

دانشور

پزشکی

بررسی شیوع VacA و CagA در بیماران مبتلا به

اولسر پتیک

نویسندگان: زهره خدایی^۱، اکرم سادات طباطبایی پناه^۲، سید محمدحسین قادریان^{*}، 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

چکیده

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

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

نتایج: زمانی که هر دو تست اوره‌آز و کشت باکتریایی به‌ترتیب نتایج مثبت و منفی داشتند، نمونه‌ها به-عنوان *H.pylori* مثبت ثبت شدند. ال‌های غالب *vacA*، *s1* و *m2* بودند. ارتباط معنی‌داری میان شیوع آنتی‌بادی‌ها ضد آنتی‌ژن‌های *VacA* و *CagA* یا حالات *vacA* و *cagA* و نتایج بالینی وجود نداشت.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه سویه‌های *cagA* مثبت غالب بوده، هرچند ارتباطی میان *vacA* و *cagA* با علائم بالینی و با پیشرفت PUD دیده‌نشده؛ 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، *vacA*، *cagA*، بیماری اولسر پتیک

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

دریافت: ۱۳۹۱/۱۲/۷

آخرین اصلاح‌ها: ۱۳۹۲/۱/۳۰

پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱

مقدمه

H.pylori، یک باکتری گرم منفی معده است که به- عنوان یک پاتوژن اختصاصی معده انسان شناخته شده، باعث التهاب طولانی شامل فیلتراسیون داخل غده‌ای در مخاط معده به وسیله نوتروفیل‌ها، لنفوسیت‌ها و پلازما سل‌ها می‌شود. مطالعات نشان می‌دهند H.pylori، دلیل اصلی گاستریتیس فعال مزمن و PUD بوده و با سرطان معده مرتبط است (۲۰۱). تشخیص بالینی آلودگی H.pylori می‌تواند مشکل باشد، به دلیل اینکه بیشتر افراد دارای آلودگی بدون نشانه هستند یا یافته‌های اندوسکوپی خاصی ندارند؛ به علاوه، به دلیل نتایج متغیر اوره‌آز یا آزمایش‌های ایمونولوژیکی، هیستولوژیکی و مولکولی می‌تواند به عنوان روش تشخیصی قابل اطمینان 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^۱ (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، رخ دهند. مطالعه آسیب DNA در سلول‌های اپیتلیال معده انسان در بیماران آلوده شده با H.pylori می‌تواند به درک دقیق‌تر و بررسی فاکتورهای خطر بیماری‌زای باکتریایی کمک‌کند که باعث دست‌یافتن به راهکارهای محافظتی و درمانی مناسب می‌شود (۴).

به علاوه، مطالعات گوناگون نشان می‌دهند که سم سلولی ایجادکننده واکوئل^۲ (VacA) ممکن است باعث القای آپوپتوزیس سلول اپیتلیال معده شود؛ این مطالعات مطرح می‌کنند که مجموعه‌های متنوع از فاکتورهای بیماری‌زا در سوش‌های H.pylori، مسئول نوع بیماری ایجاد شده هستند. فاکتورهای بیماری‌زا مانند پروتئین مربوط به سم سلولی^۳ (CagA) و VacA شناخته-

شده‌اند (۶ و ۵). 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 به عنوان یک مشخصه برای تشخیص بیماری‌زایی H.pylori استفاده شود (۷).

در این مطالعه، تعیین فرکانس مثبت بودن CagA و VacA و بررسی ژن cagA و الل‌های vacA در بیماران مبتلا به PUD و افراد NUD انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری

۱۵۷ بیمار مبتلا به PUD و NUD (۹۹ مرد، سن $41/8 \pm 8/2$ سال و ۵۸ زن، سن $40/4 \pm 6/4$ سال، گستره ۲۵ تا ۶۴ سال) مورد مطالعه قرار گرفتند. از ۱۷۱ بیمار غربال شده، ۱۶۴ نفر، متعاقب آن ثبت‌نام شدند؛ ۲ بیمار از ثبت‌نام در این مطالعه انصراف دادند و ۲ بیمار به دلیل فقدان اطلاعات آماری از مطالعه کنار گذاشته شدند؛ 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 تأیید شد؛ همچنین کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی و خدمات درمانی شهید بهشتی، بر نمونه‌گیری، برگه اطلاعات و روش‌های انجام شده نظارت داشت.

^۱. Reactive oxygen species

^۲. H.pylori vacuolating cytotoxin

^۳. Cytotoxin-associated protein

تشخیص H.pylori

به وسیله آزمایش اوره آز سریع یا کشت باکتریایی، حضور H.pylori در بیوپسی تأیید شد. بیماران در صورت مثبت بودن آزمایش اوره آز و کشت باکتریایی شان، به عنوان H.pylori مثبت تعیین شدند.

وسترن بلا تینگ

آنتی بادی های IgG ضد CagA و VacA در تمام نمونه های H.pylori مثبت با روش وسترن بلا تینگ ردیابی شدند؛ این ارزیابی با استفاده از کیت وسترن بلا تینگ (Euroimmun, Lübeck, Germany) انجام گرفت (۸).

استخراج DNA ژنومی و PCR

نمونه های H.pylori از بیماران جدا و PCR با DNA استخراج شده از نمونه های بیوپسی با استفاده از کیت PCR (Qiagen, Hilden, Germany) انجام شد. حضور ژن cagA و الل های vacA شامل منطقه s1 یا s2) و منطقه m1 یا m2) طبق مقالات منتشر شده، انجام گرفت (۹ و ۱۰).

ارزیابی آماری

تمام داده ها به صورت میانگین \pm SEM بیان شدند. مربع کای (χ^2) و آزمایش Fisher's exact برای ارزیابی داده های متغیر گروهی و مقایسه تفاوت ها در شیوع ژنوتیپ های H.pylori استفاده شدند. ارزیابی آماری توسط SPSS نسخه ۱۶، برنامه نرم افزار آماری و ANOVA برای سایر داده ها انجام شد. P value کمتر از ۰/۰۵، از لحاظ آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

برای انتخاب H.pylori مثبت، ۱۵۷ بیمار در این مطالعه ثبت نام شدند که خصوصیات آماری آنها در جدول ۱ خلاصه شده است؛ از این ۱۵۷ بیمار، ۴۷ بیمار مبتلا به اولسر دئودنتال^۱ (DU)، ۳۶ بیمار مبتلا به اولسر گاستریک^۲ (GU)، ۳۵ بیمار مبتلا به گاستریتیس و ۳۹

نفر، NUD بودند. هنگامی که آزمایش اوره آز یا کشت باکتریایی نتایج مثبت و منفی دادند، بیوپسی ها به ترتیب به عنوان H.pylori مثبت و منفی در نظر گرفته شدند. از ۱۵۷ بیمار، تنها ۱۷ بیمار (۱۰/۸ درصد)، H.pylori منفی بوده، ۱۴۰ نفر (۸۹/۲ درصد)، H.pylori مثبت بودند (Fisher's exact test, P=1). بیوپسی های H.pylori مثبت شامل ۴۳ نفر (۹۱/۵ درصد) از ۴۷ بیمار مبتلا به DU، ۳۰ نفر (۸۳/۳ درصد) از ۳۶ بیمار مبتلا به GU، ۳۲ نفر (۹۱/۴ درصد) از ۳۵ بیمار مبتلا به گاستریتیس و ۳۵ (۸۹/۸ درصد) از ۳۷ نفر قرار گرفته در NUD بودند.

حضور ژن cagA و الل های vacA به وسیله PCR در ۱۴۰ بیمار H.pylori مثبت تعیین شد که در جدول ۲ خلاصه شده و در شکل ۱a-c و شکل ۲ نشان داده شده اند؛ در کل، ژن cagA در ۸۱/۴ درصد، ۷۰ درصد، ۵۶/۳ درصد و ۶۸/۶ درصد به ترتیب در بیماران مبتلا به DU، GU، گاستریتیس و NUD حضور داشت ($\chi^2 = 5.57$)، شیوع vacA s1 یا s2)، (P = 0.134). در ژنوتیپ منطقه vacA s1 یا s2)، شیوع تنوع الی s1 در جمعیت بیشتر بود (P = 6.09، $\chi^2 = 69.3\%$) (0.107 در حالی که ژنوتیپ منطقه vacA m2، vacA m1 بیشتر بود ($\chi^2 = 10.36$ ، P = 0.016)؛ در مجموع، s1m2 در سوش های جدا شده از همه بیماران مبتلا به PUD، بیشترین بود (P = 0.945، $\chi^2 = 0.37$). هیچ تفاوت معنی داری میان ژن cagA و حالت ژنوتیپ های vacA با توجه به نتایج بالینی وجود نداشت.

سپس به وسیله روش وسترن بلا تینگ، حضور آنتی بادی های سرم ضد VacA و CagA با استفاده از سرم های H.pylori مثبت تعیین شد. تعیین کیفی آنتی بادی های IgG ضد CagA (۱۲۰ کیلودالتون) و VacA (۹۵ کیلودالتون) در مطالعه حاضر با استفاده از کیت تجاری وسترن بلا تینگ انجام گرفت که درصد واکنشگری سرمی به آنتی ژن های CagA و VacA در بیماران مختلف مبتلا به PUD و افراد NUD در جدول ۳ و شکل ۳ خلاصه شده اند. درصد IgG ضد CagA در نتایج بالینی متفاوت، ۲۹ از ۴۳ (۶۷/۴ درصد)، ۱۷ از ۳۰ (۵۶/۶ درصد)، ۱۵ از ۳۲ (۴۶/۸ درصد) و ۲۱ از ۳۵

¹. Duodenal ulcer

². Gastric ulcer

گاستریتیس و NUD بود ($\chi^2 = 5.68, P = 0.128$)؛ همچنین هیچ تفاوت معنی داری در واکنشگری سرمی فاکتورهای بیماری زای VacA و CagA میان تمام نتایج بالینی وجود نداشت.

(۶۰ درصد) به ترتیب 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،

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

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

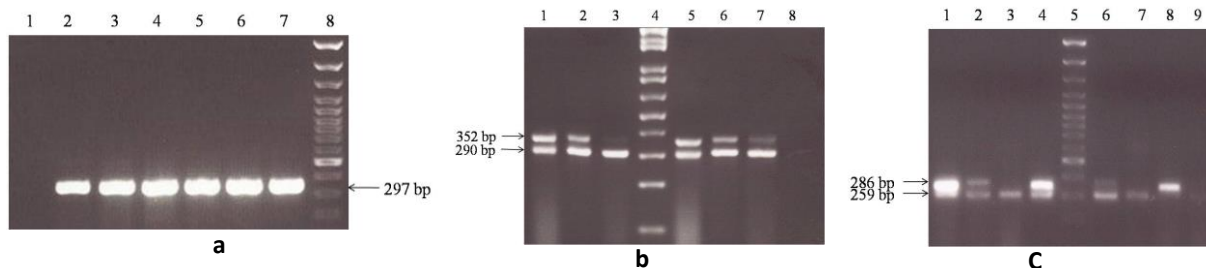
n : تعداد

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

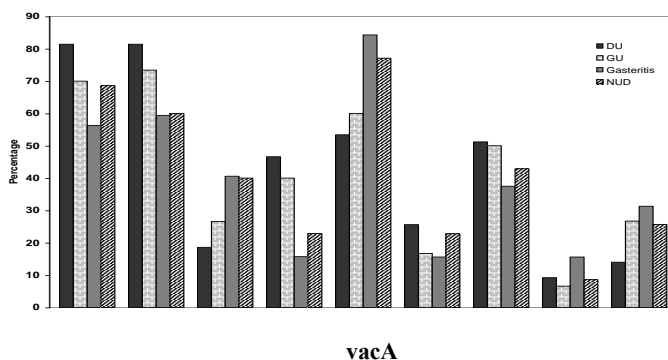
P value*	مجموع (گروه) (%) n	غیر اولسر پپتیک (NUD) (%) n	گاستریتیس (%) n	اولسر گاستریک (GU) (%) n	اولسر دئودنتال (DU) (%) n	ژنوتایپ	
						گروه	
۱	۱۴۰ (۸۹/۲)	۳۵ (۸۹/۸)	۳۲ (۹۱/۴)	۳۰ (۸۳/۳)	۴۳ (۹۱/۵)	H. pylori مثبت	
						H. pylori منفی	
۰/۱۳۴	۹۸ (۷۰)	۲۴ (۶۸/۶)	۱۸ (۵۶/۳)	۲۱ (۷۰)	۳۵ (۸۱/۴)	cagA مثبت	
		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

P value به وسیله مقایسه علائم بالینی متفاوت (اولسر دئودنتال، اولسر گاستریک، گاستریتیس و غیر اولسر پپتیک) با توجه به ژنوتایپ H. pylori محاسبه شده است.

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



شکل ۱- a. تشخیص ژن *cagA* توسط PCR. Lane 1: کنترل منفی، Lane 2-7: نمونه‌های مثبت *cagA* (297 bp)، Lane 8: مارکر 100 bp. b. تشخیص ال‌های *s1* و *s2* *vacA* توسط PCR. Lane 1, 2, 4, 6 and 8: نمونه‌های ال *s1* (به ترتیب 259 و 286 bp)، Lane 3 and 7: نمونه‌های ال *s1* (259 bp)، Lane 5: مارکر 100 bp، Lane 9: کنترل منفی. c. تشخیص ال‌های *m1* و *m2* *vacA* توسط PCR. Lane 1, 2, 3, 5, 6 and 7: نمونه‌های ال *m1* و *m2* (به ترتیب 290 و 352 bp)، Lane 4: مارکر 100 bp، Lane 8: کنترل منفی.



شکل ۲. چارت حالات *cagA* و ال‌های *vacA* *H. pylori* در بیماران مبتلا به DU، GU، گاستریتیس و NUD

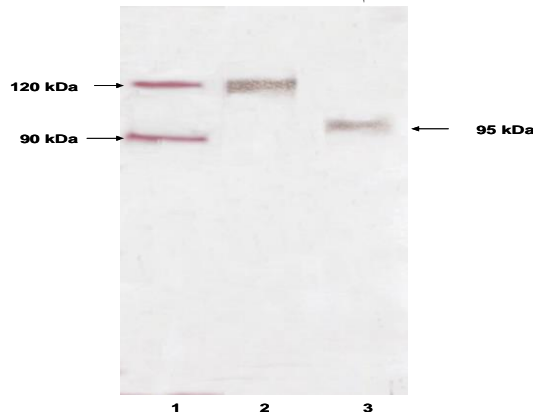
جدول ۳. درصد *anti-CagA IgG* و *anti-VacA IgG* تعیین‌شده با روش وسترن بلاتینگ در بیماران مبتلا به DU، GU،

گاستریتیس و NUD

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

H. pylori P value به وسیله مقایسه علائم بالینی متفاوت (اولسر دئودنتال، اولسر گاستریک، گاستریتیس و غیراولسر پپتیک) با توجه به ژنوتایپ محاسبه شده است.

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



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).

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 وجود دارد. ژنتیک، بیماری‌زایی سوش‌های باکتریایی و فاکتورهای محیطی، نقش‌هایی مهم در آسیب‌شناسی بیماری‌های مربوط به *H. pylori* ایفای کنند و با توجه به این مسئله، تشخیص مناسب عفونت *H. pylori* در بیمارانی با این عفونت بسیار با اهمیت است.

H. pylori نوع I، CagA و VacA را تولید می‌کند که فاکتورهای بیماری‌زای مهم *H. pylori* بوده که در بیماری‌زایی بیماری *H. pylori* دخیل است، در حالی که نوع II، این‌گونه نیستند. گوناگونی سوش‌های *H. pylori* که مسئول تنوع‌های الی مختلف هستند، احتمال تنوع آنتی‌ژنی را در میان پروتئین‌های VacA از سوش‌های مختلف مطرح می‌کند. برخی از مطالعات در خصوص عملکرد VacA گزارش کرده‌اند، 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*، در نظر گرفته‌شود. سوش‌های CagA مثبت، در القای فراوان پاسخ‌های التهابی موضعی سهمیم هستند؛ این پروتئین، نقشی مهم در پیشرفت PUD و سرطان معده ایفای کند (۱۵). توزیعی متفاوت از ژن *cagA* در سوش‌های *H. pylori* در نقاط مختلف دنیا وجود دارد (۱۳). شواهد نشان‌دهنده‌اند که ژن *cagA* در ۵۰ تا ۷۰ درصد از سوش‌های *H. pylori* در کشورهای غربی وجود دارد، در حالی که این ژن در بیشتر از ۹۰

درصد سوش‌های جمعیت‌های شرقی حاضر است (۱۴). در این مطالعه، بیشتر از ۷۰ درصد از بیماران آلوده، با سوش‌های *cagA* مثبت تشخیص‌ده شدند که با برخی از گزارش‌ها از ایران مشابه است (۱۵ و ۹)؛ اما با گزارش‌های آسیای شرقی و جنوبی (که حضور *cagA* و ارتباط آن با نتایج بالینی بیشتر از ۹۰ درصد است)، تفاوت دارد (۱۶ و ۱۰). تحقیق‌ها نشان‌دهنده‌اند که شیوع سوش *cagA* مثبت در آمریکا و اروپا بین ۶۰ 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 وجود ندارد و آنها نتیجه‌گیری کرده‌اند که شیوع این آنتی‌ژن در پیش‌بینی نتایج بالینی در بسیاری از کشورهای آسیایی، مفید نیست (۱۸ و ۱۹).

VacA، سمی که سوش‌های *H. pylori* مختلف ترشح می‌کنند، *in vitro* باعث ایجاد واکنش سیتوپلاسمی در رده سلول‌های پستانداران می‌شود (۲۰) *in vitro* و با بلوغ طبیعی و عبور آنزیم‌های لیزوزومی، ارائه آنتی‌ژن‌های منقطع‌شده توسط سلول‌های T و افزایش نفوذپذیری تک‌لایه‌های سلول‌های پوششی پولاریزه‌شده دخالت دارد. پیش‌توکسین VacA که به شکل یک پروتئین ۱۴۰ کیلودالتونی منتقل می‌شود، تحت پردازش پروتئولیتیکی قرار می‌گیرد و یک توکسین پردازش‌یافته ۹۰ کیلودالتونی را ایجاد می‌کند (۲۰). در این مطالعه، غالب بودن ژنوتیپ‌های *s1* و *vacA s1m2* در همه نتایج بالینی بیماران نشان‌دهنده‌شده که با نتایج سایر مطالعات از ایران که نشان‌دهنده‌اند ال *s1* با PUD شامل DU و GU مربوط است و هم‌اینکه سوش *s1m2*، ژنوتیپ غالب در میان بیماران ایرانی آلوده است، توافق دارد (۹ و ۲۱ تا ۲۳)؛ به‌طور مشابه، نشان‌دهنده‌شد که ژنوتیپ *s1m2* در کشورهای ترک زبان و غربی غالب است (۲۴)؛ هرچند، ژنوتیپ *s1m1* در نژادهای افغانی و هندی غالب‌تر است (۲۵).

در نتیجه، نتایج این مطالعه بیان می‌کنند که سوش‌های *cagA* مثبت، *vacA* s1 و *vacA* s1m2 در بیماران، غالب هستند؛ هرچند، هیچ ارتباطی میان حالت *cagA* و *vacA* با نتایج بالینی یافت نشد؛ به‌علاوه، آزمایش‌های سرولوژیکی مانند وسترن بلائینگ 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 مشکل بودن جمع‌آوری نمونه این بیماری، تعداد قابل-قبولی بود، هرچند که مطالعات بیشتری با تعداد نمونه-هایی گسترده‌تر لازم است تا این موارد به‌صورتی کامل‌تر بررسی شوند.

تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر اذن‌الله آذرگشسب برای حمایت در بخش آماری این مطالعه قدردانی می‌شود.

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.

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

عفونت *H.pylori* باعث التهاب معده و القای پاسخ‌های ایمنی میزبان به ارگانیزم شده، التهاب مزمن با فیلتراسیون سلول‌های التهابی (لنفوسیت‌ها، ماکروفاژها/مونوسیت‌ها، پلاسماسل‌ها و ائوزینوفیل‌های پرانگیخته‌شده) 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، ایفای می‌کند.

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

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. 1991;8:686-689
12. Khanzode SS, Khanzode SD, Dakhale GN. Serum and plasma concentration of oxidant and antioxidants in patients of *Helicobacter*

- 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, Malferttheiner 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, Esmacili 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.

Daneshvar

Medicine

*Scientific-Research
Journal of Shahed
University
Twentieth 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 Khodaii¹, Sayyed Mohammad Hossein Ghaderian^{1*}, Akram Sadat Tabatabaei Panah², Reza Akbarzadeh Najar¹

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.