

## *Correlation of babA2 with cagA and vacAs1 in Helicobacter pylori Isolated from Cases of Gastroduodenal Disorders*

Somayeh Jalilian<sup>1</sup>,  
Amirhooshang Alvandi<sup>2</sup>,  
Ramin Abiri<sup>2</sup>

<sup>1</sup> MSc in Microbiology, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Fars Science and Research Branch, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kermanshah University of Medical Sciences, Kermanshah, Iran

(Received December 8, 2014; Accepted April 4, 2015)

### **Abstract**

**Background and purpose:** *cagA*, *vacAs1* and *babA2* in *Helicobacter pylori* are important virulence factors associated with gastrointestinal diseases. The prevalence of these genes and their association with gastrointestinal disease is different around the world.

**Materials and methods:** In a cross-sectional study, 1500 patients with gastroduodenal disorders were enrolled. They attended Imam Khomeini Hospital in Kermanshah 2013. Biopsy specimens were obtained from the antrum and corpus of stomach. The specimens were inoculated onto selective medium for 3-5 days. The suspected colonies of *Helicobacter pylori* were identified by morphology, biochemical tests and presence of *ureC* gene. The frequencies of *cagA*, *vacAs1* and *babA2* genes were surveyed using PCR.

**Results:** The frequencies of *cagA*, *vacAs1* and *babA2* genes were 89%, 58.3%, and 68%, respectively. There was no significant correlation between *cagA*, *vacAs1* and *babA2* with gastric and peptic ulcers. The frequency of triple-positive strains of *cagA*, *vacAs1* and *babA2* was 40.3%. Also, *babA2* with *cagA* and *vacAs1a* were found in 66% and 43%, respectively.

**Conclusion:** Triple-positive strains in *H. pylori* isolates were more frequent in patients with peptic ulcer compared to those of the gastritis but this difference was not significant. However, further investigations are required to clarify these results.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, *babA2*, *cagA*, *vacAs1*, gastroduodenal diseases

## بررسی ارتباط فاکتور چسبنده *babA2* با *vacAs1* و *cagA* در بیماری های گاستروئودنال ناشی از هلیکوباکتر پیلوری

سمیه جلیلیان<sup>۱</sup>  
امیر هوشنگ الوندی<sup>۲</sup>  
رامین عبیری<sup>۲</sup>

### چکیده

**سابقه و هدف:** ژن های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* در هلیکوباکتر پیلوری از مهم ترین فاکتورهای ویروانس مرتبط با بیماری های گاستروئودنال هستند. میزان فراوانی و ارتباط این ژن ها با انواع بیماری های گوارشی در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است. هدف از این مطالعه تعیین ارتباط ژن های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* در هلیکوباکتر پیلوری با بیماری های گاستروئودنال بوده است.

**مواد و روش ها:** در مطالعه توصیفی مقطعی حاضر ۱۵۰۰ بیمار مبتلا به بیماری های گاستروئودنال مراجعه کننده به بیمارستان امام خمینی (ره) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ وارد مطالعه شدند. از ناحیه کورپوس و آنتروم معده نمونه بیوپسی گرفته شد. نمونه های بیوپسی در محیط انتخابی کشت و به مدت ۳ تا ۵ روز انکوبه گردید. کلونی های مشکوک به هلیکوباکتر پیلوری از لحاظ مورفولوژی، تست های بیوشیمیایی و PCR ژن *ureC* مورد تایید و فراوانی ژن های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی به روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند.

**یافته ها:** فراوانی ژن های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* در ۷۲٪ از زوله هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی به ترتیب ۸۹٪، ۵۸٫۳٪ و ۶۸٪ درصد بود. ارتباط معنی داری بین این ژنوتیپ ها و گاستریت و زخم پپتیک مشاهده نشد. فراوانی حضور ترکیب سه تایی این ژن ها ۴۰/۳٪ درصد بود و هم چنین *babA2* با ژن های *vacAs1*، *cagA* به ترتیب در ۶۶٪ و ۴۳٪ درصد موارد حضور داشت.

**استنتاج:** حضور ترکیب سه تایی ژن های *vacAs1*، *cagA*، *babA2* در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری از بیماران مبتلا به زخم پپتیک بسیار بیش تر از بیماران مبتلا به گاستریت است. هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود اما به منظور دست یافتن به یک نتیجه بدون تناقض نیاز به یک مطالعه گسترده تر وجود دارد.

**واژه های کلیدی:** هلیکوباکتر پیلوری، *vacAs1*، *cagA*، *babA2*، بیماری های گاستروئودنال

### مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری باسیل خمیده گرم منفی می گردد. این باکتری از شایع ترین عفونت های انسانی میکروآتروفیلیک است که در معده انسان ساکن است که تقریباً بیش از نیمی از جمعیت جهان را در بر

E-mail: rabiri@kums.ac.ir

**مؤلف مسئول:** رامین عبیری - کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی

۱. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران

۲. استادیار، گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۹/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۳۹۳/۱۰/۲۷ تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۱/۱۵

از آن است که عفونت هلیکوباکتر پیلوری *cagA* مثبت با حضور زخم دوازده، آتروفی مخاط معده و سرطان معده همراهی دارد (۹) تقریباً ۴ درصد از ژنوم هلیکوباکتر پیلوری، پروتئین‌های غشاء خارجی را کد می‌کنند که *CagA* و *BabA* از این دسته پروتئین‌ها هستند. این فاکتورها به سلول‌های پوششی متصل می‌شوند که این اتصال به سلول‌های اپی تلیالی ممکن است سبب سکونت و شروع پاسخ‌های التهابی معده شده و منجر به اختلالات گوارشی گردند (۱۳، ۱۲).

چسبندگی به سطح سلول‌های اپی تلیال معده برای تهاجم هلیکوباکتر پیلوری و بیماری‌زایی آن می‌تواند مهم باشد که یکی از مهم‌ترین مولکول‌های چسبان *BabA* است که سبب اتصال هلیکوباکتر پیلوری از طریق آنتی‌ژن‌های فوکوزیله گروه خونی لوئیس b روی سطح سلول‌های اپی تلیال معده می‌گردد (۱۴). ژن کدکننده این پروتئین (*babA*) دارای دو آلل *babA1* و *babA2* است. یک سکانس ۱۰ جفت بازی در ناحیه کدکننده توالی وجود دارد که در *babA1* حذف شده ولی این توالی در *babA2* به عنوان جایگاه شروع ترجمه است و به همین دلیل تنها ژن *babA2* از لحاظ بیولوژیک کارکرد دارد (۱۵، ۱۳، ۲۰، ۲۱). در برخی پژوهش‌ها بین حضور ژن *babA2* و بیماری‌های گوارشی مانند سرطان معده و زخم دوازدهه ارتباط معنی‌داری مشاهده کردند (۱۲۸). در کشورهای آسیایی ژن‌های *cagA* و *babA2* در اغلب سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی دارای فراوانی بالایی بوده ولی با این حال با بیماری خاصی ارتباط ندارند (۱۷، ۱۶). بنابراین به نظر می‌رسد حضور ژن *babA2* در هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یک فاکتور مهم در تعامل باکتری و میزبان در ایجاد اختلالات گوارشی باشد که با توجه به نبود فراوانی و ارتباط یکسان *babA2* با مهم‌ترین توکسین‌های ژن‌های *cagA*، *vaca* هلیکوباکتر پیلوری در سویه‌های جدا شده از مناطق متفاوت جغرافیایی جهان، هدف از انجام این مطالعه تعیین پیش‌آگهی بیماری ایجاد شده توسط

می‌گردد (۳-۱). هلیکوباکتر پیلوری سبب ایجاد بیماری‌های التهاب مزمن معده بدون علائم کلینیکی، زخم‌های معده و دوازدهه، سرطان معده (آدنوکارسینوما) و لنفومای مخاط مرتبط با بافت‌های لنفاوی (MALT) می‌گردد (۵، ۴). شیوع هلیکوباکتر پیلوری در کشورهای در حال توسعه بیش از کشورهای توسعه یافته است (۶، ۲) و حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد از ایرانیان به هلیکوباکتر پیلوری آلوده هستند (۷). مطالعات متعددی نشان داده است که فاکتورهای گوناگون میزبان و باکتری در ایجاد عفونت و بروز علامت‌های گوارشی دخالت دارند. در میان فاکتورهای باکتریایی، افزون بر دو توکسین *CagA* و *VacA* که فاکتورهای مهم در بیماری‌زایی هلیکوباکتر پیلوری هستند، فاکتورهای ویروالانس دیگری چون فاکتورهای چسبان (*AlpA*، *HpoZ*، *SabA*، *BabA*) و *AlpB* با توانایی در اتصال به سلول‌های پوششی در شروع و راه اندازی پاسخ‌های التهابی میزبان و توسعه بیماری مشارکت دارند (۸).

*Vacuolating Cytotoxin A (VacA)* سایتوتوکسینی است که ال‌های آن در تمام سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد. قسمت‌های میانی و سیگنالی این ژن در سویه‌های گوناگون متفاوت است و دارای انواع مهم ناحیه سیگنالی *s1* و *s2* و انواع مهم ناحیه میانی *m1* و *m2* است که ژن *vaca* می‌تواند از ترکیب هر یک از این نواحی با یکدیگر تشکیل شود (۹، ۱۰). *Cytotoxin Associated Gene A (CagA)* یکی دیگر از ژن‌های مهم و بیماری‌زا و فاکتور غیر حفاظت شده هلیکوباکتر پیلوری است که فراوانی بالایی دارد به گونه‌ای که بنا بر برخی گزارش‌ها بیش از ۹۰ درصد سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از کشورهای آسیایی و ۶۰ تا ۷۰ درصد از سویه‌های کشورهای غربی از نظر وجود ژن *cagA* مثبت هستند (۱۱). طبق پژوهش‌های صورت گرفته *CagA* می‌تواند به طور مستقیم بعد از ورود به سلول هدف و تداخل با سیستم‌های پیام‌رسانی سلول، سبب افزایش پاتوژنز باکتری شود و نتایج حاکی

ایزوله‌های هلیکوباکتر پیلوری دارای فاکتورهای ویروالانس گوناگون و تعیین ارتباط ژن‌های *cagA* و *vacAs1* در هلیکوباکتر پیلوری با بیماری‌های گاستروئودنال بوده است.

## مواد و روش‌ها

در مطالعه توصیفی مقطعی حاضر ۱۵۰۰ بیمار با علائم گوارشی (درد معده، سوء هاضمه، ریفلاکس و خونریزی از مدفوع) مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امام خمینی (ره) کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ بنا به تشخیص پزشک متخصص تحت آندوسکوپی قرار گرفتند. بیمارانی که آنتی‌بیوتیک‌های خاص، داروهای حاوی بیسموت و امپرازول مصرف کرده بودند از مطالعه حذف گردیدند. پیش از انجام آندوسکوپی از بیمار رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. از هر بیمار مبتلا به بیماری گاستروئودنال (بیماران مبتلا به التهاب معده (گاستریت)، زخم‌های معده و دوازدهه، سوء هاضمه و سرطان معده) دو جفت نمونه بیوپسی از نواحی کورپوس و آنتروم معده جهت تست اوره آز مایع و کشت گرفته شد و بیماری هر فرد توسط پزشک بر اساس نمای بالینی تشخیص داده شد. نمونه‌های بیوپسی بر روی محیط کلمبیا آگار (مرک، آلمان) غنی شده با تخم مرغ و دارای آنتی‌بیوتیک‌های مناسب (۱۰ mg/L وانکومايسين، ۵ mg/L تری متوپریم و ۱۰ mg/L آمفوتریسین) کشت داده شدند. پلیت‌های کشت داده شده در شرایط میکروآنروفیل و رطوبت بالا و در دمای

۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵ روز انکوبه گردید. برای تعیین گونه کلنی‌های مشکوک به هلیکوباکتر پیلوری، از آزمون‌های رنگ آمیزی گرم، تست اوره آز اکسیداز و کاتالاز استفاده شد. کلنی‌های تایید شده جمع‌آوری شدند و DNA آن‌ها با استفاده از کیت (سینا کلون) طبق روش کار به شرح زیر استخراج گردید:

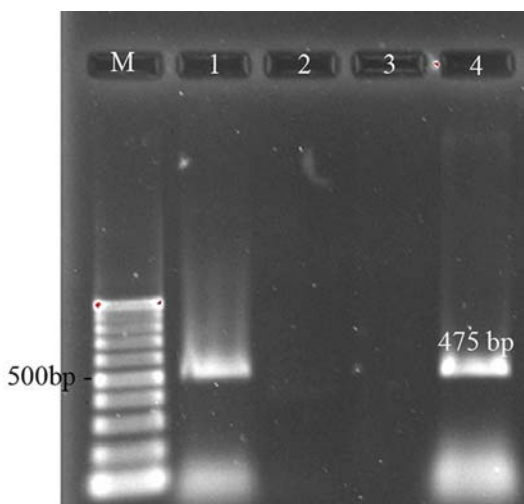
باکتری کشت داده شده بر روی محیط کلمبیا آگار دارای زرده تخم مرغ جمع‌آوری و با نرمال سالین شست و شو داده شد و سانتریفیوژ گردید. در مراحل بعد به ترتیب محلول‌های *Prelysis buffer*، *Ributinas*، *lysis buffer* و *precipitation solution* به میکروتیوب حاوی نمونه افزوده و سانتریفیوژ گردید. از محلول‌های *Washing buffer 1* و *Washing buffer 2* برای شست و شو استفاده شد. در پایان با افزودن *Elution buffer (EL)* و قرار دادن میکروتیوب در بن ماری ۶۵ درجه سانتی‌گراد و انجام سانتریفیوژ، DNA استخراج گردید و تا زمان استفاده از آن‌ها، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت تایید گونه هلیکوباکتر پیلوری از PCR ژن *ureC* استفاده شد. نمونه‌های تایید شده جهت تعیین حضور ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* توسط پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند و با نمونه مثبت از ژن‌هایی که در آزمایشگاه تعیین سکانس شده بود، مقایسه شد. لیست پرایمرهای استفاده شده در جدول شماره ۱ نمایش داده شده است.

جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای PCR برای ژن‌های *ureC*، *cagA*، *vacAs1* و *babA2*

منابع	اندازه محصولات (bp)	توالی پرایمر	ژن مورد بررسی
۱۸	۲۱۴	F: CATCGCCATCAAAGCAAAG R: CAGAGTTTAAGGATCGTGTTAG	<i>ureC</i>
این مطالعه	۴۷۵	F: CAATTTAAAGGAGAAAACATGAAAAA R: CGTTCAAAAGAACAAGTGATGG	<i>babA2</i>
۱۹	۳۴۹	F: GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG R: CTGCAAAAGATTGTTGGCAGA	<i>cagA</i>
۱۹	۱۹۰	F: GTCAGCATCACACCGCAAC R: CTGCTTGAATGCGCAAAC	<i>vacAs1a</i>
۱۹	۱۸۷	F: AGC GCC ATA CCG CAA GAG R: CTG CTT GAA TGC GCC AAA C	<i>vacAs1b</i>

و گروه‌های بیماری وجود داشت ( $p=0/02$ ). اندازه محصول PCR برای ژن‌های *vacAs1* و *cagA* *babA2* به ترتیب، ۴۷۵ جفت بازی (تصویر شماره ۱)، ۳۴۹ جفت بازی (تصویر شماره ۲)، ۱۹۰ جفت بازی (تصویر شماره ۳) بود. فراوانی کلی ژن‌های *vacAs1* *cagA* و *babA2* به ترتیب ۸۹/۸ درصد، ۵۸/۳ درصد و ۶۳/۳ درصد بود. فراوانی این ژن‌ها به تفکیک در بیماران مبتلا به گاستریت و زخم پپتیک در جدول شماره ۲ آمده است. بین ژن‌های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* با گروه‌های بیماری گوارشی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد اما بین ژن *vacAs1* با بیماری‌های گوارشی گاستریت و زخم پپتیک ارتباط معنی‌داری وجود داشت ( $p=0/03$ ). حضور همزمان *babA2* با ژن‌های *vacAs1* و *cagA* به ترتیب در ۶۵/۳ درصد و ۴۱/۳ درصد موارد بود که تنها حضور هم‌زمان *babA2* با *cagA* معنی‌دار به دست آمد ( $p=0/004$ ). فراوانی حضور همزمان ترکیب ژن‌های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* ۴۳/۱ درصد بود. در این مطالعه فراوانی ترکیب ۳ تایی ژن‌های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* در ایزوله‌های مبتلا به زخم پپتیک و گاستریت ۵۷/۹ درصد و ۳۷/۷ درصد به دست آمد.



تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات PCR ژن *babA2* به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی چاهک ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه منفی ۴: نمونه مثبت

واکنش PCR در حجم کلی ۱۵ میکرولیتر انجام شده و شامل بافر IX (۱۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۵۰ میلی‌مولار KCl و nonidet P40)، ۰/۲ میلی‌مولار dNTP mix، ۱/۵ میلی‌مولار  $MgCl_2$ ، ۰/۶ میکرومولار از پرایمرها، ۱ واحد Taq DNA polymerase و ۱ میکرو لیتر DNA الگو بود. برنامه مورد استفاده برای ژن‌ها عبارت بود از دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵ سیکل دمایی شامل: دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه با دمای آنیلینگ ۵۸، ۵۳ و ۵۳ به ترتیب برای ژن‌های *ureC*، *cagA* و *babA2* اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله نهایی اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه. محصولات PCR به وسیله الکتروفورز روی ژل ۱ درصد آگاروز جداسازی و با استفاده از اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی و به وسیله دستگاه ژل داکيومنتیشن عکس برداری گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16 آنالیز گردید و اطلاعات به صورت جدول توزیع فراوانی (تعداد و درصد) گزارش شد. داده‌های کیفی با استفاده از آزمون کای دو آنالیز شد و در کلیه موارد  $p < 0/05$  به عنوان رابطه معنی‌دار بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

کلنی‌های مشکوک به باکتری هلیکوباکتر پیلوری با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند و ایزوله‌ها با استفاده از تکثیر ژن *ureC* به روش مولکولی تایید گردید. در مجموع ۷۲ ایزوله از بیماران جدا شد که شامل ۵۳ ایزوله از بیماران مبتلا به گاستریت و ۱۹ ایزوله از بیماران مبتلا به زخم پپتیک بود. از ۷۲ بیمار ۳۵ بیمار زن و ۳۷ بیمار، مرد بودند. درصد ابتلا به گاستریت و زخم پپتیک در مردان به ترتیب ۳۷/۷ درصد و ۷۸/۹ درصد و در زنان نیز به ترتیب ۶۲/۲ درصد و ۲۱ درصد بود. بدین ترتیب ارتباط معنی‌داری میان جنسیت بیماران

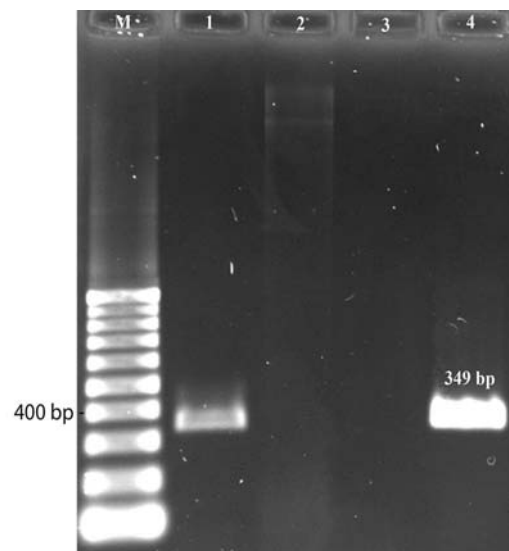
جدول شماره ۲: فراوانی ژن های *vacAsI* و *cagA* *babA2* و ترکیبات دو تایی و سه تایی آن ها در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از

بیماران

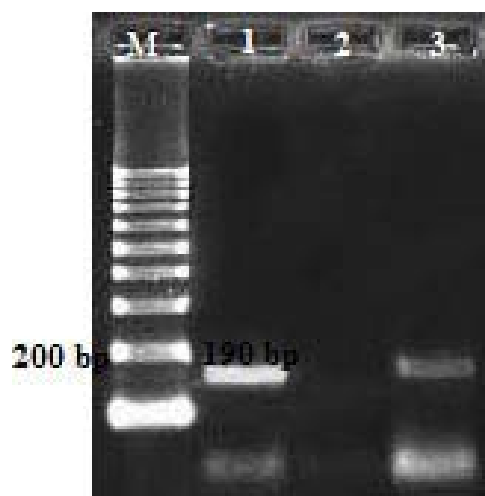
ژنوتیپ: تعداد (درصد)												
وضعیت بالینی	<i>babA2</i>		<i>cagA</i>		<i>vacAsI</i>		<i>cagA</i> <i>babA2</i>		<i>vacAsI</i> <i>babA2</i>		<i>vacAsI</i> <i>cagA</i> <i>babA2</i>	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی	مثبت	منفی
گاستریت	۷۰/۳۷	۳۰/۱۶	۴۸ (۹۰/۵)	۹/۵۵	۲۷ (۵۱)	۲۶ (۴۹)	۲۱ (۳۹/۶)	۳۲ (۶۰/۴)	۳۵ (۶۶)	۱۷ (۳۴)	۲۰ (۳۸)	۳۳ (۶۲)
زخم پتیک	۶۳/۱۲	۳۶/۸۷	۱۷ (۸۹/۵)	۱۰/۵۲	۱۵ (۷۹)	۴ (۲۱)	۹ (۴۷/۴)	۱۰ (۵۲/۶)	۱۲ (۶۳/۲)	۷ (۳۶/۸)	۱۱ (۵۷/۹)	۸ (۳۱)
جمع	۶۸/۴۹	۳۲/۲۳	۶۵ (۹۰/۳)	۷ (۹/۷)	۴۲ (۵۸)	۳۰ (۴۲)	۳۰ (۴۱/۷)	۴۲ (۵۸/۳)	۴۷ (۶۵/۳)	۲۵ (۳۶/۷)	۳۱ (۴۳/۱)	۴۱ (۶۶/۹)

## بحث

اگر چه هلیکوباکتر پیلوری یک عفونت جهانی است اما شیوع آن در نقاط مختلف جهان متفاوت است. در سال ۱۹۹۴ سازمان بین المللی تحقیقات سرطان (IARC) هلیکوباکتر پیلوری را جزء کلاس یک کارسینوژن ها معرفی کرد (۱۵) که فاکتور خطر مهمی برای سرطان معده می باشد. سرطان معده ۵/۵ درصد سرطان های شایع در جهان را تشکیل می دهد (۲۰). بیش تر افراد آلوده با عفونت هلیکوباکتر پیلوری علائم کلینیکی بیماری های دستگاه گوارش را نشان نمی دهند و بدون نشانه هستند (۲۱). بر اساس مطالعاتی که در ایران صورت گرفته است حدود ۹۰ درصد از بزرگ سالان و بیش از ۵۰ درصد از افراد زیر ۱۵ سال با هلیکوباکتر پیلوری آلودگی دارند (۶). *babA2* می تواند به گیرنده خود ( $Le^b$ ) بر روی سطح سلول های اپی تلیال معده متصل گردد (۲۲). این چسبندگی سبب استقرار باکتری، برانگیختن پاسخ ایمنی و تهاجم فاکتورهای مهاجم دیگر چون *CagA* و *VacA* به سلول های میزبان می گردد و بنابر این سبب افزایش ویرولانسی باکتری می شود (۲۳). بیماری های مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری به فاکتورهای متعددی وابسته است. در برخی موارد چندین فاکتور همزمان حضور دارند و احتمالاً چندین فاکتور بیماری زایی با هم اثر هم افزایی دارند و باعث صدمه به میزبان می گردند. سویه های هلیکوباکتر پیلوری دارای ژن های *cagA* و *babA2* با بیماری زخم گوارشی و سرطان معده در ارتباط معنی دار هستند (۲۴). با توجه به این مساله و



تصویر شماره ۲: الکتروفورس محصولات PCR ژن *cagA*. به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی چاهک ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه منفی ۴: نمونه مثبت



تصویر شماره ۳: الکتروفورس محصولات PCR ژن *vacAsI* به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه مثبت

فراوانی بالای آن را در ایزوله‌های جدا شده از زخم پپتیک (به ترتیب ۸۹/۵ درصد و ۶۳/۲ درصد) نادیده گرفت (۳۵،۱۷،۱۶).

شیوع ترکیب ۳ تایی ژن‌های *vacAs1*، *cagA* و *babA2* بیش از ۴۳ درصد بود و حضور آن‌ها در ایزوله‌های مبتلا به زخم پپتیک و گاستریت به ترتیب ۵۷/۹ درصد و ۳۷/۷ درصد به دست آمد. در اکثر مطالعات نشان داده شده است که در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه شیوع ترکیب سه گانه بیش‌تر از بیماری‌های دیگر بوده است (۳۶،۳۵،۳۰). اما مطالعاتی نیز گزارش نموده‌اند که تفاوت چندانی بین شیوع آن‌ها وجود نداشته است (۳۷،۳۴) یا حتی شیوع آن در بیماران مبتلا به گاستریت بیش‌تر بوده است (۳۰). هر چند که در بعضی مطالعات بین ترکیب سه تایی ژن‌های *cagA*، *babA2* و *vacAs1* و بیماری‌های مختلف ناشی از هلیکوباکتر پیلوری به خصوص زخم پپتیک ارتباط نشان داده شده است اما در مطالعه حاضر و برخی مطالعات دیگر بین حضور ترکیب سه تایی این ژن‌ها و بیماری‌های گاستروئودونال ارتباط مشاهده نشد. با این که در بیش‌تر مطالعات احتمال حضور هم‌زمان *babA2* با ژن‌های *cagA* و *vacAs1* نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها بیش‌تر بوده است اما با توجه به تناقضات مشاهده شده در برخی گزارشات در رابطه با ارتباط این ژن‌ها با هم و بیماری‌های گوارشی باید بررسی بیش‌تری صورت گیرد. شناسایی فاکتورهای ویروالانس باکتری و تعیین ارتباط آن با بیماری می‌تواند در انتخاب نوع و روند درمان موثر باشد و بهتر است در مطالعات بعدی سایر فاکتورهای ویروالانس مثل *SabA*، *HpoZ*، *AlpA* و *AlpB* به صورت دو تایی با توکسین‌ها و یا حتی با هم بررسی گردد.

### سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای حمید پژوند به خاطر کمک‌های ایشان در انجام کارهای آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

گزارشات متفاوت در ارتباط با رابطه بین این ژنوتیپ‌ها و بیماری‌های کلینیکیو درصد بالای عفونت هلیکوباکتر پیلوری در شهر کرمانشاه به نظر می‌رسد شناسایی دقیق تمام فاکتورهای بیماری‌زایی و اثرات هم‌افزایی آن‌ها می‌تواند به درمان سریع آن‌ها کمک کند و مانع انتقال آن‌ها به سایر بیماران گردند. حضور ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* در ایزوله‌های مورد بررسی به ترتیب ۹۰/۲ درصد، ۵۸/۳ درصد و ۶۸ درصد بود که بیانگر فراوانی بالایی از حضور این ژن‌ها در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا سازی شده در این منطقه می‌باشد. شیوع ژن *cagA* در سویه‌های بررسی شده در مطالعات مختلف از کشورهای دیگر و ایران ۵۵ تا ۹۷/۴ درصد بوده است. در برخی از این مطالعات ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن *cagA* و بیماری‌های گاستروئودونال نشان داده شده است (۲۷-۲۵). در این مطالعه ارتباط معنی‌داری در این مورد پیدا نشد. باید خاطر نشان کرد که در مطالعاتی نیز این عدم ارتباط معنی‌دار گزارش شده است (۲۸،۱۷). هم‌چنین شیوع ژن *babA2* و *vacAs1* در مطالعات مختلف به ترتیب از ۴۵ تا ۸۵ درصد و ۵۰ تا ۸۹ درصد بوده است. در مطالعه حاضر مشابه مطالعاتی از برزیل، ژاپن و تایوان ارتباط معنی‌داری بین ژن *babA2* و *vacAs1* با بیماری‌های گاستروئودونال مشاهده نشد (۲۹،۳۰) در حالی که بین ژن *babA2* و آدنوکارسینوما در مطالعاتی از ایران و کشورهای آلمان و ترکیه ارتباط معنی‌دار دیده شد (۱، ۸، ۳۱، ۳۲). در پاره‌ای از مطالعات شیوع حضور هم‌زمان ژن‌های *cagA* و *babA2* بالا بوده و بین آن‌ها ارتباط معنی‌دار گزارش شده است (۱۴، ۲۲، ۳۳). بدین معنی که ایزوله‌های *babA2* مثبت نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها، بیش‌تر با *cagA* و *vacAs1* در ارتباط هستند و بیمارانی که به وسیله سویه‌های دو گانه مثبت آن‌ها کلونیزه شده‌اند، در معرض خطر بیش‌تری برای ابتلا به بیماری‌های گاستروئودونال قرار می‌گیرند (۳۴، ۳۵). هر چند در مطالعه حاضر و چند مطالعه دیگر بین ژن‌های *cagA* و *babA2* ارتباط معنی‌دار به دست نیامد اما نمی‌توان

---

## References

1. Maleki E, Hajheydari Z, Ghoreyshi M, Ala S, Khalilian A. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on idiopathic chronic urticaria. *J Mazandaran Uni Med Sci* 2009; 19(72): 2-8.
2. Talebi BezminAbadi A, Mohabati Mobarez A, Rafiee A, Taghwaii T. Evaluation on antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated from patients admitted to tooba medical center Sari. *J Mazandaran Univ Med Sci* 2009; 19(70): 26-32.
3. Atherton JC. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 63-96.
4. Pereira MI, Medeiros JA. Role of *Helicobacter pylori* in gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas. *World J Gastroenterol* 2014; 20(3): 684-698.
5. Vaziri F, Najar Peerayeh S, Alebouyeh M, Mirzaei T, Yamaoka Y, Molaei M, et al. Diversity of *Helicobacter pylori* genotypes in Iranian patients with different gastroduodenal disorders. *World J Gastroenterol* 2013; 19(34): 5685-5692.
6. Hosseini E, Poursina F, de Wiele TV, Safaei HG, Adibi P. *Helicobacter pylori* in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. *J Res Med Sci* 2012; 17(3): 280-292.
7. Jafari F, Shokrzadeh L, Dabiri H, Baghaei K, Yamaoka Y, Zojaji H, et al. *vacA* genotypes of *Helicobacter pylori* in relation to *cagA* status and clinical outcomes in Iranian populations. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 290-293.
8. Erzin Y, Koksall V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA, babA2* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006; 11(6): 574-580.
9. Atherton JC. The clinical relevance of strain types of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1997; 40(6): 701-703.
10. Hocker M, Hohenberger P. *Helicobacter pylori* virulence factors--one part of a big picture. *Lancet* 2003; 362(9391): 1231-1233.
11. Tomb JF, White O, Kerlavage AR, Clayton RA, Sutton GG, Feischmann RD, et al. The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature* 1997; 388: 539-547.
12. Yamaoka Y. Roles of *Helicobacter pylori* BabA in gastroduodenal pathogenesis. *World J Gastroenterol* 2008; 14(27): 4265-4272.
13. Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Louw JA. Heterogeneity in the *Helicobacter pylori vacA* and *cagA* genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? *Gut* 1999; 45(4): 499-502.
14. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998; 279(5349): 373-377.
15. Wen S, Moss SF. *Helicobacter pylori* virulence factors in gastric carcinogenesis. *Cancer Lett* 2009; 282(1): 1-8.
16. Lai CH, Kuo CH, Chen YC, Chao FY, Poon SK, Chang CS, et al. High prevalence of *cagA*- and *babA2*-positive *Helicobacter pylori* clinical isolates in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2002; 40(10): 3860-3862.
17. Kim HJ, Choi BY, Byun TJ, Eun CS, Song KS, Kim YS, et al. The prevalence of atrophic gastritis and intestinal metaplasia according to gender, age and *Helicobacter pylori*



- infection in a rural population. *J Prev Med Public Health* 2008; 41(6): 373-379.
18. Amirhooshang A, Ramin A, Ehsan A, Mansour R, Shahram B. High frequency of *Helicobacter pylori* DNA in drinking water in Kermanshah, Iran, during June-November 2012. *J Water Health* 2014; 12(3): 504-512.
  19. Chen XJ, Shen YF, Yan J. Analysis on the variance of *vacA* genotypes and their vacuolating toxin activity of *Helicobacter pylori* isolates in Zhejiang area. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2005; 26(7): 520-524.
  20. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74-108.
  21. Peek RM, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nat Rev Cancer* 2002; 2(1): 28-37.
  22. Hennig EE, Allen JM, Cover TL. Multiple chromosomal loci for the *babA* gene in *Helicobacter pylori*. *Infect Immun* 2006; 74(5): 3046-3051.
  23. Yamaoka Y. Roles of the plasticity regions of *Helicobacter pylori* in gastroduodenal pathogenesis. *J Med Microbiol* 2008; 57(Pt 5): 545-553.
  24. Peek RM Jr, Moss SF, Tham KT, Pérez-Pérez GI, Wang S, Miller GG, et al. *Helicobacter pylori cagA+* strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 863-868.
  25. Hussein NR. *Helicobacter pylori* and gastric cancer in the Middle East: a new enigma? *World J Gastroenterol* 2010; 16(26): 3226-3234.
  26. Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, Ramalho P, Cabral J, Sousa Guerreiro A, et al. *Helicobacter pylori* virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003; 22(2): 85-91.
  27. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004; 42(4): 1648-1651.
  28. Dabiri H, Maleknejad P, Yamaoka Y, Feizabadi MM, Jafari F, Rezadehbashi M, et al. Distribution of *Helicobacter pylori cagA*, *cagE*, *oipA* and *vacA* in different major ethnic groups in Tehran, Iran. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24(8): 1380-1386.
  29. Gatti LL, Fagundes e Souza EK, Leite KR, Bastos EL, Vicentini LR, Silva LC, et al. *cagA vacA* alleles and *babA2* genotypes of *Helicobacter pylori* associated with gastric disease in Brazilian adult patients. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51(4): 231-235.
  30. Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the *babA2* genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol* 2001; 39(7): 2463-2465.
  31. Safaei HG, Havaei SA, Tavakkoli H, Eshaghei M, Navabakbar F, Salehei R. Relation of *babA2* genotype of *Helicobacter pylori* infection with chronic active gastritis, duodenal ulcer and non-cardia active gastritis in Alzahra hospital Isfahan, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology* 2010; 3(3): 93-98.
  32. Olfat FO, Zheng Q, Oleastro M, Voland P, Boren T, Karttunen R, et al. Correlation of the *Helicobacter pylori* adherence factor *BabA* with duodenal ulcer disease in four European countries. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2005; 44(2): 151-156.
  33. Torres LE, Melian K, Moreno A, Alonso J, Sabatier CA, Hernandez M, et al. Prevalence

- 
- of *vacA*, *cagA* and *babA2* genes in Cuban *Helicobacter pylori* isolates. *World J Gastroenterol* 2009; 15(2): 204-210.
34. Podzorski RP, Podzorski DS, Wuerth A, Tolia V. Analysis of the *vacA*, *cagA*, *cagE*, *iceA*, and *babA2* genes in *Helicobacter pylori* from sixty-one pediatric patients from the Midwestern United States. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2003; 46(2): 83-88.
35. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Boren T, Rad R, Schepp W, et al. Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(22): 12778-12783.
36. Han YH, Liu WZ, Zhu HY, Xiao SD. Clinical relevance of *iceA* and *babA2* genotypes of *Helicobacter pylori* in a Shanghai population. *Chin J Dig Dis* 2004; 5(4): 181-185.
37. Mattar R, Santos AFd, Eisig JN, Rodrigues TN, Silva FM, Lupinacci RM, et al. No correlation of *babA2* with *vacA* and *cagA* genotypes of *Helicobacter pylori* and grading of gastritis from peptic ulcer disease patients in Brazil. *Helicobacter* 2005; 10(6): 601-608.