Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

دانشور پزشکی

دوماهنامه علمی–پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال بیستم– شماره ۱۰۴
اردیبهشت ۱۳۹۲

بررسی شیوع VacA و CagA در بیماران مبتلا به اولسر پپتیک

نویسندگان: زهره خدایی[۱]، اکرم سادات طباطبایی‌پناه[۲]، سید محمدحسین قادریان[*۱]، رضا اکبرزاده نجار[۱]

۱. استادیار- گروه ژنتیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، تهران، ایران

۲. استادیار- باشگاه پژوهشگران جوان، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شرق، تهران، ایران

* نویسنده مسئول: سید محمدحسین قادریان E-mail: sghaderian@yahoo.co.uk

دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۷
آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۲/۱/۳۰
پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱

چکیده

مقدمه و هدف: آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری (H.pylori) یکی از شایع‌ترین عفونت‌های گوارشی در جهان به‌شمارمی‌رود که می‌تواند باعث موارد پاتولوژیکی متفاوت، افزایش استرس اکسیداتیو و درنتیجه، پاسخ‌های التهابی در مخاط معده شود. تشخیص بیماری‌زایی H.pylori به دلیل تخمین خطر علائم بالینی، بسیار اهمیت‌دارد. هدف از این مطالعه، بررسی شیوع ژن‌های cagA و vacA در عفونت H.pylori در بیماران با علائم بالینی متفاوت بود.

مواد و روش‌ها: بیماران H.pylori مثبت شامل بیماران اولسر پپتیک (PUD) و غیراولسر پپتیک (NUD)، برای آزمایش‌های بعدی شامل واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تعیین حضور ژن cagA و الل‌های vacA، آزمون وسترن بلاتینگ برای ردیابی آنتی‌بادی‌های IgG ضد پروتئین‌های VacA و CagA مورد استفاده قرارگرفتند.

نتایج: زمانی که هر دو تست اوره‌آز و کشت باکتریایی به‌ترتیب نتایج مثبت و منفی داشتند، نمونه‌ها به‌عنوان H.pylori مثبت ثبت‌شدند. الل‌های غالب vacA، s1 و m2 بودند. ارتباط معنی‌داری میان شیوع آنتی‌بادی‌ها ضد آنتی‌ژن‌های VacA و CagA یا حالات vacA و cagA و نتایج بالینی وجودنداشت.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه سویه‌های cagA مثبت غالب بوده، هرچند ارتباطی میان vacA و cagA با علائم بالینی و با پیشرفت PUD دیده‌نشد؛ به‌علاوه، آزمایش‌های سرولوژیکی مانند وسترن بلاتینگ در تشخیص افراد آلوده‌شده با سویه‌های H.pylori در PUD و NUD می‌تواند مفید باشد.

واژگان کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، cagA، vacA، بیماری اولسر پپتیک

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

مقدمه

H.pylori، یک باکتری گرم منفی معده است که به‌عنوان یک پاتوژن اختصاصی معده انسان شناخته‌شده، باعث التهاب طولانی شامل فیلتراسیون داخل غده‌ای در مخاط معده به‌وسیله نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلاسما سل‌ها می‌شود. مطالعات نشان‌می‌دهند H.pylori، دلیل اصلی گاستریتیس فعال مزمن و PUD بوده و با سرطان معده مرتبط است(۱و۲). تشخیص بالینی آلودگی H.pylori می‌تواند مشکل باشد، به دلیل اینکه بیشتر افراد دارای آلودگی بدون نشانه هستند یا یافته‌های اندوسکوپی خاصی ندارند؛ به‌علاوه، به دلیل نتایج متغیر اوره‌آز یا آزمایش‌های ایمونولوژیکی، هیستولوژیکی و مولکولی می‌تواند به‌عنوان روش تشخیصی قابل‌اطمینان عفونت‌های H.pylori استفاده شود.

عفونت H.pylori می‌تواند دلیل بیماری معده باشد که باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی در میزبان می‌شوند. محصولات باکتریایی یا گونه اکسیژن فعال[1](ROS) باعث آسیب DNA می‌شود که با ساختارهای سرطان‌زای میانجی‌گری شده با التهاب مرتبط است (۳). جهش‌ها در ژن‌های کلیدی، ناهنجاری‌های کروموزومی و نقص ترمیم DNA می‌توانند به دلیل ژنوتوکسیسیته و پاسخ‌های سلولی که ممکن است مرحله‌ای ابتدایی در سرطان‌زایی باشند، رخ‌دهند. مطالعه آسیب DNA در سلول‌های اپیتلیال معده انسان در بیماران آلوده‌شده با H.pylori می‌تواند به درک دقیق‌تر و بررسی فاکتورهای خطر بیماری‌زای باکتریایی کمک‌کند که باعث دست‌یافتن به راهکارهای محافظتی و درمانی مناسب می‌شود (٤).

به‌علاوه، مطالعات گوناگون نشان‌می‌دهند که سم سلولی ایجادکننده واکوئل[2] (VacA) ممکن است باعث القای آپوپتوزیس سلول اپیتلیال معده شود؛ این مطالعات مطرح‌می‌کنند که مجموعه‌های متنوع از فاکتورهای بیماری‌زا در سوش‌های H.pylori، مسئول نوع بیماری ایجادشده هستند. فاکتورهای بیماری‌زا مانند پروتئین مربوط به سم سلولی۳ (CagA) و VacA شناخته‌شده‌اند(۵و٦). همه سوش‌های H.pylori، ژن vacA دارند اما توالی و سطح بیان این ژن بسیار متفاوت است و cagA در تمام سوش‌ها وجود ندارد و می‌تواند به‌عنوان یک مشخصه برای تشخیص بیماری‌زایی H.pylori استفاده‌شود (۷).

در این مطالعه، تعیین فرکانس مثبت‌بودن CagA و VacA و بررسی ژن cagA و الل‌های vacA در بیماران مبتلا به PUD و افراد NUD انجام‌شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

۱۵۷ بیمار مبتلا به PUD و NUD (۹۹ مرد، سن ۸/۲± ٤۱/۸ سال و ۵۸ زن، سن ٦/٤± ٤۰/٤ سال، گستره ۲۵ تا ٦٤ سال) مورد مطالعه قرارگرفتند. از ۱۷۱ بیمار غربال‌شده، ١٦٤ نفر، متعاقب آن ثبت‌نام‌شدند؛ ۲ بیمار از ثبت‌نام در این مطالعه انصراف‌دادند و ۲ بیمار به دلیل فقدان اطلاعات آماری از مطالعه کنارگذاشته‌شدند؛ ۳ بیمار هم پردازش نامناسب نمونه‌های آزمایشگاهی اولیه داشتند و از مطالعه خارج شدند. اطلاعات برگه‌ها و نحوه و علت استفاده از نمونه‌های افراد بیمار و سالم تأییدشد؛ همچنین کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، بر نمونه‌گیری، برگه اطلاعات و روش‌های انجام‌شده نظارت‌داشت.

[1]. Reactive oxygen species
[2]. H.pylori vacuolating cytotoxin
[3]. Cytotoxin-associated protein

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

تشخیص H.pylori

به‌وسیله آزمایش اوره آز سریع یا کشت باکتریایی، حضور H.pylori در بیوپسی تأییدشد. بیماران در صورت مثبت‌بودن آزمایش اوره‌آز و کشت باکتریایی‌شان، به‌عنوان H.pylori مثبت تعیین‌شدند.

وسترن بلاتینگ

آنتی‌بادی‌های IgG، ضد CagA و VacA در تمام نمونه‌های H.pylori مثبت با روش وسترن بلاتینگ ردیابی‌شدند؛ این ارزیابی با استفاده از کیت وسترن بلاتینگ(Euroimmun, Lübeck, Germany) انجام‌گرفت (۸).

استخراج DNA ژنومی و PCR

نمونه‌های H.pylori از بیماران جدا و PCR با DNA استخراج‌شده از نمونه‌های بیوپسی با استفاده از کیت PCR (Qiagen, Hilden, Germany) انجام‌شد. حضور ژن cagA و الل‌های vacA شامل منطقه s (s1 یاs2) و منطقه m (m1 یاm2) طبق مقالات منتشرشده، انجام‌گرفت(۹و۱۰).

ارزیابی آماری

تمام داده‌ها به‌صورت میانگین ±SEM بیان‌شدند. مربع کای (χ^2) و آزمایش Fisher's exact برای ارزیابی داده‌های متغیر گروهی و مقایسه تفاوت‌ها در شیوع ژنوتیپ‌های H.pylori استفاده‌شدند. ارزیابی آماری توسط SPSS نسخه۱۶، برنامه نرم‌افزار آماری و ANOVA برای سایر داده‌ها انجام‌شد. P value کمتر از ۰/۰۵، از لحاظ آماری معنی‌دار درنظرگرفته‌شد.

نتایج

برای انتخاب H.pylori مثبت، ۱۵۷ بیمار در این مطالعه ثبت‌نام‌شدند که خصوصیات آماری آنها در جدول۱ خلاصه شده‌است؛ از این ۱۵۷ بیمار، ٤٧ بیمار مبتلا به اولسر دئودنتال[1] (DU)، ٣٦ بیمار مبتلا به اولسر گاستریک[2] (GU)، ۳۵ بیمار مبتلا به گاستریتیس و ۳۹ نفر، NUD بودند. هنگامی که آزمایش اوره‌آز یا کشت باکتریایی نتایج مثبت و منفی دادند، بیوپسی‌ها به‌ترتیب به‌عنوان H.pylori مثبت و H.pylori منفی درنظرگرفته‌شدند. از ۱۵۷ بیمار، تنها ۱۷ بیمار (۱۰/۸ درصد)، H.pylori منفی بوده، ۱٤۰ نفر (۸۹/۲ درصد)، H.pylori مثبت بودند (Fisher's exact test , P=1). بیوپسی‌های H.pylori مثبت شامل ٤٣ نفر (۹۱/۵ درصد) از ٤٧ بیمار مبتلا به DU، ۳۰ نفر (۸۳/۳ درصد) از ٣٦ بیمار مبتلا به GU، ۳۲ نفر (۹۱/٤ درصد) از ۳۵ بیمار مبتلا به گاستریتیس و ۳۵ (۸۹/۸ درصد) از ۳۷ نفر قرارگرفته در NUD بودند.

حضور ژن cagA و الل‌های vacA به‌وسیله PCR در ۱٤۰ بیمار H.pylori مثبت تعیین‌شد که در جدول ۲ خلاصه شده و در شکل ۱a-c و شکل ۲ نشان‌داده‌شده‌اند؛ درکل، ژن cagA در ۸۱/٤ درصد، ۷۰ درصد، ٥٦/۳ درصد و ٦٨/٦ درصد به‌ترتیب در بیماران مبتلا به DU، GU، گاستریتیس و NUD حضورداشت ($\chi^2 = 5.57$, $P = 0.134$). در ژنوتیپ منطقه vacA s (s1 یاs2)، شیوع تنوع اللی s1 در جمعیت بیشتر بود (69.3%, $\chi^2 = 6.09$, $P = 0.107$) درحالی‌که ژنوتیپ منطقه vacA m، vacA m2 بیشتر بود (67.8%, $\chi^2 = 10.36$, $P = 0.016$)؛ درمجموع، s1m2 در سوش‌های جداشده از همه بیماران مبتلا به PUD، بیشترین بود ($\chi^2 = 0.37$, $P = 0.945$). هیچ تفاوت معنی‌داری میان ژن cagA و حالت ژنوتیپ‌های vacA با توجه به نتایج بالینی وجودنداشت.

سپس به‌وسیله روش وسترن بلاتینگ، حضور آنتی‌بادی‌های سرم ضد VacA و CagA با استفاده از سرم‌های H.pylori مثبت تعیین‌شد. تعیین کیفی آنتی‌بادی‌های IgG ضد CagA (۱۲۰ کیلودالتون) و VacA (۹۵ کیلودالتون) در مطالعه حاضر با استفاده از کیت تجاری وسترن بلاتینگ انجام‌گرفت که درصد واکنشگری سرمی به آنتی‌ژن‌های CagA و VacA در بیماران مختلف مبتلا به PUD و افراد NUD در جدول ۳ و شکل ۳ خلاصه شده‌اند. درصد IgG ضد CagA در نتایج بالینی متفاوت، ۲۹ از ٤۳ (٦٧/٤ درصد)،۱۷ از ۳۰ (٥٦/٦ درصد)، ۱۵ از ۳۲ (٤٦/۸ درصد) و ۲۱ از ۳۵

[1]. Duodenal ulcer
[2]. Gastric ulcer

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

(۶۰ درصد) به‌ترتیب در DU، GU، گاستریتیس و NUD بود ($\chi^2 = 3.27, P = 0.351$). درصد IgG ضد VacA ، ۱۸ از ۴۳ (۴۱/۸ درصد)، ۸ از ۳۰ (۲۶/۶ درصد)، ۱۱ از ۳۲ (۴۳/۳ درصد) و ۱۹ از ۳۵ (۵۴/۲ درصد) در GU، گاستریتیس و NUD بود ($\chi^2 = 5.68, P = 0.128$)؛ همچنین هیچ تفاوت معنی‌داری در واکنشگری سرمی فاکتورهای بیماری‌زای CagA و VacA میان تمام نتایج بالینی وجودنداشت.

جدول ۱. خصوصیات آماری افراد DU، GU ، گاستریتیس و NUD

گروه/ n[a] (٪)	جنسیت (مرد/زن) n (٪)	سن (سال)/مرد/زن
اولسر دئودنتال (DU)/۴۷ (۳۰)	۲۶ (۵۵/۳) / ۲۱ (۴۴/۷)	۴۲/۱±۶/۶ / ۴۲/۶±۷/۴
اولسر گاستریک (GU)/۳۶ (۲۳)	۲۳ (۶۳/۹) / ۱۳ (۳۶/۱)	۴۰/۹±۴/۸ / ۳۷/۸±۷/۶
گاستریتیس/۳۵ (۲۲/۲)	۲۴ (۶۸/۶) / ۱۱ (۳۱/۴)	۳۵/۸±۸/۶ / ۴۷/۷±۵/۹
غیراولسر پپتیک (NUD)/۳۹ (۲۴/۸)	۲۶ (۶۶/۷) / ۱۳ (۳۳/۳)	۴۱/۷±۴/۷ / ۳۹/۳±۸/۳
مجموع/۱۵۷ (۱۰۰)	۹۹ (۶۳) / ۵۸ (۳۷)	۴۰/۴±۶/۴ / ۴۱/۸±۸/۲

n : تعداد

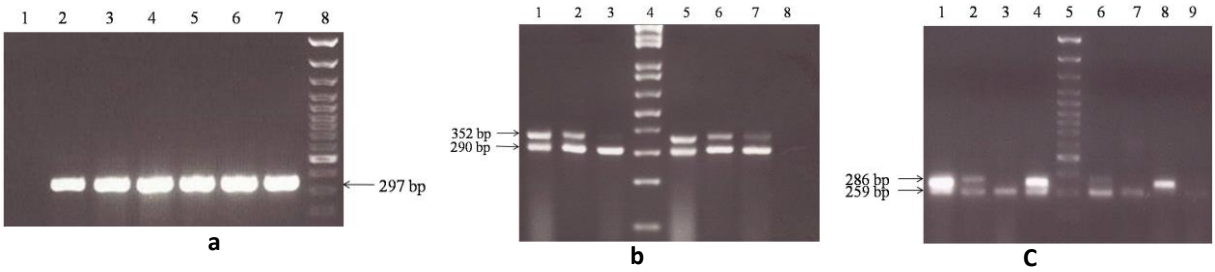
جدول ۲. حالات ژن *cagA* و الل های *H.pylori vacA* در بیماران مبتلا به DU، GU ، گاستریتیس وNUD

ژنوتایپ / گروه		اولسر دئودنتال (DU) (٪) n	اولسر گاستریک (GU) (٪) n	گاستریتیس (٪) n	غیراولسر پپتیک (NUD)(٪) n	مجموع (گروه) (٪) n	P value*
H. pylori–*مثبت*		(۹۱/۵) ۴۳	(۸۳/۳) ۳۰	(۹۱/۴) ۳۲	(۸۹/۸) ۳۵	(۸۹/۲) ۱۴۰	۱
H.pylori–*منفی*		(۸/۵) ۴	(۱۶/۷) ۶	(۸/۶) ۳	(۱۰/۲) ۴	(۱۰/۸) ۱۷	
cagA–*مثبت*		(۸۱/۴) ۳۵	(۷۰) ۲۱	(۵۶/۳) ۱۸	(۶۸/۶) ۲۴	(۷۰) ۹۸	۰/۱۳۴
cagA–*منفی*		(۱۸/۶) ۸	(۳۰) ۹	(۴۳/۷) ۱۴	(۳۱/۴) ۱۱	(۳۰) ۴۲	
vacA	s1	(۸۱/۴) ۳۵	(۷۳/۴) ۲۲	(۵۹/۴) ۱۹	(۶۰) ۲۱	(۶۹/۳) ۹۷	۰/۱۰۷
	s2	(۱۸/۶) ۸	(۲۶/۶) ۸	(۴۰/۶) ۱۳	(۴۰) ۱۴	(۳۰/۷) ۴۳	
	m1	(۴۶/۶) ۲۰	(۴۰) ۱۲	(۱۵/۷) ۷	(۲۲/۹) ۸	(۳۳/۶) ۴۷	۰/۰۵۶
	m2	(۵۳/۴) ۲۳	(۶۰) ۱۸	(۸۱/۳) ۲۵	(۷۷/۱) ۲۷	(۶۶/۴) ۹۳	
	s1 m1	(۲۵/۶) ۱۱	(۱۶/۷) ۵	(۱۵/۶) ۵	(۲۲/۸) ۸	(۲۰/۷) ۲۹	۰/۹۴۵
	s1 m2	(۵۱/۲) ۲۲	(۵۰) ۱۵	(۳۷/۵) ۱۲	(۴۲/۹) ۱۵	(۴۵/۸) ۶۴	
	s2 m1	(۹/۲) ۴	(۶/۶) ۲	(۱۵/۶) ۵	(۸/۶) ۳	(۱۰) ۱۴	
	s2 m2	(۱۴) ۶	(۲۶/۷) ۸	(۳۱/۳) ۱۰	(۲۵/۷) ۹	(۲۳/۵) ۳۳	

P value به‌وسیله مقایسه علائم بالینی متفاوت (اولسر دئودنتال، اولسر گاستریک، گاستریتیس و غیراولسر پپتیک) با توجه به ژنوتایپ H. pylori محاسبه‌شده‌است.

n: تعداد، cagA: پروتئین مربوط به سایتوتوکسین، vacA: سم سلولی ایجادکننده واکوئل

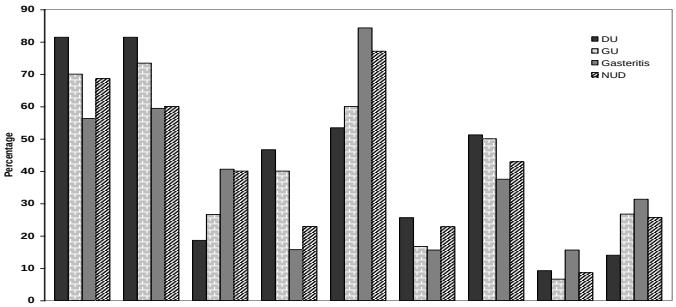
Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017



شکل a-۱. تشخیص ژن cagA توسط PCR. Lane 1 : کنترل منفی، Lane 2-7 :نمونه‌های مثبت cagA (297 bp)، Lane 8 : مارکر 100 bp

b. تشخیص الل‌های s1 و vacA s2 توسط PCR. Lane 1, 2, 4, 6 and 8 : نمونه‌های الل s1s2 (به‌ترتیب 259 و 286 bp)، Lane 3 and 7 : نمونه‌های الل s1 (259 bp)، Lane 5 : مارکر 100 bp ، Lane 9 : کنترل منفی

c. تشخیص الل‌های m1 و vacA m2 توسط PCR. Lane 1, 2, 3,5, 6 and 7 : نمونه‌های الل m1m2 (به‌ترتیب 290 و 352 bp)، Lane 4 : مارکر 100 bp ، Lane 8 : کنترل منفی



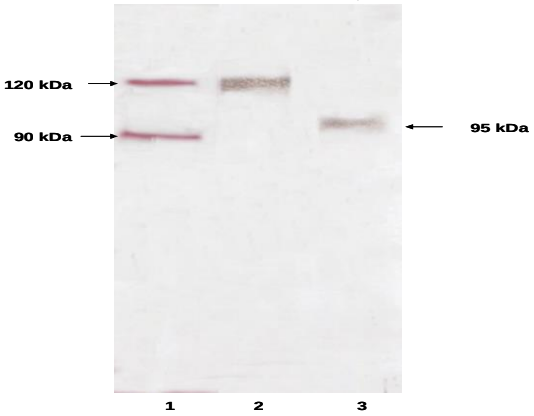
شکل ۲. چارت حالات cagA و الل‌های H.pylori vacA در بیماران مبتلا به DU، GU ، گاستریتیس وNUD

جدول ۳. درصد anti-CagA IgG و anti-VacA IgG تعیین‌شده با روش وسترن بلاتینگ در بیماران مبتلا به DU، GU ، گاستریتیس وNUD

گروه / آنتی‌بادی	اولسر دئودنتال(DU)	اولسر گاستریک (GU)	گاستریتیس	غیراولسر پپتیک (NUD)	P value*
Anti-CagA IgG	۲۹ (۶۷/۴)	۱۷ (۵۶/۶)	۱۵ (۴۶/۸)	۲۱ (۶۰)	۰/۳۵۱
Anti-VacA IgG	۱۸ (۴۱/۸)	۸ (۲۶/۶)	۱۱ (۳۴/۳)	۱۹ (۵۴/۲)	۰/۱۲۸

P value به‌وسیله مقایسه علائم بالینی متفاوت (اولسر دئودنتال، اولسر گاستریک، گاستریتیس و غیراولسر پپتیک) با توجه به ژنوتایپ H. pylori محاسبه‌شده‌است.

n : تعداد، cagA : پروتئین مربوط به سایتوتوکسین، vacA : سم سلولی ایجادکننده واکوئل



شکل ۳. تشخیص آنتی‌بادی‌های IgG ضد CagA و VacA توسط ارزیابی وسترن بلاتینگ. Lane 1 : مارکر، Lane 2: CagA IgG positive (120 kDa)، Lane 3 : VacA IgG positive (95 kDa).

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

بحث

H.pylori یک فاکتور بیماری‌زای مهم در انسان است که اغلب، باعث التهاب فعال مزمن و القای آسیب مخاط معده و تغییر شکل بافت پوششی می‌شود؛ H.pylori همچنین باعث پیشرفت سرطان معده، PUD یا گاستریتیس مزمن می‌شود (۱۱)، اما تمام بیماران آلوده به چنین بیماری‌هایی مبتلا نمی‌شوند. بیشتر از نصف جمعیت جهان به شکل مزمن با این باکتری بدون هیچ علائمی آلوده شده‌اند و تنوع‌هایی مهم در شیوع H.pylori میان کشورهای مختلف وجوددارد. ژنتیک، بیماری‌زایی سوش‌های باکتریایی و فاکتورهای محیطی، نقش‌هایی مهم در آسیب‌شناسی بیماری‌های مربوط به H.pylori ایفامی‌کنند و با توجه به این مسئله، تشخیص مناسب عفونت H.pylori در بیمارانی با این عفونت بسیار بااهمیت است.

H.pylori نوع I، CagA و VacA را تولیدمی‌کند که فاکتورهای بیماری‌زای مهم H.pylori بوده که در بیماری‌زایی بیماری H.pylori دخیل است، درحالی‌که نوعII، این‌گونه نیستند. گوناگونی سوش‌های H.pylori که مسئول تنوع‌های اللی مختلف هستند، احتمال تنوع آنتی‌ژنی را در میان پروتئین‌های VacA از سوش‌های مختلف مطرح‌می‌کند. برخی از مطالعات درخصوص عملکرد VacA گزارش‌کرده‌اند، VacA در بیماری‌زایی H.pylori در گاستریتیس و PUD دخیل‌اند (۱۲).

CagA، محصولی از ژن cagA و به‌عنوان یک فاکتور بیماری‌زای مهم H.pylori، با خطر پیشرفت بیماری‌های مختلف مربوط به H.pylori، درنظرگرفته‌شود. سوش‌های CagA مثبت، در القای فراوان پاسخ‌های التهابی موضعی سهیم هستند؛ این پروتئین، نقشی مهم در پیشرفت PUD و سرطان معده ایفامی‌کند (۱۵). توزیعی متفاوت از ژن cagA در سوش‌های H.pylori در نقاط مختلف دنیا وجوددارد (۱۳). شواهد نشان‌داده‌اند که ژن cagA در ۵۰ تا ۷۰ درصد از سوش‌های H.pylori در کشورهای غربی وجوددارد، درحالی‌که این ژن در بیشتر از ۹۰ درصد سوش‌های جمعیت‌های شرقی حاضر است (۱٤). در این مطالعه، بیشتر از ۷۰ درصد از بیماران آلوده، با سوش‌های cagA مثبت تشخیص‌داده‌شدند که با برخی از گزارش‌ها از ایران مشابه است (۹و۱۵)؛ اما با گزارش‌های آسیای شرقی و جنوبی (که حضور cagA و ارتباط آن با نتایج بالینی بیشتر از ۹۰ درصد است)، تفاوت‌دارد (۱۰و۱٦). تحقیق‌ها نشان‌داده‌اند که شیوع سوش cagA مثبت در آمریکا و اروپا بین ٦۰ تا ۷۰ درصد است (۱۷) که نتایج این مطالعه، بیشتر به نتایج این کشورها شبیه است و مشابه بخش‌های مختلف آسیا نیست. هرچند، ارتباطی میان حضور ژن cagA و نتایج بالینی در مطالعات گوناگون در آسیا وجودندارد و آنها نتیجه‌گیری‌کرده‌اند که شیوع این آنتی‌ژن در پیش‌بینی نتایج بالینی در بسیاری از کشورهای آسیایی، مفید نیست (۱۸و۱۹).

VacA، سمی که سوش‌های H.pylori مختلف ترشح‌می‌کنند، in vitro باعث ایجاد واکوئل سیتوپلاسمی در رده سلول‌های پستانداران می‌شود (۲۰) vitro و با بلوغ طبیعی و عبور آنزیم‌های لیزوزومی، ارائه آنتی‌ژن‌های منقطع‌شده توسط سلول‌های T و افزایش نفوذپذیری تک‌لایه‌های سلول‌های پوششی پولاریزه‌شده دخالت‌دارد. پیش‌توکسین VacA که به شکل یک پروتئین۱٤۰ کیلودالتونی منتقل‌می‌شود، تحت پردازش پروتئولیتیکی قرارمی‌گیرد و یک توکسین پردازش‌یافته ۹۰ کیلودالتونی را ایجادمی‌کند (۲۰). در این مطالعه، غالب‌بودن ژنوتیپ‌های s1 و vacA s1m2 در همه نتایج بالینی بیماران نشان‌داده‌شده که با نتایج سایر مطالعات از ایران که نشان‌داده‌اند الل s1 با PUD شامل DU و GU مربوط است و هم اینکه سوش s1m2، ژنوتیپ غالب در میان بیماران ایرانی آلوده است، توافق‌دارد (۹و ۲۱ تا ۲۳)؛ به‌طور مشابه، نشان‌داده‌شد که ژنوتیپ s1m2 در کشورهای ترک زبان و غربی غالب است(۲٤)؛ هرچند، ژنوتیپ s1m1 در نژادهای افغانی و هندی غالب‌تر است(۲۵).

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

در مطالعه حاضر، هیچ تفاوت معنی‌داری در مثبت-بودن سرمی CagA و VacA میان بیماران مبتلا به PUD و افراد NUD وجودنداشت (۲۶).

عفونت H.pylori باعث التهاب معده و القای پاسخ‌های ایمنی میزبان به ارگانیسم شده، التهاب مزمن با فیلتراسیون سلول‌های التهابی (لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها/مونوسیت‌ها، پلاسماسل‌ها و ائوزینوفیل‌های برانگیخته‌شده) را در مخاط معده انسان باعث می‌شود. شکل‌گیری رادیکال‌های آزاد اکسیژن از نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها/ مونوسیت‌ها باعث آسیب DNA سلول‌های مجاور می‌شود (۲۷). آسیب DNA نقشی محوری در بیماری‌زایی منجر به تغییرهای ژن که بالقوه جهش‌زا یا سرطان‌زا هستند، ایفامی‌کند.

یافته‌های این مطالعه نشان‌می‌دهند که هیچ ارتباطی میان cagA و حالت vacA و نتایج بالینی مختلف شامل DU، GU، گاستریتیس و NUD در بیماران وجودنداشته؛ همچنین، شیوع آنتی‌بادی‌ها ضد CagA و VacA از لحاظ آماری معنی‌دار نبوده‌است.

درنتیجه، نتایج این مطالعه بیان‌می‌کنند که سوش‌های cagA مثبت، vacA s1 و vacA s1m2 در بیماران، غالب هستند؛ هرچند، هیچ ارتباطی میان حالت cagA و vacA با نتایج بالینی یافت‌نشد؛ به‌علاوه، آزمایش‌های سرولوژیکی مانند وسترن بلاتینگ در تشخیص افراد آلوده‌شده با سوش‌های H.pylori در PUD و NUD مفیدند. محدودیت اصلی این مطالعه، عدم بررسی ارتباط بیماری اولسر پپتیک با جنسیت افراد بود. تعداد نمونه‌های مورد استفاده در این مطالعه به‌رغم کمبود و مشکل‌بودن جمع‌آوری نمونه این بیماری، تعداد قابل-قبولی بود، هرچند که مطالعات بیشتری با تعداد نمونه-هایی گسترده‌تر لازم است تا این موارد به‌صورتی کامل‌تر بررسی‌شدند.

تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر *اذن‌الله آذرگشب* برای حمایت در بخش آماری این مطالعه قدردانی‌می‌شود.

منابع

1. Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, et al. Expanding allelic diversity of Helicobacter pylori vacA. J Clin Microbiol. 1998;36:2597-2603
2. Blaser MJ.Role of vacA and the cagA locus of Helicobacter pylori in human disease. Aliment Pharmacol Ther 10 Suppl .1996;1:73-77.
3. Hussain SP, Hofseth LJ, Harris CC. Radical causes of cancer. Nat Rev Cancer .2003;3:276-285.
4. Everett SM, White KL, Schorah CJ, et al. In vivo DNA damage in gastric epithelial cells. Mutat Res. 2000;468:73-85.
5. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev .1997;10:720-741.
6. Cover TL, Dooley CP, Blaser MJ. Characterization of and human serologic response to proteins in Helicobacter pylori broth culture supernatants with vacuolizing cytotoxin activity. Infect Immun .1990; 58:603-610.
7. Atherton JC . H. pylori virulence factors. Br Med Bull. 1998;54:105-120.
8. Erzin Y, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, Dirican A, Tuncer M, Kocazeybek B . Analysis of serum antibody profile against H pylori VacA and CagA antigens in Turkish patients with duodenal ulcer. World J Gastroenterol .2006;12:6869-6873.
9. Dabiri H, Maleknejad P, Yamaoka Y, Feizabadi MM, Jafari F, Rezadehbashi M, Nakhjavani FA, Mirsalehian A, Zali MR . Distribution of Helicobacter pylori cagA, cagE, oipA and vacA in different major ethnic groups in Tehran, Iran. J Gastroenterol Hepatol .2009;24:1380-1386.
10. Tan HJ, Rizal AM, Rosmadi MY, Goh KL . Distribution of Helicobacter pylori cagA, cagE and vacA in different ethnic groups in Kuala Lumpur, Malaysia. J Gastroenterol and Hepatol .2005;20:589-594.
11. Leunk RD . Production of a cytotoxin by Helicobacter pylori. Rev Infect Dis 13 Suppl. 19918:S686-689
12. Khanzode SS, Khanzode SD, Dakhale GN. Serum and plasma concentration of oxidant and antioxidants in patients of Helicobacter

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

pylori gastritis and its correlation with gastric cancer. Cancer Lett .2003;95:27-31.

13. Peek RM, Jr. Intoxicated cells and stomach ulcers. Nat Genet. 2003; 33:328-330.
14. Bolek BK, Salih BA, Sander E. Genotyping of Helicobacter pylori strains from gastric biopsies by multiplex polymerase chain reaction. How advantageous is it? Diagn Microbiol Infect Dis .2007;58:67-70.
15. Jafarzadeh A, Rezayati MT, Nemati M . Specific serum immunoglobulin G to H pylori and CagA in healthy children and adults (south-east of Iran). World J Gastroenterol. 2007;13:3117-3121.
16. Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P, Sangchan A, Sripa B, Tor-Udom S, Vilaichone RK . Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. Int J Infect Dis. 2008;12:30-36.
17. Miehlke S, Kirsch C, Agha-Amiri K, Gunther T, Lehn N, Malfertheiner P, Stolte M, Ehninger G, Bayerdorffer E. The Helicobacter pylori vacA s1, m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in Germany. Int J Cancer. 2000; 87:322-327.
18. Kuo CH, Wu DC, Lu CY, Su YC, Yu FJ, Lee YC, Wu IC, Lin SR, Liu CS, Jan CM, Wang WM . Low molecular weight protein of Helicobacter pylori and its relation to gastroduodenal diseases. Hepatogastroenterology.2003;50:897-901.
19. Qiao W, Hu JL, Xiao B, Wu KC, Peng DR, Atherton JC, Xue H . cagA and vacA genotype of Helicobacter pylori associated with gastric diseases in Xi'an area. World J Gastroenterol .2003;9: 1762-1766.
20. Cover TL, Tummuru MK, Cao P, Thompson SA, Blaser MJ. Divergence of genetic sequences for the vacuolating cytotoxin among Helicobacter pylori strains. J Biol Chem.1994; 269:10566-10573.
21. Siavoshi F, Malekzadeh R, Daneshmand M, Ashktorab H. Helicobacter pylori endemic and gastric disease. Dig Dis Sci. 2005;50:2075-2080.
22. Hussein NR, Mohammadi M, Talebkhan Y, Doraghi M, Letley DP, Muhammad MK, Argent RH, Atherton JC. Differences in virulence markers between Helicobacter pylori strains from Iraq and those from Iran: potential importance of regional differences in H. pylori-associated disease. J Clin Microbiol .2008; 46:1774-1779.
23. Talebkhan Y, Mohammadi M, Mohagheghi MA, Vaziri HR, Eshagh Hosseini M, Mohajerani N, Oghalaei A, Esmaeili M, Zamaninia L. cagA gene and protein status among Iranian Helicobacter pylori strains. Dig Dis Sci .2007;53:925-932.
24. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of Helicobacter pylori genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. J Clin Microbiol .2004; 42:1648-1651.
25. Chattopadhyay S, Datta S, Chowdhury A, Chowdhury S, Mukhopadhyay AK, Rajendran K, Bhattacharya SK, Berg DE, Nair GB . Virulence genes in Helicobacter pylori strains from West Bengal residents with overt H. pylori-associated disease and healthy volunteers. J Clin Microbiol. 2002;40: 2622-2625.
26. Farinati F, Cardin R, Russo VM, Busatto G, Franco M, Rugge M. Helicobacter pylori CagA status, mucosal oxidative damage and gastritis phenotype: a potential pathway to cancer? Helicobacter. 2003; 8:227-234.
27. Weitzman SA, Gordon LI. Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis. Blood. 1990;76: 655-663.

Downloaded from daneshvarmed.shahed.ac.ir at 1:43 IRST on Sunday September 24th 2017

Daneshvar

Medicine

Scientific-Research Journal of Shahed University Twenteeth Year, No.104 April-May,2013

Received: 2013/2/26
Last revised: 2013/4/19
Accepted: 2013/4/21

Evaluation of the prevalence of VacA and CagA in patients with peptic ulcer

Zohreh Khodaii[1], Sayyed Mohammad Hossein Ghaderian[1*], Akram Sadat Tabatabaei Panah[2], Reza Akbarzadeh Najar[1]

1. Department of Medical Genetics - Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
2. Department of Biology, Islamic Azad University, Eastern Tehran Branch, Tehran, Iran.

E-mail: sghaderian@yahoo.co.uk

Abstract

Background and Objective: Helicobacter pylori (H. pylori) infection is one of the most common gastrointestinal infections worldwide. Infection with H. pylori strains may results in different pathological manifestation and increased oxidative stress lead to a strong inflammatory response in gastric mucosa. There is continuing interest in identifying H. pylori virulence factors that might predict the risk for symptomatic clinical outcomes. The purpose of this study was to evaluate the prevalence of cagA and vacA genes in patients with peptic ulcer.

Materials and Methods: The presence of IgG antibody against CagA and VacA proteins was determined by using Western blotting technique. The presence of cagA gene and vacA alleles was examined by PCR. H. pylori-positive patients including PUD and NUD were used for these experiments.

Results: Biopsies were considered as H. pylori-positive and negative when both the rapid urease test and bacterial culture gave positive and negative results, respectively. H. pylori-positive, cagA-positive, and vacA alleles (s1 and m2) were predominant in all clinical outcomes. There was no significant association between prevalence of CagA and VacA status and clinical outcomes.

Conclusion: Our results suggest that cagA-positive strains were predominant in patients. However, we found no association between cagA and vacA status and clinical outcomes and this virulence factor is not associated with the development of PUD. In addition, serological tests such as the western blotting are helpful in detecting subjects infected with H. pylori strains in PUD and NUD.

Key words: Helicobacter pylori, CagA, VacA, Peptic ulcer.