ORIGINAL ARTICLE

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

Somayeh Jalilian[1],
Amirhooshang Alvandi[2],
Ramin Abiri[2]

[1] MSc in Microbiology, Faculty of Medicine, Islamic Azad University, Fars Science and Research Branch, Shiraz, Iran
[2] 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 *vacAs1*a 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

J Mazandaran Univ Med Sci 2015; 25(123): 11-20 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و پنجم شماره ۱۲۳ فروردین سال ۱۳۹۴ (۲۰-۱۱)

بررسی ارتباط فاکتور چسبنده *babA2* با *cagA* و *vacAs1* در بیماری های گاستروودئودنال ناشی از *هلیکوباکتر پایلوری*

سمیه جلیلیان[1]
امیرهوشنگ الوندی[2]
رامین عبیری[2]

چکیده

سابقه و هدف: ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* در *هلیکوباکتر پایلوری* از مهم‌ترین فاکتورهای ویرولانس مرتبط با بیماری‌های گاستروودئودنال هستند. میزان فراوانی و ارتباط این ژن‌ها با انواع بیماری‌های گوارشی در مناطق جغرافیایی مختلف، متفاوت است.هدف از این مطالعه تعیین ارتباط ژن‌های cagA،vacAs1 و babA2 در هلیکوباکتر پایلوری با بیماری‌های گاستروودئودنال بوده است.

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

یافته‌ها: فراوانی ژن های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* در ۷۲ ایزوله *هلیکوباکتر پایلوری* مورد بررسی به ترتیب ۸۹درصد، ۵۸.۳ درصد و ۶۸ درصد بود. ارتباط معنی‌داری بین این ژنوتیپ‌ها و گاستریت و زخم پپتیک مشاهده نشد. فراوانی حضورترکیب سه‌تایی این ژن ها ۴۰/۳درصد بود و هم‌چنین *babA2* با ژن‌های *cagA*، *vacAs1* به ترتیب در ۶۶ درصد و ۴۳ درصد موارد حضور داشت.

استنتاج: حضور ترکیب سه تایی ژن‌های *babA2*، *cagA* و *vacAs1* در *ایزوله‌های هلیکوباکتر پایلوری* از بیماران مبتلا به زخم پپتیک بسیار بیش‌تر از بیماران مبتلا به گاستریت است. هر چند این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود اما به منظور دست یافتن به یک نتیجه بدون تناقض نیاز به یک مطالعه گسترده‌تر وجود دارد.

واژه های کلیدی: *هلیکوباکتر پایلوری*، *babA2*، *cagA*، *vacAs1*، بیماری های گاستروودئودنال

مقدمه

هلیکوباکتر *پایلوری* باسیل خمیده گرم منفی میکروآئروفیلیک است که در معده انسان ساکن می‌گردد. این باکتری از شایع‌ترین عفونت‌های انسانی است که تقریباً بیش از نیمی از جمعیت جهان را در بر

مولف مسئول: رامین عبیری– کرمانشاه: دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی E-mail: rabiri@kums.ac.ir
۱. کارشناسی ارشد میکروبیواوژی، 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

می‌گیرد(۳-۱). *هلیکوباکتر پایلوری* 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 پایلوری* در کشورهای در حال توسعه بیش از کشورهای توسعه یافته است(۶،۲) و حدود ۶۰ تا ۹۰ درصد از ایرانیان به *هلیکوباکتر پایلوری* 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 پایلوری* هستند، فاکتورهای ویرولانس دیگری چون فاکتورهای چسبان (BabA، SabA، HpoZ، AlpA، و AlpB) با توانایی در اتصال به سلول های پوششی در شروع و راه اندازی پاسخ های التهابی میزبان و توسعه بیماری مشارکت دارند(۸).

VacA (Vacuolating Cytotoxin A) سایتوتوکسینی است که الل‌های آن در تمام سویه‌های *هلیکوباکترپایلوری* 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(۱۰،۹). CagA (Cytotoxin Associated Gene A) یکی دیگر از ژن‌های مهم و بیماری‌زا و فاکتور غیر حفاظت شده *هلیکوباکتر پایلوری* است که فراوانی بالایی دارد به گونه‌ای که بنا بر برخی گزارش‌ها بیش از ۹۰ درصد سویه‌های *هلیکوباکتر پایلوری* 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 از آن است که عفونت *هلیکوباکتر پایلوری* *cagA* مثبت با حضور زخم دوازده، آتروفی مخاط معده و سرطان معده همراهی دارد(۹) تقریباً ۴ درصد از ژنوم *هلیکوباکترپایلوری*، 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 اپی‌تلیال معده برای تهاجم *هلیکوباکتر پایلوری* و بیماری‌زایی آن می‌تواند مهم باشد که یکی از مهم ترین مولکول‌های چسبان BabA است که سبب اتصال *هلیکوباکتر پایلوری* 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 کد کننده 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،۲،۱). در برخی پژوهش‌ها بین حضور ژن *babA2* و بیماری‌های گوارشی مانند سرطان معده و زخم دوازدهه ارتباط معنی داری مشاهده کردند(۱۲،۸). در کشورهای آسیایی ژن‌های *cagA* و *babA2* در اغلب سویه های *هلیکوباکتر پایلوری* 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 پایلوری* 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 پایلوری* در سویه‌های جدا شده از مناطق متفاوت جغرافیایی جهان، هدف از انجام این مطالعه تعیین پیش‌آگهی بیماری ایجاد شده توسط

ایزولـه‌هـای *هلیکوباکتر پایلوری* دارای فاکتورهـای ویـرولانس گونـاگون و تعیـین ارتبـاط ژن‌هـای *cagA*، *vacAs1* و *babA2* در *هلیکوباکتر پایلوری* با بیمـاری‌هـای گاستروودئودنال بوده است.

مواد و روش‌ها

در مطالعه توصـیفی مقطعـی حاضـر ۱۵۰۰ بیمـار بـا علایم گوارشی (درد معده، سـوء هاضـمه، ریفلاکـس و خونریزی از مدفوع) مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امام خمینی (ره)کرمانشاه در سال ۱۳۹۲ بنا بـه تشـخیص پزشـک متخصـص تحـت آندوسـکوپی قـرار گرفتند. بیمارانی که آنتی‌بیوتیک‌های خـاص، داروهـای حـاوی بیسـموت و امپـرازول مصـرف کـرده بودنـد از مطالعه حذف گردیدنـد. پـیش از انجـام آندوسـکوپی از بیمار رضایت‌نامه کتبی گرفته شد. از هـر بیمـار مبـتلا بـه بیماری گاستروودئودنال (بیمـاران مبـتلا بـه التهـاب معـده (گاستریت)، زخم‌های معـده و دوازدهـه، سوءهاضـمه و سـرطان معـده) دو جفـت نمونـه بیوپسـی از نـواحی کورپـوس و آنتـروم معـده جهـت تسـت اوره آز مـایع و کشت گرفته شد و بیمـاری هـر فـرد توسـط پزشـک بـر اساس نمای بالینی تشخیص داده شد. نمونه‌هـای بیوپسـی بر روی محیط کلمبیا آگار (مرک، آلمان) غنی شـده بـا تخم مرغ و دارای آنتی‌بیوتیک‌هـای مناسـب (۱۰ mg/L وانکومایسـین، ۵ mg/L تـری متـوپریم و ۱۰ mg/L آمفوتریسین) کشت داده شـدند. پلیـت‌هـای کشـت داده شده در شرایط میکروآئروفیل و رطوبت بالا و در دمـای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ تا ۵روز انکوبـه گردیـد. برای تعیین گونـه کلنـی‌هـای مشـکوک بـه *هلیکوباکتر پایلوری*، از آزمون‌های رنگ آمیزی گرم، تست اوره آز اکسیداز و کاتالاز اسـتفاده شـد. کلنـی‌هـای تاییـد شـده جمع‌آوری شدند و DNA آن‌ها با استفاده از کیت (سـینا کلون) طبق روش کار به شرح زیر استخراج گردید:

باکتری کشت داده شده بر روی محیط کلمبیا آگار دارای زرده تخم‌مرغ جمع‌آوری و با نرمال سالین شسـت و شو داده شد و سـانتریفیوژ گردیـد. در مراحـل بعـد بـه ترتیـب محلـول‌هـای Prelysis buffer، Ributinase، lysis buffer و precipitation solution به میکروتیـوپ حاوی نمونه افزوده و سانتریفیوژ گردید. از محلـول‌هـای Washing buffer1 و Washing buffer 2 بـــــرای شســـت و شـــو اســـتفاده شـــد. در پایـــان بـــا افـــزودن Elution buffer (EL) و قـرار دادن میکروتیـوب در بـن ماری ۶۵ درجه سانتی‌گـراد و انجـام سـانتریفیوژ، DNA استخراج گردید و تا زمان استفاده ازآن‌ها، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

جهت تایید گونه *هلیکوباکتر پایلوری* از PCR ژن *ureC* استفاده شد. نمونـه‌هـای تاییـد شـده جهـت تعیـین حضور ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* توسط پرایمرهای اختصاصی مورد بررسی قرار گرفتند و با نمونـه مثبـت از ژن‌هـایی کـه در آزمایشـگاه تعیـین سـکانس شـده بـود، مقایسه شد. لیسـت پرایمرهـای اسـتفاده شـده در جـدول شماره ۱ نمایش داده شده است.

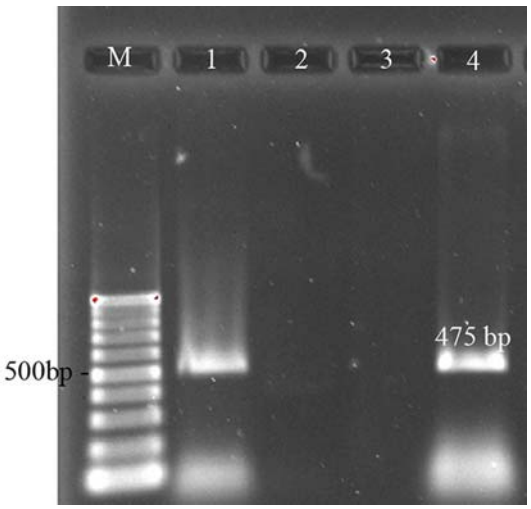
جدول شماره ۱: توالی پرایمرهای PCR برای ژن های *ureC*، *cagA*، *vacAs1* و *babA2*

ژن مورد بررسی	توالی پرایمر	اندازه محصولات(bp)	منابع
ureC	F: CATCGCCATCAAAAGCAAAG R: CAGAGTTTAAGGATCGTGTTAG	۲۱۴	۱۸
babA2	F: CAATTTAAAGGAGAAAACATGAAAAA R: CGTTCAAAGAACAAGTGATGG	۴۷۵	این مطالعه
cagA	F: GATAACAGGCAAGCTTTTGAGG R: CTGCAAAAGATTGTTTGGCAGA	۳۴۹	۱۹
vacAS1a	F: GTCAGCATCACACCGCAAC R: CTGCTTGAATGCGCCAAAC	۱۹۰	۱۹
vacAS1b	F: AGC GCC ATA CCG CAA GAG R: CTG CTT GAA TGC GCC AAA C	۱۸۷	۱۹

واکنش PCR در حجم کلی ۱۵ میکرولیتر انجام شده و شامل بافر 1X (۱۰ میلی‌مولار Tris-HCl، ۵۰ میلی‌مولار KCl و nonidet P40)، ۰/۲ میلی مولار 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 سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و ۳۵سیکل دمایی شامل: دناتوراسیون در ۹۴ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه با دمای آنیلینگ ۵۸، ۵۳ و ۵۳ به ترتیب برای ژن‌های *ureC*، *cagA* و *babA2*، اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و مرحله نهایی اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی گراد 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 داکیومنتیشن عکس برداری گردید. داده ها 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 $p < ۰/۰۵$ به عنوان رابطه معنی‌دار بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته ها

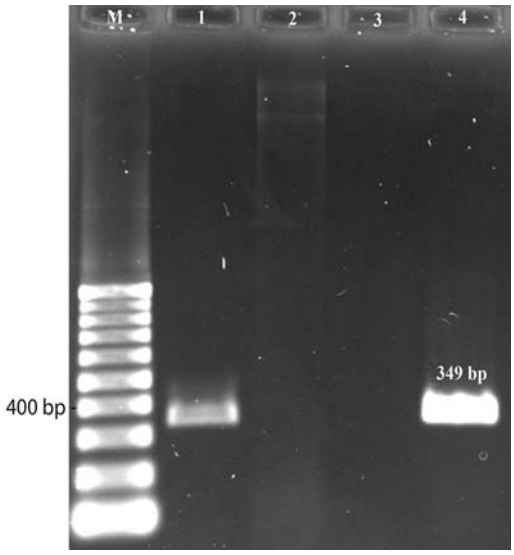
کلنی‌های مشکوک به باکتری *هلیکوباکتر پایلوری* با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی تعیین هویت شدند و ایزوله‌ها با استفاده از تکثیر ژن *ureC* به روش مولکولی تایید گردید. در مجموع ۷۲ ایزوله از بیماران جدا شد که شامل ۵۳ ایزوله از بیماران مبتلا به گاستریت و ۱۹ ایزوله از بیماران مبتلا به زخم پپتیک بود. از ۷۲ 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 ۶۲/۲درصد و ۲۱ درصد بود. بدین‌ترتیب ارتباط معنی‌داری میان جنسیت بیماران و گروه‌های بیماری وجود داشت ($p = ۰/۰۲$). اندازه محصول PCR برای ژن‌های *babA2*، *cagA* و *vacAs1* به ترتیب، ۴۷۵ جفت بازی (تصویرشماره ۱)، ۳۴۹ جفت‌بازی (تصویر شماره۲)، ۱۹۰ جفت‌بازی (تصویر شماره۳) بود. فراوانی کلی ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* به ترتیب ۸۹/۸ درصد، ۵۸/۳ درصد و ۶۳/۳ درصد بود. فروانی این ژن‌ها به تفکیک در بیماران مبتلا به گاستریت و زخم پپتیک در جدول شماره ۲ آمده است. بین ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* با گروه‌های بیماری گوارشی ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد اما بین ژن *vacAs1* با بیماری‌های گوارشی گاستریت و زخم پپتیک ارتباط معنی داری وجود داشت ($p = ۰/۰۳$). حضور همزمان *babA2* با ژن های *cagA* و *vacAs1* به ترتیب در ۶۵/۳ درصد و ۴۱/۳ درصد موارد بود که تنها حضور هم‌زمان *babA2* با *cagA* معنی‌دار به دست آمد ($p = ۰/۰۰۴$). فراوانی حضور همزمان ترکیب ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2*، ۴۳/۱ درصد بود. در این مطالعه فراوانی ترکیب ۳ تایی ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* در ایزوله‌های مبتلا به زخم پپتیک و گاستریت ۵۷/۹ درصد و ۳۷/۷ درصد به دست آمد.



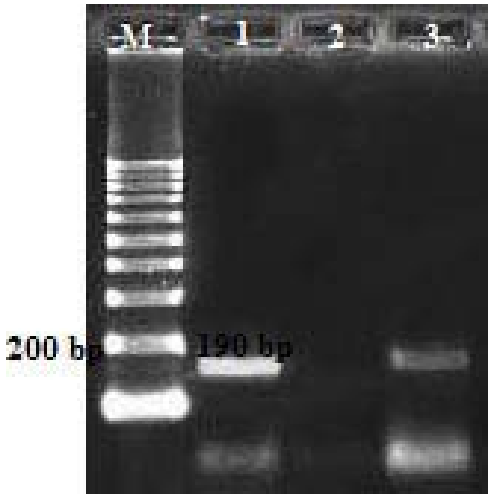
تصویر شماره ۱: الکتروفورز محصولات PCR ژن *babA2*. به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی چاهک۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه منفی ۴: نمونه مثبت

جدول شماره۲: فراوانی ژن های *babA2*، *cagA* و *vacAs1* و ترکیبات دو تایی و سه تایی آن ها در ایزوله های *هلیکوباکتر پایلوری* جداشده از بیماران

وضعیت بالینی	ژنوتیپ: تعداد (درصد)															
	babA2		*cagA*		*vacAs1*		*vacAs1 babA2*		*cagA babA2*		*vacAs1 babA2 cagA*	
	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)	مثبت تعداد(درصد)	منفی تعداد(درصد)
گاستریت	۳۷(۷۰)	۱۶(۳۰)	۴۸ (۹۰/۵)	۵(۹/۵)	۲۷ (۵۱)	۲۶ (۴۹)	۲۱ (۳۹/۶)	۳۲ (۶۰/۴)	۳۵ (۶۶)	۱۷ (۳۴)	۲۰ (۳۸)	۳۳ (۶۲)
زخم پپتیک	۱۲(۶۳/۲)	۷ (۳۶/۸)	۱۷(۸۹/۵)	۲(۱۰/۵)	۱۵ (۷۹)	۴ (۲۱)	۹ (۴۷/۴)	۱۰ (۵۲/۶)	۱۲ (۶۳/۲)	۷ (۳۶/۸)	۱۱ (۵۷/۹)	۸ (۳۱)
جمع	۴۹(۶۸)	۲۳(۳۲)	۶۵(۹۰/۳)	۷ (۹/۷)	۴۲ (۵۸)	۳۰ (۴۲)	۳۰ (۴۱/۷)	۴۲ (۵۸/۳)	۴۷ (۶۵/۳)	۲۵ (۳۴/۷)	۳۱ (۴۳/۱)	۴۱ (۶۶/۹)



تصویر شماره ۲: الکتروفورز محصولات PCR ژن*cagA*. به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی چاهک۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه منفی ۴:نمونه مثبت



تصویر شماره ۳: الکتروفورز محصولات PCR ژن *vacAs1*به ترتیب: چاهک M: مارکروزن مولکولی ۱۰۰ جفت بازی، چاهک۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳: نمونه مثبت

بحث

اگر چه *هلیکوباکتر پایلوری* یک عفونت جهانی است اما شیوع آن در نقاط مختلف جهان متفاوت است. در سال ۱۹۹۴ سازمان بین‌المللی تحقیقات سرطان (IARC) *هلیکوباکتر پایلوری* را جزء کلاس یک کارسینوژن‌ها معرفی کرد(۱۵) که فاکتور خطر مهمی برای سرطان معده می‌باشد. سرطان معده ۵/۵ درصد سرطان‌های شایع در جهان را تشکیل می‌دهد(۲۰). بیش‌تر افراد آلوده با عفونت *هلیکوباکتر پایلوری* علائم کلینیکی بیماری‌های دستگاه گوارش را نشان نمی‌دهند 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 پایلوری* آلودگی دارند(۶). *babA2* می‌تواند به گیرنده خود (Le^b) بر روی سطح سلول‌های اپی‌تلیال معده متصل گردد(۲۲). این چسبندگی سبب استقرار باکتری، برانگیختن پاسخ ایمنی و تهاجم فاکتورهای مهاجم دیگر چون CagA و VacA به سلول‌های میزبان می‌گردد و بنابر این سبب افزایش ویرولانس باکتری می‌شود(۲۳). بیماری‌های مرتبط با *هلیکوباکتر پایلوری* به فاکتورهای متعددی وابسته است. در برخی موارد چندین فاکتور همزمان حضور دارند و احتمالاً چندین فاکتور بیماری‌زایی با هم اثر هم‌افزایی دارند و باعث صدمه به میزبان می‌گردند. سویه‌های *هلیکوباکتر پایلوری* دارای ژن‌های *cagA* و *babA2* با بیماری زخم گوارشی و سرطان معده در ارتباط معنی‌دار هستند(۲۴). با توجه به این مساله و

گزارشات متفاوت در ارتباط با رابطه بین این ژنوتیپ‌ها و بیماری‌های کلینیکو درصد بالای عفونت *هلیکوباکتر پایلوری* در شهر کرمانشاه به نظر می‌رسد شناسایی دقیق تمام فاکتورهای بیماری‌زایی و اثرات هم‌افزایی آن ها 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 پایلوری* جداسازی شده در این منطقه می‌باشد. شیوع ژن *cagA* در سویه‌های بررسی شده در مطالعات مختلف از کشورهای دیگر و ایران ۵۵ تا۹۷/۴ درصد بوده است. در برخی از این مطالعات ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن *cagA* و بیماری‌های گاسترودئودنال 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 معنی دار 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 گاسترودئودنال مشاهده نشد(۳۰،۲۹) درحالی‌که 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(۳۳،۲۲،۱۴). بدین‌معنی که ایزوله‌های *babA2* مثبت نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها، بیش‌تر با *cagA* و *vacAs1* در ارتباط هستند و بیمارانی که به وسیله سویه‌های دوگانه مثبت آن‌ها کلونیزه شده‌اند، در معرض خطر بیش‌تری برای ابتلا به بیماری‌های گاسترودئودنال قرار می‌گیرند(۳۵،۳۴). هر چند در مطالعه حاضر وچند مطالعه دیگر بین ژن‌های *cagA* و *babA2* ارتباط معنی‌دار به دست نیامد اما نمی‌توان فراوانی بالای آن را در ایزوله‌های جداشده از زخم پپتیک (به ترتیب ۸۹/۵ درصد و ۶۳/۲ درصد) نادیده گرفت(۳۵،۱۷،۱۶).

شیوع ترکیب ۳ تایی ژن‌های *cagA*، *vacAs1* و *babA2* بیش از ۴۳درصد بود وحضور آن‌ها در ایزوله‌های مبتلا به زخم پپتیک و گاستریت به ترتیب ۵۷/۹ درصد و ۳۷/۷درصد 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 بیش تر بوده است(۳۰). هر چند که در بعضی مطالعات بین ترکیب سه تایی ژن‌های *babA2*، *cagA* و *vacAs1* و بیماری‌های مختلف ناشی از *هلیکوباکتر پایلوری* 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 گاسترودئودنال ارتباط مشاهده نشد. با این که در بیش‌تر مطالعات احتمال حضور هم‌زمان *babA2*، با ژن‌های *cagA* و *vacAs*۱ 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 ویرولانس باکتری و تعیین ارتباط آن با بیماری می‌تواند در انتخاب نوع و روند درمان موثر باشد و بهتر است در مطالعات بعدی سایر فاکتورهای ویرولانس 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 پژاوند به خاطر کمک‌های ایشان در انجام کارهای آزمایشگاهی تشکر و قدردانی می‌شود.

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, Koksal 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, MillerGG, et al. Helicobacter pylori cagA+ strains and dissociation of gastric epithelial cell proliferation from apoptosis. J Natl CancerInst 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 alelles 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 bab A2 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.