروه شاهد به دست نیامد ولی ٦ نفر(۲۰٪)از بیماران با هلیکوباکتر پیلوری کلونیزه بودند.[۵]

مطالعه مشابه دیگری در سال ۲۰۰۵ منتشر شد که در لهستان انجام شده بود (با ٦۱ بیمار مبتلا به پولیپ بینی و ۳۰ مورد سپتوپلاستی به عنوان شاهد) و فقط با روش اوره‌آز اقدام به بررسی کلونیزاسیون با هلیکوباکتر پیلوری کرده بودند. این محققین نتوانستند با این روش به تنهایی هیچ مورد مثبتی را گزارش کنند و استفاده از روش‌های حساس‌تر را پیشنهاد دادند.[٦]

در سئول کره جنوبی، مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷ منتشر شد که بر روی ٤۸ بیمار مبتلا به رینوسینوزیت مزمن و ۲۹ نفر به عنوان گروه شاهد انجام شده بود. از گروه بیماران، در ۱۲ نفر (۲۵٪) هر دو تست اوره آز سریع و ایمونوهیستوشیمیایی مثبت شده بود که با گروه شاهد که فقط یک نفر از ایشان تست‌های مثبت داشت، اختلاف معنی‌داری مشاهده شد. محققین این مطالعه( با وجود فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در سینوس بیماران نسبت به گروه شاهد) به دلیل عدم مشاهده رابطه بین شدت درگیری سینوس (براساس بررسی‌های رادیولوژیک) و وجود هلیکوباکتر پیلوری، نقش این باکتری را در ابتلاء به سینوزیت مزمن ضعیف دانستند.[۷]

با توجه به مطالعاتی که به بررسی وجود باکتری هلیکوباکتر پیلوری در مخاط سینوس و بینی بیماران مبتلا به رینوسینوزیت مزمن پرداخته‌اند و نزدیکی این بیماری با پولیپ بینی، و نیز محدود بودن مطالعاتی که مستقیماً به بررسی فراوانی این باکتری در بافت پولیپ پرداخته اند، موجب گردید که برای بررسی فراوانی هلیکوباکتر پیلوری در بافت پولیپ بینی و مخاط سینوس بیماران مبتلا به پولیپ بینی (در مقایسه با بافت مخاط سینوس افراد سالم) به مطالعه‌ای با حجم نمونه مناسب و با روش تشخیصی سرولوژی و روش معتبر PCR پرداخته شود؛ با این هدف که مداخله احتمالی این باکتری در بروز التهاب مزمن و تحریک بافتی که منجر به ایجاد پولیپ می‌شود، را بررسی نماید؛ درحالی‌که شیوع وپراکندگی هلیکو باکتر پیلوری در جوامع مختلف یکسان نبوده وایران جزو مناطق باآلودگی نسبی بالا قرار داشته که محتمل است نقش موثرتری در بروز ضایعات پولیپی



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

داشته باشد.

## روش کار

این مطالعه از نوع مشاهده‌ای تحلیلی و مورد- شاهدی بوده و جمعیت هدف آن برای گروه مورد، بیماران مبتلا به پولیپ بینی و برای گروه کنترل، افراد غیر مبتلا به پولیپ بینی بودند.

در این مطالعه برای جمع آوری نمونه‌های لازم از مراجعین به مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن و علوم {وابسته به دانشگاه علوم پزشکی ایران – مجتمع پژوهشی، درمانی و آموزشی رسول اکرم (ص)}، از روش نمونه‌گیری غیر احتمالی آسان استفاده شد. بدین ترتیب تعداد ٦٢ بیمار مبتلا به پولیپ بینی و تعداد ٢٥ فرد سالم (که به دلیل شکستگی بینی مورد عمل جراحی قرار گرفتند) وارد مطالعه شدند. از معیارهای ورودی این افراد این بود که سن کمتر از ١٢ سال نداشته باشند و مبتلا به بیماری زمینه‌ای مزمن مانند دیابت و بیماری‌های نقص سیستم ایمنی نباشند.

بعد از انتخاب بیماران توسط متخصص گوش و حلق و بینی و قبل از انجام عمل جراحی، برای انجام آزمایش‌های سرولوژیک (برای تشخیص عفونت‌های هلیکوباکتر پیلوری)، مقدار لازم خون گرفته و در آزمایشگاه بعد از جداکردن سرم آن‌ها، سرم‌ها در ٢٠- درجه نگهداری شده تا اینکه تعداد آن‌ها به حد نصاب برسد. سپس آنتی‌بادی برضد IgG و IgA در سرم‌ها به روش ELISA اندازه‌گیری شد. در حین عمل جراحی، نمونه لازم بافت پولیپ توسط پزشک جراح گرفته شد و در محلول حاوی سرم فیزیولوژی گذاشته شد و نمونه‌ها در ٨٠- درجه نگهداری شدند و زمانی که تعداد آن‌ها به حد نصاب رسید، تست PCR گذاشته شد.

از میان روش‌های تشخیصی برای ردیابی آلودگی عوامل باکتریایی، روش‌های ایمونولوژیک مانند تعیین آنتی‌بادی ضد میکروبی از کلاس IgG و IgA به عنوان روش‌های سریع، آسان و اقتصادی مطرح هستند و روش‌های مبتنی بر DNA amplification در زمره روش‌های حساس و با ویژگی بالا ارائه گردیده اند.

برای ردیابی وجود ارگانیسم در ضایعات بافتی از روش معمول باکتریولوژیک و کشت استفاده نشد؛ زیرا علاوه بر مشکلات تکنیکی به دلیل مصرف وسیع آنتی‌بیوتیک در جامعه و احتمال مصرف آنتی‌بیوتیک گروه‌های مورد مطالعه در حین نمونه برداری، حصول نتیجه صحیح محتمل به نظر نرسید. لذا، برای ردیابی وجود باکتری از روند ایمونولوژیک و ملکولی استفاده شد.

### آزمون PCR

نمونه‌های بافتی پولیپ که از اتاق عمل گرفته می‌شود، پس از هموژنیزه کردن DNA آن‌ها استخراج شده؛ سپس با استفاده از کیت PCR شرکت پویا زیست تک، PCR به روش زیر عمل شد:

- استخراج DNA از نمونه بافت پولیپ
- وزن نمودن بافت- میزان لازم mg ٥٠-٢٥ می باشد
- لیز نمودن سلول‌های موجود در بافت
- هموژنیزه کردن بافت برای جداسازی سلول‌های آن
- افزودن بافر
- سانتریفوژ نمودن و استفاده از فیلترهای مخصوص برای جداسازی پروتئین ها
- سانتریفوژ نمودن به منظور جدا نمودن DNA در نمونه
- در ٣ مرحله جداگانه ٣ نوع بافر مختلف افزوده می‌شود تا تمام مواد زائد و پروتئین‌های اضافی ازDNA جدا گردد و DNA کاملاً خالص شود
- افزودن دو نوع الکل متفاوت در طی دو مرحله به منظور نشست و رسوب دادن DNA
- پس از سانتریفوژ نهایی با دور بالا، به رسوب ایجاد شده محلول افزوده می‌شود
- نمونه‌های به دست آمده DNA به وسیله ژل آگار



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

بررسی می‌گردد

- آماده نمودن ژل ۱٪ آگار
- DNA استخراج شده از هر فرد به ژل آماده نشده افزوده می‌گردد
- به وسیله جریان برق ایجاد شده در دستگاه الکتروفورز DNA بر روی ژل حرکت می‌کند
- ژل با محلول اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی می‌شود

در صورت مثبت بودن آزمایش یعنی درست استخراج شدن DNA، بر روی ژل یک تک باند DNA مشاهده می‌گردد.

ابتدا DNA با استفاده از کیت‌های مخصوص با استفاده از روش ستونی استخراج گردید. با یک بافر لیزکننده پاتوژن‌ها لیز می‌شوند. سپس به وسیله بافرهای نمکی و آنزیم پروتئیناز، پروتئین‌های خارج شده لیز گردیده و رسوب داده می‌شوند؛ با محلول‌های الکلی موجود DNA جدا شده و سپس شستشو داده می‌شود. به کمک یک محلول رقیق‌کننده (بافر EB)، DNA جدا سازی شده محلول می‌گردد و سپس در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود.

PCR –Chemicon Germany به روی نمونه‌های حاوی DNA با استفاده از پرایمر اختصاصی، وجود DNA هلیکوباکتر پیلوری تعیین گردید. نتایج PCR وارد پرسشنامه شد.

**آزمون سرولوژیک**

**تعیین IgG هلیکو باکتر پیلوری:**

اساس آزمون در این کیت آنزیم ایمونواسی (ELISA) بوده و آنزیم HRPO به عنوان نشانگر به کار می‌رود. در حین اولین انکوباسیون، آنتی‌بادی‌های ضد هلیکو باکتر پیلوری (Anti H.pylori) (اگر وجود داشته باشد) به H. pylori –Ag پوشش داده شده روی چاهک‌ها متصل می‌گردند و ماده اتصال نیافته توسط شستشو برداشته می‌شود. در انکوباسیون بعدی دومین آنتی‌بادی Anti human-IgG (کونژوگه شده با آنزیم HRPO) به کمپلکس H.pylori-Ag-Ab متصل می‌گردد. بعد از شستشوی دوباره، محلول رنگزا (TMB) در یک بافر سوبسترا به چاهک‌ها اضافه می‌شود که با واکنش با آنزیم HRPO باعث رنگی شدن مواد چاهک می‌گردد. ادامه رنگ پذیری با اضافه کردن $H_2SO_4$ متوقف می‌شود. شدت رنگی شدن که مستقیماً با غلظت Anti – H.pylori-IgG در نمونه‌ها وکنترل متناسب است، توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج‌های ۴۵۰ نانومتر(nm) و ۴۰۵ nm اندازه‌گیری می‌شود.

**محاسبه نتایج**

ارزیابی کیفی (Qualitative Assay):

دانسیته نوری کنترل منفی و استاندارد Cut-off (مقدار آستانه ۱۲واحد در میلی لیتر–IU/ml) باید در نظر گرفته شود. وجود یا عدم وجود آنتی‌بادی Anti – H.pylori با مقایسه جذب نوری نمونه و جذب نوری استاندارد Cut-off تعریف می‌گردد. نمونه‌هایی که دانسیته نوری آن‌ها کمتر از استانداردIU/ml ۱۲ (استانداردCut-off ) است به عنوان «غیر واکنشی» نمونه و آن‌هایی که بیشتر هستند «واکنشی» در نظر گرفته می‌شود. نمونه‌هایی که جذب نوری آن‌ها در محدوده استاندارد Cut-off ۱۰٪ می‌باشد، مشکوک تلقی شده و باید دوباره آزمایش شوند.

به طور خلاصه نتایج به صورت زیر ارائه می‌شوند:

**الف: H.pylori-IgG** :

واحد اندازه‌گیری IU/ml

| | |
|---|---|
| < 8 | Negative |
| 8-12 | Equivocal |
| >12 | Positive |

**ب: تعیینIgA هلیکو باکتر پیلوری:**

روش انجام شده مانند روش تعیینIgG شرح داده شده است.



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

< 8 Negative
8-12 Equivocal
>12 Positive

### روش‌های آماری

جهت گزارش توصیفی داده‌ها از شاخص‌های فراوانی نسبی، میانگین و میانه و از شاخص‌های پراکندگی (طیف و انحراف معیار) استفاده شده است. جهت تحلیل داده‌ها، برای مقایسه متغیرهای کیفی با هم، از آزمون $Chi^2$ استفاده شد. حد معنی‌داری آماری در این مطالعه ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

### مسائل اخلاقی

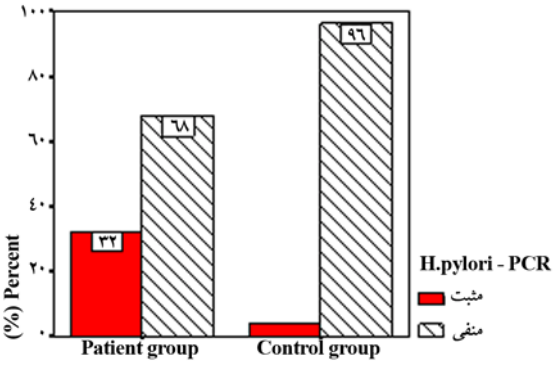
به بیماران در مورد استفاده از نتایج آزمایش‌ها در این مطالعه اطلاع داده شد. از افراد غیر پولیپی که برای ترمیم شکستگی بینی مراجعه کرده بودند، از بابت نمونه‌گیری از مخاط شاخک تحتانی اجازه گرفته شد. درضمن برای آنکه نیاز کمتری به نمونه افراد غیر پولیپی باشد، تعداد افراد با پولیپ بینی بیشتر از مقدار محاسبه شده انتخاب شدند.

## یافته‌ها

در این مطالعه ٦٢ بیمار مبتلا به پولیپ بینی و ٢٥ نمونه شاهد مورد مطالعه قرار گرفتند. میانه سنی گروه بیماران ٣٨ سال (حداقل ١٢ و حداکثر ٦٥ سال) و میانه سنی گروه شاهد ٢٦ سال (حداقل ١٨ و حداکثر ٥٤ سال) بود. در گروه بیماران ٦٣٪ بیماران مرد و در گروه شاهد ٤٠٪ ایشان مرد بودند.

### مقایسه فراوانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری به روش PCR در گروه مبتلا به پولیپ بینی و گروه سالم

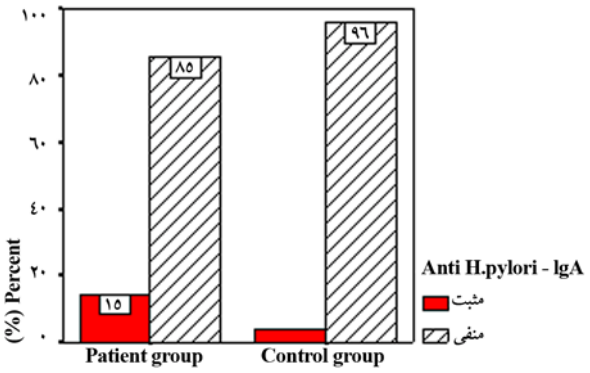
در بررسی به روش PCR نتایج حاکی از آن بود که ٢٠ نفر از گروه بیماران (٣٢/٣٪) و یک نفر از گروه شاهد(٤٪)PCR مثبت داشتند (نمودار شماره١). به این ترتیب نسبت شانس (Odds Ratio; OR) نتیجه PCR مثبت برای هلیکوباکتر پیلوری در بافت پولیپ بینی نسبت به بافت مخاط شاخک تحتانی گروه شاهد ١١/٤ است، که از نظر آماری قابل توجه و معنی‌دار است (p-value=٠/٠٠٥).




**نمودار شماره١**- مقایسه فراوانی نسبی موارد PCR مثبت برای هلیکوباکتر پیلوری در گروه بیماران و گروه شاهد

### مقایسه فراوانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری به روش سرولوژیک در گروه مبتلا به پولیپ بینی و گروه سالم

در بررسی سرولوژیک فاز حاد بیماران و گروه شاهد از نظر هلیکوباکتر پیلوری (Anti H.pylori Ab-IgA) نتایج حاکی از آن بود که ٩ نفر از گروه بیماران (١٤/٥٪) و یک نفر از گروه شاهد(٤٪)IgA مثبت داشتند (نمودار شماره٢). به این ترتیب نسبت شانس (OR) نتیجه IgA مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری برای مبتلایان به پولیپ بینی نسبت به گروه غیر مبتلا (شاهد) ٤/١ است، ولی از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد (p-value=٠/٢٧).

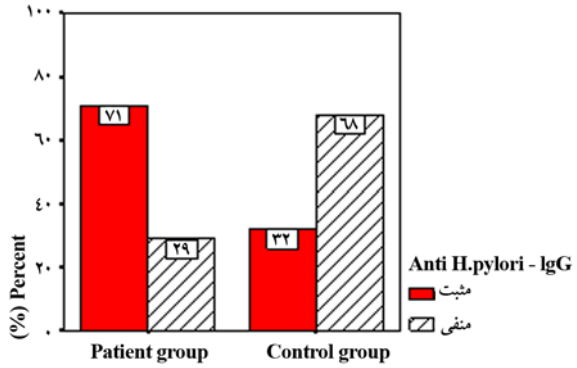



**نمودار شماره٢**- مقایسه فراوانی نسبی موارد IgA مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری در گروه بیماران و گروه شاهد



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

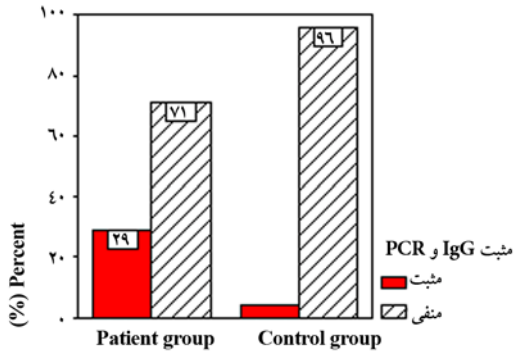
دو گروه بیمار و شاهد از نظر فراوانی عفونت H.pylori با روش سرولوژی (Anti H.pylori Ab-IgG) مقایسه گردیدند. نتایج حاکی از آن بود که ٤٤ نفر از گروه بیماران (۷۱/۰٪) و ۸ نفر از گروه شاهد (۳۲/۰٪) IgG مثبت داشتند (نمودار شماره۳). به این ترتیب نسبت شانس (OR) نتیجه IgG مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری برای مبتلایان به پولیپ بینی نسبت به گروه غیر مبتلا (شاهد) ۵/۲ است، که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p-value=۰/۰۰۱).




**نمودار شماره۳**- مقایسه فراوانی نسبی موارد IgG مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری در گروه بیماران و گروه شاهد

### مقایسه فراوانی عفونت هلیکوباکتر پیلوری با دو روش توام PCR و سرولوژی در گروه مبتلا به پولیپ بینی و گروه سالم

دو گروه بیمار و شاهد از نظر فراوانی عفونت H.pylori با درنظر گرفتن مواردی که هم از نظر سرولوژی (Anti H.pylori Ab-IgG) مثبت بودند و هم PCR مثبت داشتند، مقایسه گردیدند. نتایج حاکی از آن بود که ۱۸ نفر از گروه بیماران (۲۹/۰٪) و یک نفر از گروه شاهد (٤/۰٪) نتایج مثبت داشتند(نمودار شماره٤). به این ترتیب نسبت شانس (OR) نتیجه IgG و PCR مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری برای مبتلایان به پولیپ بینی نسبت به گروه غیر مبتلا (شاهد) ۹/۸ است، که از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد (p-value=۰/۰۱).




**نمودار شماره۴**- مقایسه فراوانی نسبی موارد PCR مثبت و IgG مثبت علیه هلیکوباکتر پیلوری (هر دو مثبت) در گروه بیماران و گروه شاهد

## بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج فوق نشان داده شد که در ٦۲ بیمار مبتلا به پولیپ بینی در مقایسه با ۲۵ نفر گروه کنترل، فراوانی عفونت با باکتری هلیکوباکتر پیلوری در بافت پولیپ بیشتر است. اگرچه همان‌طور که در بالا هم ذکر شد روش سرولوژیک IgA ضد هلیکوباکتر پیلوری که برای بررسی عفونت اخیر و جدید به کار می‌رود، در بین دو گروه مورد مطالعه اختلاف قابل توجهی نداشت. این یافته نیز با فرضیه ازمان محرک برای ایجاد ضایعات پولیپی همخوانی دارد. عدم وجود IgA بالا فرضیه اولیه دال بر دخالت هلیکوباکتر پیلوری در بروز ضایعه را رد نمی‌کند.

یافته‌های مطالعه حاضر با مطالعه که Koc[5] نیز در نمونه‌های پولیپ بیماران توانسته بود هلیکوباکتر پیلوری را جدا کند، مطابقت دارد. البته در مطالعه Szczygielski K[6] با وجود بررسی ٦۱ بیمار و ۳۰ شاهد، هیچ موردی به دست نیامد که به اذعان محقق مربوطه روش تشخیصی به کار رفته که تست اوره آز سریع بود، در این مورد انتخاب صحیحی نبوده است.

به هر ترتیب مطالعه اخیر در کنار مطالعات معدودی که در زمینه پولیپ بینی منتشر شده، و در همراهی با مطالعاتی که وجود باکتری هلیکوباکتر پیلوری را در رینوسینوزیت مزمن به اثبات رسانده‌اند [۲-٤، ۷ و۸]،



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

می‌توانند قدم اول برای مطالعات گسترده تری باشند تا به بررسی نقش اتیولوژیک این باکتری در بروز بیماری و پیدایش پولیپ بپردازند؛ چرا که تا کنون فقط همراهی این باکتری با بیماری مشاهده شده و صرف حضور یک ارگانیسم در بافت بیمار، لزوماً نشانه رابطه علت و معلولی بین آن دو نمی‌باشد.

بیمارانی که آلودگی و عفونت معده‌ای با این باکتری را داشته باشند حتی بدون علائم بالینی، تا ٦ ماه بعد از رفع آلودگی نیز IgG مثبت هستند و جدا شدن DNA از بافت دلیل حضور باکتری فعال و غیر فعال است. نهایتاً چنین مقرر می‌شود که ممکن است باکتری فعال در بافت مخاطی با ترشح آنزیم‌های سیتوتوکسیک موجب تخریب بافت وتحریک مستمر شده که ضایعات پولیپوتیک را باعث شده باشد و یا عوامل باکتریایی به عنوان محرک همراه یا عوامل اولیه ایجاد پولیپ مانند آلرژن‌ها در بروز ضایعه نقش داشته باشند. این پیش فرض نیز محتمل است که باکتری هلیکوباکتر پیلوری در تغییر الگوی سایتوکینی در بافت و پولاریزاسیون به سمت واکنش‌های سایتوکینی ناشی از سلول‌های TH2 و ترغیب التهاب آلرژیک نیز نقش داشته باشد، که نیازمند مطالعات بیشتری است.

باتوجه به وجود میزان DNA هلیکوباکتر پیلوری در بافت پولیپ بینی در مقایسه باDNA جدا شده از مخاط سینوس و افزایش غلظت IgG ضد هلیکوباکتر پیلوری درسرم بیماران مبتلا در مقایسه با گروه شاهد، هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یکی از عوامل مؤثر در بروز ضایعات پولیپی مطرح است که ممکن است تحریک بافتی به دلیل حضور باکتری و شدت واکنش‌های سایتوکین‌ها به سمت تولید سایتوکین‌های Th2 ویا تحریک ترشح ساتیوکین‌های التهابی در بروز پولیپ اثر گذار بوده باشند.

جهت بررسی نقش اتیولوژیک هلیکوباکتر پیلوری در بروز بیماری رینوسینوزیت مزمن و پولیپ بینی مطالعات تکمیلی زیر پیشنهاد می‌شوند:

۱- بررسی نقش درمان‌های ضد هلیکوباکتر پیلوری در درمان موارد مقاوم به درمان رینوسینوزیت مزمن و پولیپ بینی.

۲- مطالعه همگروهی افراد غیر مبتلا به رینوسینوزیت مزمن و پولیپ بینی که در جریان درمان‌های دیگر از نظر باکتری هلیکوباکتر پیلوری در مخاط بینی و سینوس مثبت تشخیص داده می‌شوند.

۳- مطالعه نقش هلیکوباکتر پیلوری در افراد مبتلا به پولیپ با زمینه آلرژی و یا بدون زمینه آتوپی.

## تقدیر و تشکر

این مطالعه با حمایت مالی مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن و علوم وابسته دانشگاه علوم پزشکی ایران انجام شده است.

بدین وسیله از کلیه پرسنل درمانگاه و اتاق عمل گوش و حلق و بینی، آزمایشگاه بیمارستان و پرسنل مرکز تحقیقات گوش و حلق و بینی و سر و گردن و علوم وابسته و همچنین از پرسنل مرکز تحقیقات عفونی کودکان و خانم رستمی که ما را در اجرای این طرح یاری کردند مراتب سپاسگزاری خود را ابراز می‌نماییم.

## فهرست منابع

1- Benninger MS, Ferguson BJ, Hadley JA, Hamilos DL, Jacobs M, Kennedy DW, et al. Adult chronic rhinosinusitis: definitions, diagnosis, epidemiology, and pathophysiology. Otolaryngol Head Neck Surg; 2003. 129(3 Suppl): S1-32.

2- Kurtaran H, Uyar ME, Kasapoglu B, Turkay C, Yilmaz T, Akcay A, et al. Role of Helicobacter pylori in pathogenesis of upper respiratory system diseases. J Natl Med Assoc; 2008. 100(10): 1224-230.



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

3- Morinaka S, Ichimiya M, Nakamura H. Detection of Helicobacter pylori in nasal and maxillary sinus specimens from patients with chronic sinusitis. Laryngoscope; 2003. 113(9): 1557-563.

4- Ozdek A, Cirak MY, Samim E, Bayiz U, Safak MA, Turet S. A possible role of Helicobacter pylori in chronic rhinosinusitis: a preliminary report. Laryngoscope; 2003. 113(4): 679-82.

5- Koc C, Arikan OK, Atasoy P, Aksoy A. Prevalence of Helicobacter pylori in patients with nasal polyps: a preliminary report. Laryngoscope; 2004. 114(11): 1941-944.

6- Szczygielski K, Jurkiewicz D, Rapiejko P. Detection of Helicobacter pylori in nasal polyps specimens using urease test GUT plus. Pol Merkur Lekarski; 2005. 19(111): 309-11.

7- Kim HY, Dhong HJ, Chung SK, Chung KW, Chung YJ, Jang KT. Intranasal Helicobacter pylori colonization does not correlate with the severity of chronic rhinosinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg; 2007. 136(3): 390-95.

8- Dinis PB, Subtil J. Helicobacter pylori and laryngopharyngeal reflux in chronic rhinosinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg; 2006. 134(1): 67-72.

[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]

# *Detection of Helicobacter pylori in Infective Nasal Polyp and Sinus Mucosal Specimens of Patients with Nasal Polyp and Comparison with Sinus Biopsy Specimens of Healthy Control Group by Immunologic and PCR Methods*

***A. Tabatabaei, MSc[I] M. Farhadi, MD[II] A.R. Shamshiri, MD[III]**
**S. Noorbakhsh, MD[IV] M. Shekarabi, PhD[V] Sh. Javadinia, MD[VI]**

## *Abstract*

**Background**: There are several studies evaluating Helicobacter pylori (H.pylori) in nasal and sinus mucosa in chronic rhinosinusitis; however studies dealing with the direct evaluation of H.pylori in nasal polyps are limited. So the objective of this research was to evaluate the frequency of H.pylori nasal polyp and sinus mucosa of patients with nasal polyp in comparison to sinus biopsy specimens of healthy control group.

**Methods**: In this case-control study 62 patients with nasal polyp and 25 healthy individuals with nasal bone fracture, older than 12 years and without any chronic systemic disease were enrolled by non-random consecutive sampling method. Serum anti-H.pylori IgA and IgG were evaluated by ELISA and the antigen was evaluated by PCR in nasal polyp and sinus mucosa specimens of patients and controls, respectively. To compare the study variables between the two groups Chi-square analysis was performed.

**Results**: Median age of patients and controls was 38 years (range: 12-65 yrs) and 26 years (range: 18-54 yrs), respectively. Male percentage was 63% in patients and 40% in controls. IgA positives were similar in both patients and controls (14.5% vs. 4%, p-value=0.27), but significant difference was observed in case of IgG (71% vs. 32%, p-value=0.001). Also the PCR results were different between groups (32.3% vs. 4%, p-value=0.005). There were more cases of both IgG/PCR positive results in patients group (29% vs. 4%, p-value=0.01).

**Conclusion:** Based on the molecular study and variation in IgG concentration for H.pylori, there is a correlation between H.pylori, as a potential etiologic agent, and nasal polyp in our study.

**Keywords: 1) Nasal polyp 2) Helicobacter pylori 3) ELISA 4) PCR**

*This study has been conducted under the financial support of ENT Research Center of Iran University of Medical Sciences and Health Services.*

*I) MSc in laboratory Science, Instructor and Faculty member, Research Institute for Pediatric Infectious Diseases, Niayesh Str., Sattarkhan Ave., Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran (*Corresponding Author)*

*II) Professor of ENT, ENT Research Center, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran*

*III) Epidemiologist, Epidemiology and Biostatistics group, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran*

*IV) Professor of Pediatric Infectious Disease, Research Institute for Pediatric Infectious Diseases, Hazrat-e-Rasool Akram Hospital, Iran University of Medical Sciences and Health services, Tehran, Iran*

*V) Associate Professor of Immunology, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Iran University of Medical Sciences and Health Services, Tehran, Iran*

*VI) General Physician*



[ Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2024-11-24 ]