بررسی ارتباط بین شدت بیماریزایی با میزان اتصال و حضور ژن های توکسین در هلیکوباکتر پیلوری

زینب فاضلی[۱]، مسعود آل بویه[۲،۳*]، مصطفی رضایی طاویرانی[۱]، محمدرضا زالی[۳]

۱) مرکز تحقیقات پروتئومیکس، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۲) مرکز تحقیقات بیماری های منتقله از آب و غذا، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
۳) تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۱/۱۹ **تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۵/۲۳**

چکیده

مقدمه: شدت عوارض بالینی ایجاد شده در بیماران آلوده به هلیکوباکتر پیلوری بسته به تنوع ژنتیکی سویه های باکتری متفاوت می باشد. کلونیزاسیون و اتصال باکتری به میزبان به عنوان اولین مرحله بیماریزایی مطرح می باشد. این مطالعه با هدف بررسی فاکتورهای بیماریزا در سویه های هلیکوباکتر و قدرت چسبندگی آن ها به رده سلولی AGS و ارتباط این چسبندگی با شدت عوارض بالینی در بیماران آلوده به این سویه ها انجام شده است.

مواد و روش ها: ژن های vacA, iceA, cagA, babA و cag-PAI در سویه های باکتری با قدرت بیماریزایی متفاوت با PCR مورد بررسی قرار گرفتند. هم چنین تیمار رده سلولی AGS با این سویه های باکتری به منظور بررسی ارتباط بین میزان اتصال با قدرت بیماریزایی آن ها در بیماران آلوده، مورد آزمایش قرار گرفته شد.

یافته های پژوهش: سویه هایی با قدرت بیماریزایی شدید دارای همه ژن ها و در سویه دیگر ژن های موثر در فرآیند اتصال باکتری حضور داشتند. نتایج میزان اتصال نیز حاکی از تفاوت بین سویه ها می باشد. در سویه های بیماریزاتر، بالاترین و سویه دیگر کمترین، میزان اتصال مشاهده شد.

بحث و نتیجه گیری: در اتصال باکتری به میزبان، بسیاری از ژن ها نقش دارند که حضور و یا عدم حضور یک یا دو ژن تاثیر زیادی بر روی قدرت و میزان اتصال باکتری به سلول میزبان نخواهد داشت. ژن های چسبندگی در حضور انکوژن ها می توانند سبب تظاهرات بالینی شدیدتری در میزبان شوند.

واژه های کلیدی: هلیکوباکتر پیلوری، قدرت اتصال، پاتوژنز

***نویسنده مسئول: مرکز تحقیقات بیماری های منتقله از آب و غذا، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران- مرکز تحقیقات بیماری های گوارش و کبد، پژوهشکده گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران**

Email: masoud.alebouyeh@gmail.com

Copyright © 2018 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری یک ارگانیسم گرم منفی، میکروآئروفیلیک کند رشد، مارپیچی شکل می باشد که در موکوس معده بیش از ۵۰ درصد جمعیت انسانی مشاهده می شود. در افراد آلوده به این باکتری ریسک ابتلا به زخم معده، زخم روده و یا حتی سرطان معده افزایش می یابد(۱). بر این اساس در سال ۱۹۹۴ آژانس بین المللی تحقیقات سرطان(IARC)، هلیکوباکتر را به عنوان کارسینوژن تیپ ۱ معرفی کرد و جایزه نوبل پزشکی در سال ۲۰۰۵ برای کشف این باکتری و نقش آن در ایجاد زخم معده به وارن و مارشال داده شد(۲).

مطالعات ژنتیکی نشان داده است که سویه های مختلف این باکتری تنوع ژنتیکی بالایی دارند. این تنوع ژنتیکی در ژن های بیماریزا، می تواند در فرآیند بیماریزایی این باکتری تاثیرگذار باشد و در نتیجه آن تنوع گسترده بیماریزایی این باکتری مشاهده می شود. بنا بر این، علاوه بر فاکتورهای ایمنولوژیک میزبان و فاکتورهای محیطی، تنوع ژنتیکی سویه های باکتری عامل مهمی در قدرت بیماریزایی این باکتری به شمار می آید(۳).

فاکتورهای بیماریزایی متعددی در ایجاد عفونت ایجاد شده توسط هلیکوباکتر معرفی شده اند که در این میان CagA که توسط ژن های مرتبط با جزایر بیماریزایی cag-PAI کد می شود و سیتوتوکسین VacA نقش عمده ایی را در قدرت و شدت بیماریزایی هلیکوباکتر بر عهده دارند. هم چنین مطالعات نشان داده اند که ژن های ناحیه لوکوس cag-PAI نیز نقش مهمی در پاسخ های التهابی میزبان و کارسینوژنز این باکتری دارند. این لوکوس یک توالی با طول ۴۰ Kb است که ۳۲ ژن را کد می کند. تقریباً ۶۰ درصد سویه های غربی و ۹۰ درصد سویه های شرقی دارای cag-PAI هستند(۴،۵). مطالعات انجام شده در دهه اخیر نشان داد که cag-PAI، در سویه هایی با بیماریزایی بالا دیده می شود، اما در میان مطالعات بسیاری نیز نشان داده اند که در سویه های جدا شده از افراد با شدت بیماری کمتر نیز این نواحی ژنی وجود دارند(۶،۷). از این نتایج چنین استنباط می شود که شدت بیماریزایی هلیکوباکتر مولتی فاکتوریال می باشد و لازم است تا ارتباط دیگر فاکتورهای این باکتری با شدت بیماریزایی نیز مورد بررسی قرار گیرد. فاکتورهای بسیاری در ارتباط با بیماریزایی هلیکوباکتر پیلوری تعیین شده اند که نقش مستقیمی در فعالیت کلونیزاسیون و نیز آسیب به سلول میزبان دارند. تحقیقات سال های اخیر فاکتورهای چسبندگی هلیکوباکتر و تعدادی از رسپتورهای سلولی میزبان این فاکتورها را شناسایی کرده است. تقریباً ۴۰ درصد ژنوم هلیکوباکتر مسئول کد کردن پروتئین های غشاء خارجی می باشند(۷) گمان می رود که babA اولین پروتئینی باشد که در اتصال به موکوس معده نقش دارد. این پروتئین توسط ژن babA2 کد می شود و به آنتی ژن fucosylated Lewisb antigen در سلول های اپیتلیوم معده باند می شود و سبب تسهیل اتصال باکتری به این سلول ها می شود که در نتیجه می تواند در کارایی بالاتر انتقال فاکتورهای بیماریزایی باکتری به میزبان نقش داشته باشد(۱۱-۸). ژن babA1 به علت عدم وجود کدون آغازین بیان نمی شود. بعضی از مطالعات حاکی از ارتباط بین حضور babA2 و ایجاد زخم دئودنال و سرطان معده می باشند و نیز گزارش شده است که ارتباط بین این فاکتور با آلل cagA و vacA سبب ایجاد ریسک بالایی بیماری های معده ایی شدید می باشد(۱۲). در کشورهای آسیایی اغلب سویه های هلیکوباکتر بدون در نظر گرفتن شدت بیماریزایی دارای babA2 هستند و فراوانی این ژن در مناطق مختلف متفاوت است. هم چنین ارتباط این ژن با قدرت بیماریزایی باکتری در مناطق مختلف متغییر است(۱۶-۱۳). از دیگر ژن های موثر در فرآیند اتصال باکتری به میزبان می توان به ژن iceA اشاره کرد. این ژن در هلیکوباکتر پیلوری دارای دو واریانت iceA1 و iceA2 می باشد. بیان iceA1 در اثر تماس باکتری با سلول های اپیتلیوم معده افزایش پیدا می کند. مطالعاتی در مورد ارتباط ژنوتیپ iceA1 با اولسر پپتیک وجود دارد، ولی مطالعات در این مورد نتایج متفاوتی را نشان می دهند. از طرفی ارتباط ژنوتیپ iceA1 با بیان IL-8 و التهاب حاد آنتروم به اثبات رسیده است(۱۷،۱۸). مطالعاتی در زمینه فراوانی

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

حضور ژن های ناحیه cag-PAI و ارتباط آن ها با شدت بیماری در ایران صورت گرفته است(۱۹،۲۰). در این مطالعه علاوه بر حضور ژن های ناحیه cag-PAI و نیز vacA به بررسی ژن های چسبندگی iceA و babA نیز پرداخته شده است. هم چنین میزان اتصال سویه های مورد مطالعه به رده سلولی AGS به منظور بررسی ارتباط میزان چسبندگی با قدرت بیماریزایی هلیکوباکتر پیلوری نیز مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

-کشت و تایید ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری: به منظور بررسی ارتباط بین فاکتورهای ژنتیکی و قدرت چسبندگی سویه های هلیکوباکتر پیلوری با قدرت بیماریزایی در بیماران آلوده به سویه های مذکور، سه سویه هلیکوباکتر با قدرت بیماریزایی مختلف-سویه HC-113 جدا شده از بیمار متاپلاژی، سویه OC149 جدا شده از بیمار گاستریت مزمن فعال و سویه OC236 جدا شده از بیمار گاستریت مزمن فعال ملایم- موجود در مرکز تحقیقات بیماری های ناشی از آب و غذای پژوهشکده گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران که در محیط BHI حاوی ۲۰ درصد گلیسرول و ۱۰ درصد FCS در ۷۰- درجه سانتی گراد ذخیره شده بودند، انتخاب شدند. این سویه ها بر روی محیط بروسلا آگار حاوی ۷ درصد خون اسب، وانکومایسین mg ۲، پلی میکسین mg ۰/۰۵، تری متوپریم mg ۱ و آمفوتریسین B mg/l ۲/۵ (مرک، آلمان)، کشت داده شدند و به مدت ۵ تا ۷ روز در ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور CO_2 دار انکوبه شدند و پس از تایید با رنگ آمیزی گرم، مورفولوژی کلنی، تست های کاتالاز، اکسیداز و اوره آز، ایزوله ها در محیط BHI حاوی ۲۰ درصد گلیسرول و ۱۰ درصد FCS در ۷۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند.

-استخراج DNA و ژنوتایپینگ ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری: DNA ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری با کمک QIAamp DNA extraction kit (کیاژن، آلمان) بر طبق دستور عمل کیت استخراج شده و DNA ایزوله های مذکور در ۲۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند. به منظور تعیین ژنوتیپ ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری انتخاب شده، ژنوتایپینگ به کمک روش PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن های iceA, vacA, cagA, babA و ناحیه cag-PAI انجام گرفت.

به منظور بررسی ژنوتایپ ژن های iceA, cagA, babA و vacA در سویه های هلیکوباکتر پیلوری، این نواحی به کمک جفت پرایمرهای استفاده شده در مقاله وزیری و همکاران، با روش PCR انجام شد(۳۲). به این منظور محصول واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر تهیه شد. ۲/۵ میکرولیتر از 1X PCR buffer، ۰/۲ میکرولیتر از Taq™ DNA polymerase(۰/۰۵ U/ml)، ۰/۳ میکرولیتر از(۱۰ mM) DNTP Mix، ۰/۳ میکرولیتر از هر پرایمر(خارجی و داخلی)(۱۰ pm)، ۱ میکرولیتر از $MgCl_2$(۱/۵ mM)، ۱ میکرولیتر از DNA (۱۵۰ ng) و با ddH_2O به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. برنامه PCR برای ژن های vacA, iceA, cagA, babA شامل دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۴ دقیقه، به دنبال آن ۳۵ چرخه متوالی از واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد برای یک دقیقه و دمای اتصال پرایمری ۵۸ درجه سانتی گراد برای ۴۰ ثانیه، دمای تکثیر قطعات در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه/kb انجام شد و در نهایت به منظور تکمیل فرآیند تکثیر قطعات در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه اعمال شد. به منظور بررسی ژن های ناحیه cag-PAI در سویه های هلیکوباکتر پیلوری، ژنوتایپینگ این ناحیه به کمک یازده جفت پرایمر که توسط یادگار و همکاران طراحی شده بودند، با روش PCR انجام شد(۳۱). برنامه PCR برای این ژن ها شامل دمای واسرشت اولیه ۹۴ درجه سانتی گراد برای ۴ دقیقه، به دنبال آن ۳۰ چرخه متوالی از واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد برای یک دقیقه و دمای اتصال پرایمری مناسب هر پرایمر برای ۴۵ ثانیه، دمای تکثیر قطعات در ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱ دقیقه/kb انجام شد و در نهایت به منظور تکمیل فرآیند تکثیر قطعات در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد برای ۱۰ دقیقه اعمال شد. سپس محصولات با ژل آگاروز ۱/۲ درصد الکتروفورز شدند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

-*کشت سلولی رده سلولی AGS*: به منظور انجام کواینفکت، از رده سلولی AGS که منشاء آن سلول های آدنوکارسینومای معده می باشد استفاده شد. این رده سلولی که از مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران خریداری شده اند، در شرایط استوک در مرکز تحقیقات بیماری های ناشی از آب و غذای پژوهشکده گوارش و کبد دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران در تانک ازت نگهداری شد. محیط کشت مورد استفاده HDMEM حاوی ۱۰درصد از FBS و ۱ درصد از اسید آمینه های غیر ضروری از شرکت(GIBCO (Grand Island, NY بود. سلول ها چندین نسل در فلاسک های مخصوص کشت سلولی پاساژ داده شدند(۳۷ درجه سانتی گراد و ۵ درصد Co_2). برای پاساژ این سلول ها از مخلوط تریپسین-EDTA(۰/۲۵ درصد)(Gibco) استفاده گردید.

-*آزمون اتصال:* به منظور انجام آزمون اتصال، ۲۴ ساعت قبل از انجام آزمون ابتدا سلول های رشد داده شده در پلیت شش خانه با D-PBS شستشو داده و سپس محیط H-DMEM بدون آنتی بیوتیک به پلیت کشت سلول افزوده شد. در روز آزمون سویه های باکتری با MOI=100 به هر پلیت کشت سلول اضافه شد. پلیت ها تکان داده شدند تا باکتری ها به طور یکنواخت پخش گردند. پلیت ها در انکوباتور به مدت ۱ ساعت قرار داده شدند. پس از پایان زمان انکوباسیون، ابتدا محیط کشت سلولی حذف گردید و هر پلیت ۳ مرتبه با D-PBS شستشو شد. سپس به هر پلیت تریتون X-100 (۱ درصد) اضافه گردید و به مدت ۵ دقیقه در ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا لیز سلولی انجام گیرد. جهت بررسی تعداد سلول های متصل شده بعد از زمان انکوباسیون ۱۰µl از لیزات سلولی با ۹۰µl در محیط BHI مخلوط شد(رقت ۱۰/۱) و ۱۰µl از آن بر روی محیط بروسلا آگار تلقیح و در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت سه روز قرار داده شد. تعداد کلنی ها پس از ۷۲ ساعت به صورت تقریبی و با شمارش کلونی ها به صورت چشمی با یکدیگر مقایسه شدند.

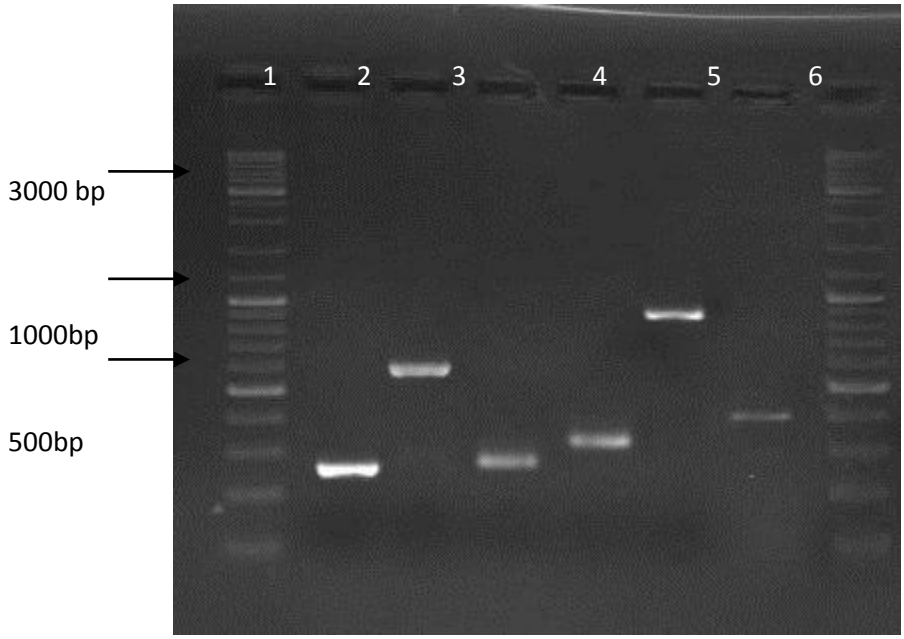
یافته های پژوهش

به منظور تعیین ژنوتیپ ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری انتخاب شده، ژنوتایپینگ به کمک روش PCR با پرایمرهای اختصاصی ژن های iceA, cagA, babA vacA و ناحیه cag-PAI با پروتکل گفته شده در قسمت مواد و روش ها انجام گرفت. نتایج مربوط به ژنوتایپینگ cagA و vacA و نیز ژنوتایپینگ لوکوس cag-PAI نشان داد که دو سویه OC149 و HC113 برای تمامی این ژن ها مثبت هستند. هم چنین نشان داده شد که سویه HC113 برای ژن vac دارای آلل vacs1m2 و سویه OC149 برای این ژن دارای آلل vacs1m1 می باشد. هم چنین نتایج مربوط به ژنوتایپینگ cagA و vacA و نیز ژنوتایپینگ لوکوس cag-PAI نشان داد که سویه OC236 فاقد این نواحی ژنی می باشد. نتایج مربوط به ژنوتایپینگ babA و iceA با روش PCR با پرایمرهای اختصاصی این نواحی ژنی نشان داد که هر سه سویه انتخابی دارای این نواحی ژنی هستند و نیز هر سه سویه دارای آلل ۲ babA و iceA۱ می باشند(شکل شماره ۱ و ۲).

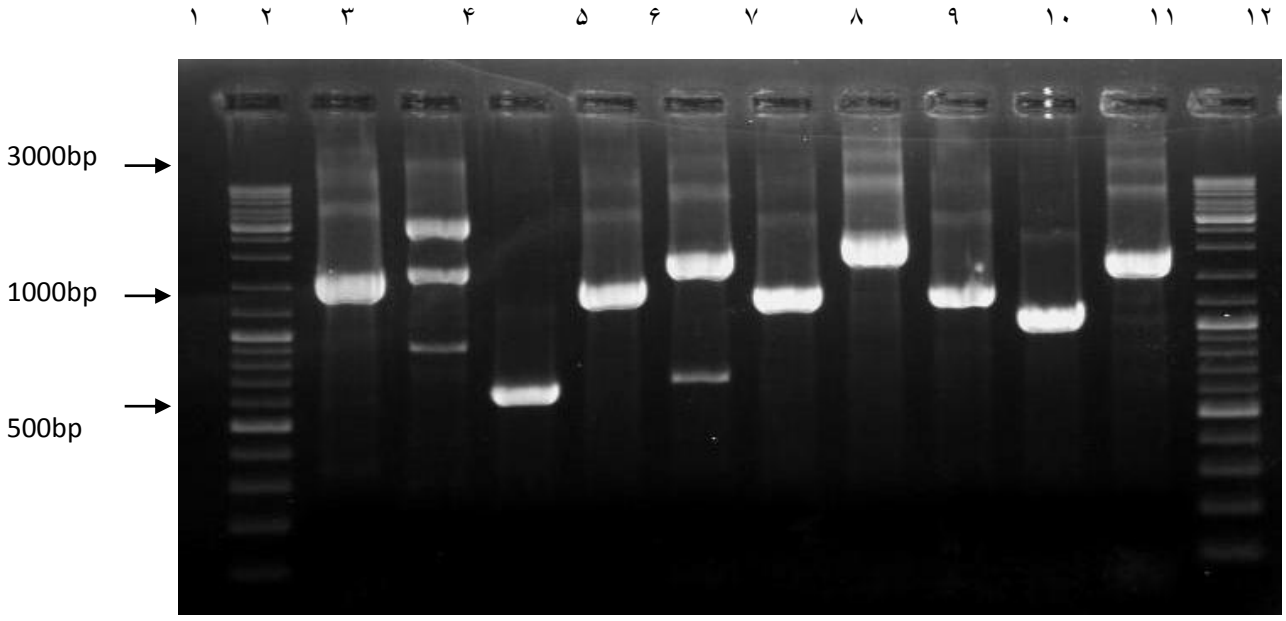
اتصال سویه های باکتری به رده سلولی AGS بر اساس روش ذکر شده در قسمت مواد و روش ها، نشان داد که سویه HC113 با تعداد Bacteria/Cell ۰/۸۳ دارای بیشترین قدرت اتصال به AGS و سویه OC149 با Bacteria/Cell ۰/۰۰۸۳ پس از این سویه دارای بیشترین قدرت اتصال به AGS می باشد. سویه OC236 نیز با Bacteria/Cell $۱/۶\times۱۰^{-۴}$ دارای کمترین قدرت اتصال به AGS می باشد.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]



شکل شماره ۱. محصولات PCR ژن های vacA, cagA, iceA, babA.
ستون ۱ و ۸(Gene Ruler DNA Ladder Mix (Thermo Scientific، ستون ۲ ژن babA2(۲۷۱bp)، ستون ۳ ژن vacm1(۵٦۷ bp)، ستون ٤ ژن vacs1 (۲۵۹bp)، ستون ٥ ژن vacs2 (۲۸٦ bp)، ستون ٦ ژن iceA1 (۹۰۰bp)، ستون ۷ ژن cagA(٤۰۰ bp)



شکل شماره ۲. محصولات PCR پرایمرهای اختصاصی ژن های ناحیه Cag-PAI سویه هلیکوباکترپیلوری
ستون ۱ و ۱۲ Gene Ruler DNA Ladder Mix (Thermo Scientific)، ستـــون ۲ :cagζ-cagδ(Wild (intact) (1092bp)، ستون ٤ cagp-cagM(601bp)، ستون ٥ cagδ-cagγ(1417bp)، ستون ٦ cagα-cagY(1818bp)، ستون ۷ cagX-cagW(1306bp)، ستون ۸ cagW-cagT(228bp)، ستون ۹ cagL-cagH(1329bp)، ستـــون ۱۰ cagE-cagC(1083bp)، ستون ۱۱ cagC-cagA(1917bp).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

بحث و نتیجه گیری

هلیکوباکتر پیلوری تقریباً نیمی از جمعیت دنیا را آلوده کرده است و در ارتباط با بیماری هایی از جمله پپتیک اولسر، لمفوم MALT و سرطان معده می باشد. مطالعات نشان داده اند که میزان ابتلا و شدت بیماریزایی سویه های هلیکوباکتر پیلوری بسته به مناطق مختلف در جمعیت ها متفاوت است(۲۳-۲۱).

یکی از علل تنوع تظاهرات بالینی ایجاد شده توسط این باکتری، تفاوت ژنوتیپ سویه های هلیکوباکتر و نیز عملکرد محصولات این ژن ها با میزبان می باشد. یافته های متعددی ارتباط بین ژنوتیپ فاکتورهای بیماریزایی و عوارض بالینی را نمایان ساخته اند(۲۴،۲۵). بر اساس یافته های وزیری و همکاران نیز تنوع وسیع ژنوتیپی در میان جدایه های مورد مطالعه مشاهده شد، به طوری که جدایه های ایرانی در این تحقیق ۲۰ ژنوتیپ مختلف را از نظر ترکیب ژنی cagA، vacA، iceA و babA نشان دادند. تنوع وسیع ژنوتیپی این جدایه ها در این مطالعه موید تغییرات ژنتیکی فراوان این باکتری ها در ایران می باشد. ارتباط ژنوتیپ های گوناگون با علائم بالینی و عوارض پاتولوژیک نشان داد که ترکیب ژنوتیپی cagA+/vacAs_1m_1/iceA_2/babA ارتباط معناداری را با بیماری گاستریت مزمن شدید فعال دارد(۲۶). این مطلب موید آن است که این الگوی ژنوتایپینگ می تواند تا حدی یک روش مناسب برای بررسی و پیش بینی علائم بالینی در افرد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری باشد، که البته تایید این یافته نیازمند انجام مطالعه بیشتر و در سطح وسیع تر می باشد.

مهم ترین و شناخته شده ترین فاکتورهای ویرولانس هلیکوباکتر پروتئین های CagA و VacA می باشند. ژن های ناحیه لوکوس cag-PAI نیز نقش مهمی در پاسخ های التهابی میزبان و کارسینوژنز این باکتری دارند. ساختار vacA بر اساس ناحیه های s و m دارای تنوع می باشد. ژنوتیپ vacA s_1/m_1 دارای فعالیت بیشتری نسبت به ژنوتیپ vacA s_1/m_2 می باشد و ژنوتیپ vacA s_2/m_2 فاقد فعالیت می باشد. به طوری که مشخص شده است در کشورهای غربی، ژنوتیپ vacA s_1/m_1 بیشتر در ارتباط با بیماری های اولسر و سرطان معده می باشد(۱۰،۲۷). مطالعات انجام شده در دهه اخیر نشان دادند که cag-PAI، سیستم ترشحی تیپ ۴ را که در اغلب گونه های هلیکوباکتر پاتوژنیک دیده می شود کد می کند. مطالعات بیشتر نشان داد که این سیستم در انتقال موثر پروتئین CagA و پپتیدوگلیکان باکتریایی به سلول های میزبان نقش موثری ایفا می کند. این یافته ها تا حدودی می تواند توضیح دهنده نتایج بالینی حاصل از ابتلا به سویه های مختلف هلیکوباکتر باشند. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان می دهد که دو سویه هلیکوباکتر که دارای کلیه ژن های ناحیه cag-PAI و نیز برای ژن های cagA,vacA مثبت بودند قدرت بیماریزایی شدیدتری را نشان داده اند. اگر چه مطالعات بسیاری تاثیر حضور این ژن ها را با شدت تغییرات هیستوپاتولوژی بافت معده، زخم معده و کارسینوژنز نشان داده اند، اما برای تایید این ارتباط نیاز به مطالعات بیشتر در جمعیت های مختلف می باشد.

مطالعات انجام شده بر روی فاکتور بیماریزایی babA2 اطلاعات متفاوتی را در ارتباط با مناسب بودن آن به عنوان مارکر مناسب برای پیش بینی تظاهرات بالینی ایجاد شده در بیماران آلوده به هلیکو باکتر نشان داده اند. این مطالعات بسته به مناطق جغرافیایی سویه های هلیکوباکتر، اطلاعات متفاوتی را بیان داشته اند(۶). babA2 جدا شده از سویه های پرتغال و تایلند با سرطان معده و زخم روده ارتباط معناداری را نشان نداده اند، در حالی که babA2 جدا شده از سویه های مناطقی مانند آلمان و ترکیه با شدت بیماریزایی رابطه معناداری داشته اند(۲۸،۲۹). در مطالعه حاضر نیز با این که هر سه سویه دارای ژن babA2 و نیز iceA1 بودند اما تفاوت قابل چشمگیری را در میزان اتصال به سلول میزبان نشان دادند. این مطالعات پیشنهاد می کنند که اگر چه اتصال هلیکوباکتر به میزبان نقش مهمی را در تغییر فرآیندهای سلولی میزبان ایفا می کند، اما شدت بیماریزایی با فاکتورهای متعددی در ارتباط می باشد. اتصال باکتری به سلول توسط حداقل پنج ژن مختلف که هر کدام رسپتورهای اختصاصی خود را بر روی غشاء سلول میزبان دارند،

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

تسهیل می شود(۳۰). اطلاعات به دست آمده از مطالعات ذکر شده پیشنهاد می کند که حضور و یا عدم حضور یک یا دو ژن تاثیر قابل ملاحظه ایی بر روی قدرت و میزان اتصال باکتری به سلول میزبان نخواهد داشت. البته برای اثبات این نظریه لازم است تا ارتباط دیگر فاکتورهای چسبندگی بر روی قدرت اتصال باکتری به میزبان مورد بررسی بیشتر قرار گیرد.

عوامل متعددی در شدت بیماریزایی در افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری تاثیرگذار هستند. بسیاری از این عوامل به ژنتیک میزبان و عوامل محیطی مرتبط می باشند. مطالعات نشان داده اند که پلی مورفیسم های ژن های سیتوکاین میزبان، رژیم غذایی پر نمک می تواند در بروز متفاوت تظاهرات بالینی در افراد آلوده نقش داشته باشند. در نتیجه فاکتورهای بیماریزایی باکتری به همراه عوامل ژنتیکی میزبان و عوامل محیطی در شدت بروز عوارض بالینی نقش دارند. در نتیجه عوامل ژنتیکی میزبان نقش مهمی را در کلونیزاسیون موفق باکتری ایفا می کند. در واقع می توان گفت که فاکتورهای بیماریزایی باکتری در صورتی که زمینه ژنتیکی و محیطی مناسب در میزبان وجود داشته باشد علائم بالینی شدیدتری را ایجاد می کنند. نتایج حاصل از تحقیق حاضر نیز نشان می دهد که ژن های موثر در فرآیند اتصال از جمله iceA1 و babA2 در صورت حضور دو توکسین cagA و vacA عوارض بیماریزایی شدیدتری را نشان می دهند.

مطالعه حاضر نشان داد که حضور ژن های babA2 و iceA1 به تنهایی بیانگر قدرت و میزان اتصال باکتری به میزبان نمی تواند باشد و نیز حضور دیگر فاکتورهای چسبندگی و نیز ژن های بیماریزایی باکتری در این فرآیند نقش دارند. هم چنین قدرت بیماریزایی باکتری و تظاهرات بالینی در افراد آلوده به هلیکوباکتر پیلوری بسته به عوامل ژنتیکی افراد و عوامل محیطی می تواند متفاوت باشد. برای بررسی دقیق تر نقش فاکتورهای بیماریزایی در سویه های هلیکوباکتر و قدرت چسبندگی این سویه ها به رده سلولی AGS و ارتباط این چسبندگی با قدرت بیماریزایی این سویه های باکتری مطالعات بیشتر نیاز می باشد.

References

1.Rothenbacher D, Brenner H. Burden of Helicobacter pylori and H. pylori related diseases in developed countries recent developments and future implications. Microbes Infec2003;5:693-703.

2.Herrera V, Parsonnet J. Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma. Clin Microbiol Infec2009;15:971-6. doi: 10.1111/j.1469-0691.2009.03031.x.

3.Polk DB, Peek RM. Helicobacter pylori gastric cancer and beyond. Nature Rev Cancer 2010;10:403-14. doi: 10.1038/nrc2857.

4.Backert S, Clyne M, Tegtmeyer N. Molecular mechanisms of gastric epithelial cell adhesion and injection of CagA by Helicobacter pylori. Cell Com Sig2011;9:28. doi: 10.1186/1478-811X-9-28.

5.Hatakeyama M. SagA of CagA in Helicobacter pylori pathogenesis. Current Opin Microbiol2008;11:30-7. doi: 10.1016/j.mib.2007.12.003.

6.Ghosh P, Sarkar A, Ganguly M, Alam J, De R, Mukhopadhyay AK. Helicobacter pylori strains harboring babA2 from Indian sub population are associated with increased virulence in ex vivo study. Gut Patho 2016;8:1. doi: 10.1186/s13099-015-0083-z.

7.Yamaoka Y. Mechanisms of disease Helicobacter pylori virulence factors. Nature Rev Gastroenterol Hepatol2010;7:629-41. doi: 10.1038/nrgastro.2010.154.

8.Boren T, Falk P, Roth KA, Larson G, Normark S. Attachment of Helicobacter pylori to human gastric epithelium mediated by blood group antigens. Science 1993;262:1892-5.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

9.Mobley HL, Mendz GL, Hazell SL, Andersen LP, Wadstrom T. Basic bacteriology and culture in Helicobacter pylori Physiology and Genetics.1 th ed. Washington ASM Publication.2001.

10.Sheu BS, Yang HB, Yeh YC, Wu JJ. Helicobacter pylori colonization of the human gastric epithelium: a bug's first step is a novel target for us. J Gastroenterol Hepatol 2010;25:26-32. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.06141.x.

11.Yamaoka Y. Roles of Helicobacter pylori babA in gastroduodenal pathogenesis. World J GastroenterolWJG2008;14:4265.

12.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. Proce National Acad Sci 1999;9:12778–83.

13.Oliveira AG, Santos A, Guerra JB, Rocha GA, Rocha AMC, Oliveira CA, et al. babA2-and cagA-positive Helicobacter pylori strains are associated with duodenal ulcer and gastric carcinoma in Brazil. J Clin Microbiol2003;41:3964–6.

14.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;10:601–8. doi: 10.1111/j.1523-5378.2005.00360.x

15.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. Helicobacter2006;11:574–80. doi: 10.1111/j.1523-5378.2006.00461.x

16.Mottaghi B, Safaralizadeh R, Bonyadi M, Latifi-Navid S, Somi MH. Helicobacter pylori vacA i region polymorphism but not babA2 status associated to gastric cancer risk in northwestern Iran. Clin Exp Med2016;16:57–63. doi: 10.1007/s10238-014-0327-0.

17.Xu Q, Morgan R, Roberts R, Xu S, Van Doorn L, Donahue J, et al. Functional analysis of iceA1, a CATG-recognizing restriction endonuclease gene in Helicobacter pylori. Nucle Ac Res2002;30:3839-47.

18.Shiota S, Watada M, Matsunari O, Iwatani S, Suzuki R, Yamaoka Y. Helicobacter pylori iceA, clinical outcomes, and correlation with cagA a metaanalysis. PLos One 2012;7: 30354. doi: 10.1371/journal.pone.0030354.

19.Ahmadzadeh A, Ghalehnoei H, Farzi N, Yadegar A, Alebouyeh M, Aghdaei H, et al. Association of CagPAI integrity with severeness of Helicobacter pylori infection in patients with gastritis. Pathol Biol2015;63:252-7. doi: 10.1016/j.patbio.2015.09.004.

20.Yadegar A, Alebouyeh M, Zali MR. Analysis of the intactness of Helicobacter pylori cag pathogenicity island in Iranian strains by a new PCR-based strategy and its relationship with virulence genotypes and EPIYA motifs. Infec Genet Evol 2015;35:19-26. doi: 10.1016/j.meegid.2015.07.026.

21.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;15:204-10.

22.Yamaoka Y, Kato M, Asaka M. Geographic differences in gastric cancer incidence can be explained by differences between Helicobacter pylori strains. Int Med2008;47:1077.

23.Alizadeh A, Ansari S, Ranjbar M, Shalmani H, Habibi I, Firouzi M, et al. Seroprevalence of Helicobacter pylori in Nahavand a population based study. Clin Exp Med 2009;4:31-7.

24.Shokrzadeh L, Baghaei K, Yamaoka Y, Dabiri H, Jafari F, Sahebekhtiari N, et al. Analysis of 3′-end variable region of the cagA gene in Helicobacter pylori isolated from Iranian population. J Gastroenterol Hepatol2010;25:172-7. doi: 10.1111/j.1440-1746.2009.05979.x.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

25.Baghaei K, Shokrzadeh L, Jafari F, Dabiri H, Yamaoka Y, Bolfion M, et al. Determination of Helicobacter pylori virulence by analysis of the cag pathogenicity island isolated from Iranian patients. Dig Liver Dis2009;41:634-8. doi: 10.1016/j.dld.2009.01.010.

26.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 Gastroenterol2013;19:5685-92. doi: 10.3748/wjg.v19.i34.5685.

27.Miehlke S, Kirsch C, Aghaamiri K, Gunther T, Lehn N, Malfertheiner P, et al. The Helicobacter pylori vacA s1, m1 genotype and cagA is associated with gastric carcinoma in Germany. Int J Cancer2000;87:322-7.

28.Erzin Y, Koksal V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Role of host interleukin 1β gene (IL-1B) and interleukin 1 receptor antagonist gene IL-1RN polymorphisms in clinical outcomes in Helicobacter pylori-positive Turkish patients with dyspepsia. J Gastroenterol2008;43:705-10. doi: 10.1007/s00535-008-2220-7.

29.Azevedo M, Eriksson S, Mendes N, Serpa J, Figueiredo C, Resende L, et al. Infection by Helicobacter pylori expressing the BabA adhesin is influenced by the secretor phenotype. The J Pathol 2008;215:308-16. doi: 10.1002/path.2363.

30.Yamaoka Y, Kwon DH, Graham DY. A M(r) 34,000 proinflammatory outer membrane protein oipAof Helicobacter pylori. Proce Nat Acad Sci2000;97:7533-8. doi: 10.1073/pnas.130079797.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]

Effects of Pathogenesis Outcomes on Adherence Rate and Gene Toxicity in Helicobacter pylori

Fazeli Z [1], Alebouyeh M [2,3], Rezaeitavirani M[1], Rezazali M[3]*

(Received: February 7, 2017 Accepted: August 14, 2017)

Abstract

Introduction: The clinical outcome of Helicobacter pylori in the infected patients depends on the genetic diversity of H. pylori strains. Colonization and adherence on cell host is the first step of the bacteria pathogenesis. This study was aimed to understand the role of pathogenesis factors of H. pylori strains and adherence rate of these strains on AGS cell line, as well as exploring the association between these rates with bacteria pathogenesis outcomes.

Materials & Methods: This study was conducted on genes, including iceA, cagA, babA, vacA, and cag-PAI in clinical strains of H. pylori with different pathogenesis outcomes through polymerase chain reaction (PCR) analysis using specific primers. Moreover, the adherence assay was performed on AGS for exploring the association between adherence rate and pathogenesis outcomes in infected patients.

Findings: The analysis of PCR results indicated that in strains with severe diseases outcomes all the investigated genes were present, while in strain with moderate outcome only adherence genes were present. Furthermore, the results of adherence analysis were indicative of the difference among these strains. Accordingly, two strains with severe pathogens outcomes had the highest rate of colonization. Minimum colonization rate and moderate pathogenesis outcome were observed in other strains, although adherence genes present.

Discussion & Conclusions: According to the results of the current study, it can be concluded that different genes are contributing to bacterial adherence on host cells, meaning that the presence or absence of one or two of these genes may not affect its adherence to host cells. Furthermore, adherence genes along with oncogens cause severe clinical outcomes in infected patients.

Keywords: Helicobacter pylori, Adherence rate, Pathogenesis

1. Proteomics Research Center, Faculty of Paramedical Sciences, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2. Foodborne and Waterborne Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
3. Gastroenterology and Liver Diseases Research Center, Research Institute for Gastroenterology and Liver Diseases, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
** Corresponding author Email: masoud.alebouyeh@gmail.com & rezaei.tavirani@ibb.ut.ac.ir*

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2026-11-10]

[DOI: 10.29252/sjimu.26.5.51]