مقاله پژوهشی

شیوع ژن‌های babB, babA2, oipA در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جداشده از مبتلایان به علائم گوارشی

مرتضی میلانی[۱]، محمدحسین صومی[۲]، ابوالفضل اکبرزاده[۳]*

تاریخ دریافت ۱۳۹۶/۱۱/۱۹ تاریخ پذیرش ۱۳۹۷/۰۲/۰۶

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری باسیل گرم منفی و میکروائروفیل و یکی از شایع‌ترین عوامل عفونت انسان می‌باشد. این باکتری با بیماری‌های مختلفی ارتباط دارد و با داشتن فاکتورهای بیماری‌زای مانند توکسین‌ها و عوامل چسبندگی به سلول‌های اپیتلیال معده متصل می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی و ردیابی ژن‌های $babA_2$, babB, oipA در سویه‌های جداشده از نمونه بیوپسی معده مراجعین به بخش آندوسکوپی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه ۳۴۰ نمونه بیوپسی اخذشده از بیماران در محیط کشت بروسلا آگار کشت شد و تعداد ۱۳۰ سویه هلیکوباکترپیلوری ایزوله گردید. نمونه‌برداری از بیماران در طی سال ۱۳۵۹ انجام شد. با استفاده از روش CTAB استخراج DNA باکتری‌ها انجام شد. با استفاده از روش PCR ژن glmM ردیابی شد و جهت تأیید تعیین هویت باکتری از این ژن استفاده شد و سپس ژن‌های $babA_2$, babB, oipA نیز به کمک روش PCR در نمونه‌های DNA استخراج‌شده از باکتری‌ها ردیابی شدند.

یافته‌ها: از مجموع ۳۴۰ نمونه بیوپسی ۱۳۰ سویه به تفکیک از (۶۸ مرد و ۶۲ زن) و (۲۱ مورد PUD و ۱۰۹ مورد NUD) جدا شد. شیوع ژن‌های $babA_2$, babB و oipA به ترتیب ۶۲/۳، ۷۳/۸ و ۵۴/۶ درصد بود. آنالیز آماری نشان داد که در بیماران مبتلا به PUD به ترتیب ژن‌های $babA_2$، babB و oipA دارای شیوع ۱۳/۱، ۱۰/۸ و ۶/۹ درصد بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: به‌طورکلی آنالیز اطلاعات ما نشان داد که ۱۳ درصد سویه‌های جداشده از موارد PUD و ۸۷ درصد از موارد NUD دارای هر سه ژن (babA2, babB, oipA) بودند و ژن oipA ارتباط معنی‌داری با ایجاد علائم بالینی داشت ($P < 0.05$).

کلیدواژه‌ها: هلیکوباکتر پیلوری، PUD, NUD

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و نهم، شماره چهارم، ص ۲۶۳-۲۵۵، تیر ۱۳۹۷

آدرس مکاتبه: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، دانشکده علوم نوین پزشکی تبریز، گروه نانو فناوری پزشکی، تلفن: ۰۹۱۴۳۷۲۱۴۱۱

Email: akbaezadehab@tbz.med.ac.ir

مقدمه

عفونت هلیکوباکتر پیلوری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های باکتریایی در انسان می‌باشد، به‌طوری‌که بیش از ۵۰ درصد جمعیت جهان به این باکتری آلوده هستند. عفونت به این باکتری عموماً در دوران کودکی کسب می‌شود و در صورت عدم درمان برای تمام عمر باقی می‌ماند. در کشورهای توسعه‌یافته حدود ۱۰ درصد کودکان تا سن ۱۵ سالگی آلوده می‌شوند و با افزایش سن به ۶۰ سالگی این میزان به ۷۰-۶۰ درصد می‌رسد، درحالی‌که در کشورهای توسعه‌نیافته این میزان در نوجوانان به بیش از ۸۰ درصد می‌رسد (۱). انسان تنها میزبان این باکتری محسوب می‌شود و عفونت عمدتاً از راه مدفوعی- دهانی منتقل می‌شود. هلیکوباکتر پیلوری با توانایی تولید آمونیاک و خنثی کردن اسید معده، به‌طور طبیعی در موکوس معده ساکن می‌شود. این باکتری اگرچه معمولاً به شکل مارپیچی است، ولی در صورت قرار گرفتن در شرایط آزمایشگاهی و یا در معرض آنتی‌بیوتیک‌ها به شکل کوکوئید و غیرقابل کشت تبدیل می‌شود (۲). هلیکوباکتر پیلوری یک میکروارگانیسم سخت رشد است و برای رشد نیاز به محیط‌های کشت پیچیده‌ای دارد. به‌طوری‌که در شرایط میکروآئروفیلیک، اکسیژن کاهش یافته ۵-۲

[۱] دانشیار باکتری شناسی پزشکی، مرکز تحقیقات عفونی گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۲] استاد، فوق تخصص گوارش بالغین، مرکز تحقیقات و گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران

[۳] دانشیار شیمی دارویی، گروه نانوفناوری پزشکی، دانشکده علوم نوین پزشکی تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران (نویسنده مسئول)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

درصد، دی‌اکسید کربن ۱۰-۵ درصد، دمای ۳۷ ^{o}C و رطوبت بالا رشد می‌نماید (۳). محیط کشت آگار حاوی مکمل‌های رشد مانند خون، سرم و آنتی‌بیوتیک (ونکومایسین، تریمتوپریم، آمفوتریسین B) جهت کشت باکتری استفاده می‌شود. ازنظر اتیولوژیکی هلیکوباکتر پیلوری با گاستریت مزمن فعال، زخم دئودنال، زخم معده، MALT (سرطان بافت لنفاوی لایه موکوسی معده) و آدنوکارسینوما ارتباط دارد. به‌طوری‌که تخمین زده می‌شود که در ۲۰-۱۰ درصد جمعیت آلوده، بیماری زخم پپتیک توسعه یابد (۴). ۲-۱ درصد از افراد آلوده مبتلا به آدنوکارسینوم می‌شوند، و کم‌تر از ۱ درصد این افراد دچار MALT می‌شوند. عفونت به این باکتری با ۷۰-۶۰ درصد از کل سرطان‌های معده و ۵/۵ درصد از کل سرطان‌ها در سراسر جهان مرتبط است. به همین خاطر سازمان جهانی بهداشت در سال ۱۹۹۴ این باکتری را به‌عنوان کارسینوژن تیپ یک طبقه‌بندی کرد و اخیراً به‌عنوان تنها باکتری کارسینوژن مطرح است(۵). بیماری زخم معده یا دئودنال یا PUD: زخم معده به‌عنوان نقص موکوسی باوجود سوراخ موکوسی حداقل نیم سانتی‌متری تعریف می‌شود. زخم‌های معده عمدتاً در امتداد انحنای معده، به‌ویژه در حالت انتقال از قسمت کورپوس به آنتروم رخ می‌دهد. زخم‌های دئودنال معمولاً در بولب دئودنال (فضایی که بیشتر در معرض اسید معده قرار دارد) رخ می‌دهند. زخم دئودنال در سنین ۲۰ تا ۵۰ سالگی اتفاق می‌افتد، درصورتی‌که زخم معده بیشتر در سنین بالاتر از ۴۰ سال رخ می‌دهد. طبق تعریف به وجود علائم دیسترس دستگاه معده‌ای- روده‌ای فوقانی بدون وجود هرگونه ساختار غیرطبیعی در مشاهدات آندوسکوپی Non-ulcer dyspepsia گویند.

این باکتری در داخل لایه موکوسی معده زندگی می‌کند و به سلول‌های اپیتلیال معده اتصال می‌یابد. در ارتباط با چسبندگی باکتری به سلول‌های میزبان حداقل پنج فاکتور چسبندگی شناسایی شده‌اند که شامل babA, sabA, alpA, alpB, hopZ می‌باشند. از بین این فاکتورها، babA بیشتر از همه مورد مطالعه قرار گرفته است و احتمالاً در اتصال به آنتی‌ژن‌های گروه خونی لوئیس نقش دارد (۶). این آنتی‌ژن‌ها در سطح سلول‌های اپی تلیال معده وجود دارند. پروتئین OipA یکی دیگر از اعضاء خانواده پروتئین Hop است که به‌عنوان فاکتور چسبندگی عمل می‌کند. ژن کد کننده آن در تمام سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد، اما بیان آن به‌وسیله تنوع مرحله‌ای ناحیه 5′ oipA تنظیم می‌شود. بیان این ژن ارتباط قوی با بیان اینترلوکین ۸ دارد (۷). چون این ژن اخیراً کشف شده است، فعلاً اطلاعات زیادی در مورد آن در دست نیست. SabA اتصال باکتری به سیالیک اسید حاوی گلیکوکونژوگه را واسطه‌گری می‌کند. تحریک التهاب و سرطان معده توسط باکتری در ارتباط با جایگزینی آنتی‌ژن‌های لوئیس غیر سیالیله، با Lex وLea سیالیله است. بنابراین احتمالاً SabA در طی بیماری آتروفی و التهاب مزمن نقش دارد. همچنین گرانولوسیت‌های انسان در سطح خود حامل کربوهیدرات‌های سیالیله می‌باشند. درنتیجه این سلول‌ها نیز توسط SabA شناسایی می‌شوند. به نظر می‌رسد که SabA در اتصال باکتری به پروتئین ماتریکس لامینین نیز نقش دارد (۸).

مواد و روش‌ها

سویه‌های باکتریایی: این طرح در کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تبریز با کد اخلاقی مورد تصویب قرار گرفت (۵/۴/۹۵۹۱) و با تکمیل فرم رضایت توسط بیمار، نمونه بیوپسی بیمارانی که دارای علائم گاستریت، زخم دئودنال، زخم معده و رفلکس گاستروازوفاژیال بودند و در دو هفته اخیر هیچ آنتی‌بیوتیکی دریافت نکرده بودند، دریافت شد. در این مطالعه با کشت ۳۴۰ نمونه بیوپسی اخذشده از بیماران مراجعه‌کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امام رضا (ع) تبریز تعداد ۱۳۰ سویه هلیکوباکترپیلوری ایزوله شد. نمونه‌های بیوپسی معده بیماران بلافاصله بعد از آندوسکوپی به محیط کشت استوارت (مرک-آلمان) منتقل‌شده و به آزمایشگاه ارسال گردید. در آزمایشگاه میکروب‌شناسی نمونه‌های بیوپسی در شرایط کاملاً استریل به شکل هموژن درآمده و در محیط کشت بروسلا آگار (پرونادیسا- اسپانیا) حاوی ۵ درصد خون گوسفند، سرم گاو و آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین، تریمتوپریم و آمفوتریسین B (سیگما الدریچ- امریکا) کشت‌شده و در شرایط میکروآئروفیل (۵٪ O2, 10% CO2, 85% N2) و رطوبت بالا و دمای ۳۷ ^{o}C به مدت ۷-۵ روز انکوبه شدند. پلیت‌هایی که دارای کلنی‌های رشد یافته بودند به‌دقت بررسی شده و تعیین هویت سویه‌های هلیکوباکترپیلوری با انجام رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز، اکسیداز و اوره آز تأیید شد (۹). برای به دست آوردن کلنی‌های خالص باکتری، سویه‌های هلیکوباکترپیلوری در محیط کشت بروسلا آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند کشت مجدد شدند و بعد از ۳ روز انکوباسیون مقدار قابل‌توجهی از کلنی‌های هلیکوباکترپیلوری رشد یافته در سطح محیط کشت جمع شد و برای انجام کارهای بعدی در داخل میکروتیوب‌های حاوی بافر PBS منتقل شد.

استخراج DNA باکتری‌های جداشده: برای این منظور از روش CTAB استفاده شد(۱۰). به این صورت که ابتدا میکروتیوب حاوی باکتری و آب دیونیزه در دور ۱۰۰۰۰به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی آن دور ریخته شد و مقدار ۲۷۰ میکرولیتر بافر تریس به‌اضافه ۳۰ میکرولیتر سدیم دودسیل سولفات ۱۰درصد و ۵ میکرولیتر پروتئیناز کا روی پلت ریخته شد و تا یک شبانه‌روز در دمای ۵۰ ^{o}C انکوبه شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر کلرید سدیم ۵ مولار به داخل محتویات میکروتیوب اضافه گردید و خوب ورتکس

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

شد. حدود ۸۰ میکرولیتر CTAB/NaCl افزوده شد و بعد از ورتکس کردن به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۶۵ درجه انکوبه شد. در مرحله بعدی ۷۰۰ میکرولیتر ایزوآمیل الکل/ کلروفرم به آن اضافه شد و بعد از ورتکس، به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. فاز آبی تشکیل شده با دقت به یک میکروتیوب جدید منتقل شد. حدود ۲۵۰ میکرولیتر ایزوپروپانل به آن افزوده و خوب ورتکس کرده و ۱۰ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ کرده و مایع رویی را دور ریخته و پلت تشکیل شده مجدداً در اتانول ۷۰درصد حل گردید. سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد. مایع رویی دور ریخته شد و پلت حاصل در ۵۰ میکرولیتر بافر تریس حل شد. بعد از یک شبانه‌روز انکوباسیون در دمای یخچال میکروتیوب حاوی مقادیر مناسب DNA بوده و برای آزمایش‌های ژنوتایپی آماده بود.

آزمایش PCR: بعد از آماده کردن ماستر میکس مطابق برنامه زمان‌بندی‌شده جدول شماره ۱ واکنش PCR انجام شد. در این مطالعه ابتدا برای تأیید وجود DNA مربوط به هلیکوباکتر پیلوری در نمونه‌های استخراج‌شده، با استفاده از پرایمر اختصاصی مربوط به ژن glmM تست PCR انجام شد و قطعه ۲۹۴ بازی آمپلی فای شد. سپس با استفاده از جفت پرایمرهای اختصاصی ژن‌های $babA_2$, babB, oipA آمپلی فای شدند.

جدول (۱): برنامه زمان‌بندی‌شده واکنش PCR

منابع	سایز قطعه (bp)	توالی پرایمرها	دمای جوش خوردن	ژن‌های مورد آزمایش
(11)	۲۹۴	F: GGATAAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGG R: GCTTACTTTCTAACACTAACGCGC	ºC۵۸	glmM
(12)	۴۹۶	F: ATGAAAAAAACCCTTTTAC R: CGAATTGCAAGTGATGGT	ºC۴۰	babB
(13)	۲۷۱	F: CCAAACGAAACAAAAAGCGT R: GCTTGTGTAAAAGCCGTCGT	ºC۴۵	babA2
(12)	۴۰۱	F: GTTTTTGATGCATGGGATTT R: GTGCATCTCTTATGGCTTT	ºC۵۶	oipA

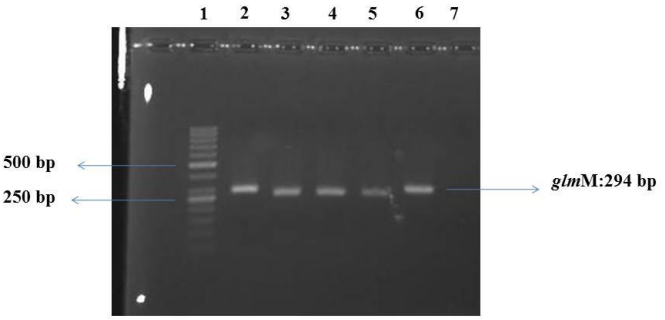
توضیح: برای تمامی واکنش‌ها شرایط یکسان انکوباسیون اولیه ºC ۹۴/ سه دقیقه، واسرشت ºC ۹۴ / یک دقیقه، طویل سازی ºC ۷۲ / یک دقیقه و انکوباسیون انتهایی ºC ۷۲ / سه دقیقه اعمال شد.

آنالیز آماری: اطلاعات به‌دست‌آمده در این مطالعه، با استفاده از برنامه آماری.SPSS 16 و آزمون کای اسکوئر مورد آنالیز قرار گرفت. همچنین میزان همبستگی بین ژن‌های مورد آزمایش و علائم بالینی و مشاهدات آندوسکوپی با استفاده از آزمون کای دو و فیشر مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت. سطح معنی‌داری با ($P < 0.05$) در نظر گرفته شد.

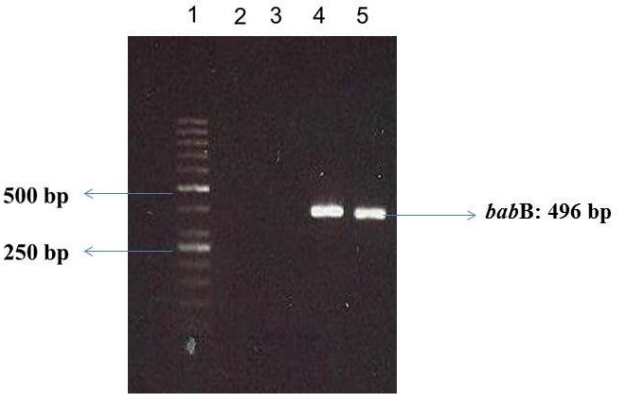
یافته‌ها

در این مطالعه از مجموع تعداد ۳۴۰ نمونه بیوپسی کشت‌شده در محیط‌های اختصاصی ۱۳۰ سویه هلیکوباکتر پیلوری جدا و تعیین هویت شد. این سویه‌ها به تفکیک از ۶۸ مرد و ۶۲ زن جدا شدند. در مشاهدات آندوسکوپی مراجعین به بخش، نیز ۲۱ مورد دارای علائم PUD و ۱۰۹ مورد دارای علائم NUD به ثبت رسید. علائم بالینی بیماران به تفکیک سن و جنس مورد آنالیز آماری قرار گرفت که اطلاعات آن در جدول شماره دو دیده می‌شود. همچنین به‌وسیله واکنش PCR ژن‌های $babA_2$, babB و oipA در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری ردیابی شدند که به ترتیب در ۶۲/۳، ۷۳/۸ و ۵۴/۶ درصد موارد مثبت بودند (اشکال شماره ۱ تا ۴).

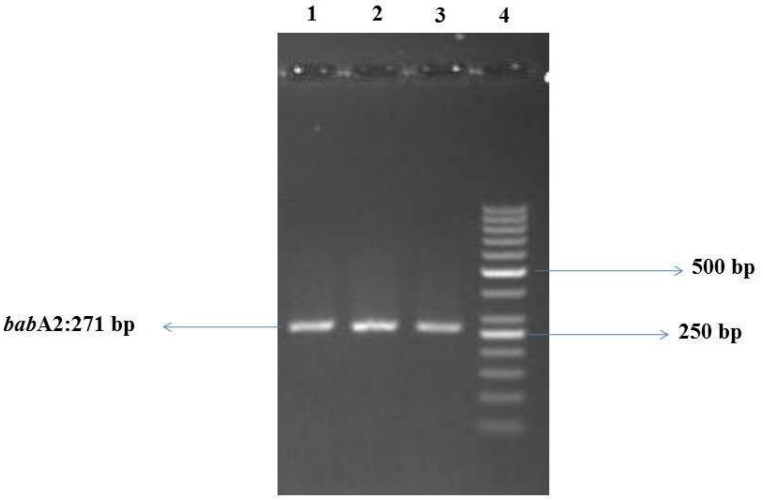
[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]



شکل (۱): الکتروفورز محصول PCR: ردیف ۱ سایز مارکر، ردیف‌های ۲ تا ۶ ن
مونه‌های دارای ژن glmM و ردیف ۷ کنترل منفی

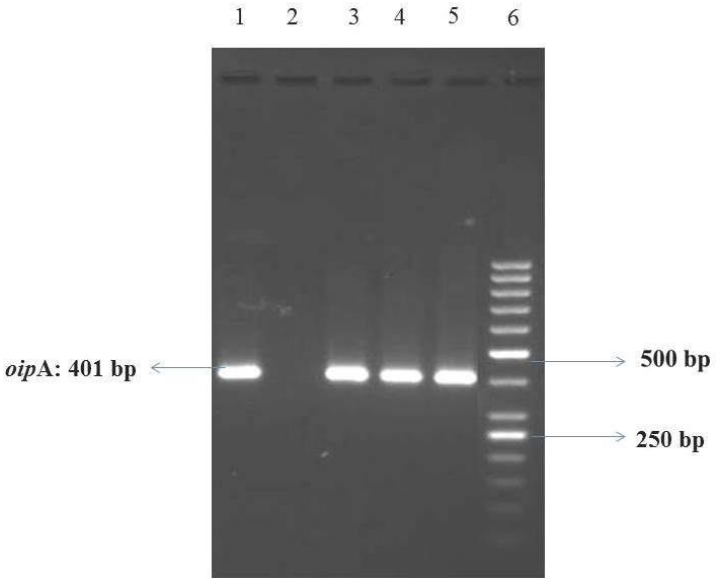


شکل (۲): الکتروفورز محصول PCR: ردیف‌های ۱، ۳، ۴، ۵ نمونه‌های دارای ژن babB،
ردیف ۲ کنترل منفی و ردیف ۶ سایز مارکر



شکل (۳): الکتروفورز محصول PCR: ردیف‌های ۱ تا ۳ نمونه‌های دارای
ژن babA2، ردیف ۴ سایز مارکر

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]



شکل (۴): الکتروفورز محصول PCR: ردیف‌های ۱، ۳، ۴، ۵ نمونه‌های دارای ژن oipA، ردیف ۲ کنترل منفی و ردیف ۶ سایز مارکر

بر اساس وجود این ژن‌ها در سویه‌های باکتری و علائم بالینی مشاهده‌شده در آندوسکوپی آنالیز آماری انجام شد و نشان داد که در بیماران مبتلا به PUD به ترتیب ژن‌های $babA_2$، babB و oipA دارای شیوع ۱۳/۱، ۱۰/۸ و ۶/۹ درصد بودند (جدول ۳).

جدول (۲): علائم بالینی بیماران بر اساس سن و جنس

مشخصات بیماران		علائم بالینی بیماران		
		NUD [n (%)]	PUD [n (%)]	کل
سن	<۲۰	۲۷(۲۰/۸)	۲ (۱/۵)	۲۹
	۲۱-۴۰	۳۴ (۲۶/۲)	۱۰ (۷/۷)	۴۴
	۴۱-۶۰	۳۶ (۲۷/۷)	۷ (۵/۴)	۴۳
	>۶۰	۱۲ (۹/۲)	۲ (۱/۵)	۱۴
جنس	زن	۵۳(۴۰/۸)	۹(۶/۹)	۶۲
	مرد	۵۶(۴۳/۴)	۱۲(۹/۳)	۶۸
کل		۱۰۹	۲۱	۱۳۰

جدول (۳): شیوع ژن‌های مورد آزمایش در سویه‌های جداشده از بیماران دارای علائم PUD و NUD

ژن‌ها		وضعیت بیماری		کل	ارتباط آماری
		NUD [n (%)]	PUD [n (%)]		
babB	مثبت	۶۷(۵۱/۵)	۱۴(۱۰/۸)	۸۱(۶۲/۳)	(P = 0.07)
	منفی	۴۲(۳۲/۳)	۷(۵/۴)	۴۹(۳۷/۷)	
babA2	مثبت	۷۹(۶۰/۸)	۱۷(۱۳/۱)	۹۶(۷۳/۸)	(P = 0.1)
	منفی	۳۰(۲۳/۱)	۴(۳/۱)	۳۴(۲۶/۱)	
oipA	مثبت	۶۲(۴۷/۷)	۹(۶/۹)	۷۱(۵۴/۶)	((P <0.05
	منفی	۴۷(۳۶/۲)	۱۲(۹/۲)	۵۹(۴۵/۴)	

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت هلیکوباکتر پیلوری در انسان تحت تأثیر چند فاکتور شامل فاکتورهای میزبانی و باکتری قرار دارد. در بین فاکتورهای باکتری، ژنوتایپ‌های مختلف هلیکوباکتر پیلوری در سیر بیماری دخالت دارند. ما در این مطالعه شیوع ژن‌های مرتبط با فاکتورهای چسبندگی و ویرولانس فاکتورها در ارتباط با علائم بالینی بیماران را بررسی کردیم. تابه‌حال چهار تیپ آللی bab شامل babA1, babA2, babB, babC توصیف شده‌اند. از بین این‌ها فقط محصول ژن babA2 برای اتصال باکتری به گیرنده‌های لوئیس ضروری است (۱۴). تابه‌حال مطالعات زیادی ارتباط بین این ژن و بیماری PUD را اثبات کرده‌اند. در یک مطالعه متا آنالیز ارتباط بین این ویرولانس فاکتور با ریسک ابتلا به PUD و DU قویاً مطرح‌شده است. در طول سال‌های گذشته درک دانشمندان از نقش هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد بیماری معده‌ای- روده‌ای افزایش یافته و دانشمندان به این باور رسیده‌اند که ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری زمینه‌ساز توسعه و ایجاد بیماری PUD شامل زخم معده و زخم دئودنال است(۱۵). در مطالعه ما، بالاترین میزان ابتلا به PUD در رده سنی ۴۰-۲۱ سال با شیوع ۷/۷درصد و در جنس‌های مختلف (مردان ۹/۳درصد و زنان ۶/۹درصد) دیده شد. البته ازنظر آماری اختلاف معنی‌داری بین رده‌های مختلف سنی و بین جنس بیماران با ابتلا به بیماری PUD مشاهده نگردید ($P > 0.05$). نتایج این تحقیق نشان داد که ۷۳/۸درصد باکتری‌های جداشده، دارای ژن babA2 بودند و در ۱۳/۱درصد موارد این سویه‌ها از بیماران مبتلا به PUD جدا شدند. این یافته با نتایج حاصل از مطالعه دبیری و همکاران (۱۶) که شیوع ژن babA2 را ۷۸درصد گزارش کرده‌اند، مطابقت دارد. اما در تحقیقی که در شهر اردبیل انجام شده است، شیوع ۲۶/۵ درصدی گزارش شده است (۱۷). همچنین در مطالعات جداگانه از کشورهای سوئیس و مکزیک شیوع این ژن به ترتیب ۴۷/۹ و ۲۹/۳درصد ذکر شده است که با نتایج ما متفاوت است. این تفاوت احتمالاً به دلیل اختلاف منطقه جغرافیایی و جمعیت موردمطالعه می‌باشد(۱۸، ۱۹). در این مطالعه علاوه بر ژن babA2 شیوع ژن babB نیز بررسی شد و نتایج حاصل نشان داد که شیوع ژن babB در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جداشده در این منطقه، ۶۲/۳درصد بود که به تفکیک ۱۰/۸درصد موارد، از نمونه‌های بیوپسی معده افراد مبتلا به PUD و ۵۱/۵درصد از مبتلایان به NUD به دست آمد. در دو مطالعه جداگانه از تهران که توسط کاشانی و دبیری انجام شده، نتایج متفاوتی به دست آمده است. به‌طوری‌که شیوع ژن babB در مطالعه کاشانی و همکاران در مبتلایان به PUD و NUD به ترتیب ۹۱/۷ و ۷۷/۳درصد گزارش شده است (۲۰) ولی در تحقیق دبیری و همکاران این ژن از تمام موارد بیماری ۲۸درصد گزارش شده است(۱۶). مقایسه نتایج حاصل از این مطالعات با یافته‌های ما نشان می‌دهد که شیوع این ژن دارای پراکندگی جغرافیایی متنوع می‌باشد. ژن oipA کد کننده یک پروتئین التهابی خارج سلولی بوده و به‌عنوان ویرولانس فاکتور باکتری محسوب می‌شود. در این مطالعه سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری ازنظر داشتن ژن مذکور مورد آزمایش قرار گرفتند. با بررسی سایر مطالعات انجام شده در این خصوص و مقایسه آن با نتایج مطالعه ما، یافته‌های جالبی به دست آمد. ژن oipA با فراوانی ۷۱/۵۴درصد در مطالعه سعود و همکاران به ثبت رسیده است بدون اینکه ارتباط معنی‌داری با آسیب معده‌ای یافت شود(۲۱). در مطالعه‌ای از کشور تونس نیز میزان شیوع ژن oipA حدود ۹۰/۸درصد گزارش شده است(۲۲). در مطالعه دیگری از کوئروگا و همکاران در کشور اسپانیا این ژن در ۷۴درصد موارد مثبت بود (۲۳). دبیری و همکاران شیوع این ژن را ۵۵درصد گزارش کرده‌اند که به تفکیک در موارد PUD و NUD به ترتیب ۵۵ و۶۱درصد بود(۱۶). فراوانی ژن iopA در مطالعه ما نیز دقیقاً مانند نتایج دبیری به ثبت رسید به‌طوری‌که ۵۵درصد سویه‌های مورد آزمایش ما در این تحقیق دارای این ژن بودند. آنالیز آماری نتایج مطالعه ما نشانگر وجود ارتباط معنی‌داری بین این ژن و علائم بالینی بود($P < 0.05$) . بر اساس تحقیق دیگری از دبیری و همکاران ژن oipA در سویه‌های جداشده از نژادهای مختلف ایرانی بین ۳۳ تا ۱۰۰درصد متغیر بود (۲۴). این یافته تنوع فراوانی ژن مذکور را در مناطق جغرافیایی و نژادهای مختلف اثبات می‌کند و مؤید یافته‌های مطالعه ما است. به‌طورکلی آنالیز اطلاعات ما نشان داد که ۱۳درصد سویه‌های جداشده از موارد PUD و ۸۷درصد از موارد NUD دارای هر سه ژن (babA2, babB, oipA) بودند. درنهایت ما نشان دادیم، بااینکه ژن‌های babA2 و babB به‌طور قابل‌توجهی از موارد PUD جدا شدند، ارتباط معنی‌داری بین ژن oipA و بیماری PUD در این منطقه وجود دارد($P < 0.05$) . با توجه به زمان‌بر بودن و سخت رشد بودن باکتری پیشنهاد می‌شود که با راه‌اندازی روش‌های مولکولی دقیق ژن‌های موردنظر در نمونه‌های مستقیم بیوپسی بدون نیاز به کشت باکتری، ردیابی شوند. از محدودیت‌های این مطالعه عدم دسترسی به اطلاعات پاتولوژیکی بود. لذا پیشنهاد می‌شود که مشاهدات و گزارشات پاتولوژیکی به‌دست‌آمده از آزمایشگاه‌های پاتولوژی در کنار نتایج کشت و ردیابی ژن‌ها تفسیر شوند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند که از کارکنان بخش آندوسکوپی بیمارستان امام رضا (ع) و مرکز تحقیقات گوارش و کبد به خاطر همکاری در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی نمایند.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

References:

1. Milani M, Ghotaslou R, Somi MH, Rafeey M, Akhi MT, Nahaei MR, et al. The status of antimicrobial resistance of Helicobacter pylori in Eastern Azerbaijan, Iran: comparative study according to demographics. J Infect Chemother 2012;18(6): 848-52.
2. Milani M, Ghotaslou R, Akhi MT, Hejazi MS, Nahaei MR, Hasani A, et al. Relationship Between Drug Resistance and cagA Gene in Helicobacter pylori. Jundishapur J Microbiol 2013;6(10): 1-5.
3. Megraud F. H pylori antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut. 2004;53(9): 1374-84.
4. Rafeey M, Ghotaslou R, Milani M, Farokhi N, Ghojazadeh M. Association between Helicobacter pylori, cagA, and vacA status and clinical presentation in Iranian children. Iran J Pediatrics 2013;23(5): 551.
5. Megraud F, Lamouliatte H. Review article: the treatment of refractory Helicobacter pylori infection. Aliment Pharm Ther 2003;17(11): 1333-43.
6. Asl SF, Pourvahedi M, Mojtahedi A, Shenagari M. Analysis of babA, cagE and cagA genes in Helicobacter pylori from upper gastric patients in the north of Iran. Infect Disord Drug Targets 2018;
7. Odenbreit S, Swoboda K, Barwig I, Ruhl S, Borén T, Koletzko S, et al. Outer membrane protein expression profile in Helicobacter pylori clinical isolates. Infection Immunity 2009;77(9): 3782-90.
8. Benktander J, Barone A, Johansson MM, Teneberg S. Helicobacter pylori SabA binding gangliosides of human stomach. Virulence 2018;9(1): 738-51.
9. McNulty C, Owen R, Tompkins D, Hawtin P, McColl K, Price A, et al. Helicobacter pylori susceptibility testing by disc diffusion. **J** Antimicrob Chemother 2002;49(4): 601-9.
10. Sambrook J, Russell DW. Molecular cloning: a laboratory manual. CSHL Press; 2001.
11. Ghotaslou R, Milani M, Akhi MT, Nahaei MR, Hasani A, Hejazi MS, et al. Diversity of Helicobacter pylori cagA and vacA genes and its relationship with clinical outcomes in Azerbaijan, Iran. Adv Pharm Bull 2013;3(1): 57-62.
12. Kauser F, Hussain MA, Ahmed I, Ahmad N, Habeeb A, Khan AA, et al. Comparing genomes of Helicobacter pylori strains from the high-altitude desert of Ladakh, India. J Clin Microbiol 2005;43(4): 1538-45.
13. Chomvarin C, Namwat W, Chaicumpar K, Mairiang P ,Sangchan A, Sripa B, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA and babA2 genotypes in Thai dyspeptic patients. Int J Infect Dis 2008;12(1): 30-6.
14. Yamaoka Y. Roles of Helicobacter pylori BabA in gastroduodenal pathogenesis. World J Gastroenterol 2008;14(27): 4265-72.
15. Chen M-Y, He C-Y, Meng X, Yuan Y. Association of Helicobacter pylori babA2 with peptic ulcer disease and gastric cancer. World J Gastroenterol 2013;19(26): 4242-51.
16. Dabiri H, Jafari F, Baghaei K, Shokrzadeh L, Abdi S, Pourhoseingholi MA, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, oipA, iceA, babA2 and babB genotypes in Iranian dyspeptic patients. Microbial Pathogenesis 2017;105: 226-30.
17. Abdi E, Latifi-Navid S, Yazdanbod A, Zahri S. Helicobacter pylori babA2 Positivity Predicts Risk of Gastric Cancer in Ardabil, a Very High-Risk Area in Iran. APJCP 2015;17(2): 733-8.
18. Homan M, Šterbenc A, Kocjan BJ, Luzar B, Zidar N , Poljak M. Prevalence of the Helicobacter pylori

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

babA2 gene and correlation with the degree of gastritis in infected Slovenian children. Antonie Van Leeuwenhoek 2014;106(4): 637-45.

19. Román-Román A, Martínez-Carrillo DN, Atrisco-Morales J, Azúcar-Heziquio JC, Cuevas-Caballero AS, Castañón-Sánchez CA, et al. Helicobacter pylori vacA s1m1 genotype but not cagA or babA2 increase the risk of ulcer and gastric cancer in patients from Southern Mexico. Gut Pathog 2017;9:18.
20. Kashani SS, Douraghi M, Talebkhan Y, Bababeik M, Esmaeili M, Mohammadi M. Relationship between Helicobacter pylori BabA and BabB status with other virulence factors and their correlation with disease outcome in Iran. Int J Infect Dis 2008;12: e214.
21. Souod N, Sarshar M, Dabiri H, Momtaz H, Kargar M, Mohammadzadeh A, et al. The study of the oipA and dupA genes in Helicobacter pylori strains and their relationship with different gastroduodenal diseases. Gastroenterol Hepatol Bed Bench 2015;8(Suppl 1):S47-53.
22. Ben Mansour K, Fendri C, Zribi M, Masmoudi A, Labbene M, Fillali A, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, iceA and oipA genotypes in Tunisian patients. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2010;9:10.
23. Quiroga AJ, Diana Marcela C, Bravo MM. BabA2, oipA and cagE Helicobacter pylori genotypes in Colombian patients with gastroduodenal diseases. Biomedica 2005;25(3): 325-34.
24. 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): 1380-6.

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]

Original Article

PREVALENCE OF HELICOBACTER PYLORI BABA2, BABB AND OIPA GENOTYPES IN DYSPEPTIC PATIENTS

Morteza Milani[1], Mohammad H. Somi[2], Abolfazl Akbarzadeh[3]*

Received: 09 Feb, 2018; Accepted: 26 Apr, 2018

Abstract

***Background & Aims*:** Helicobacter pylori is a microaerophilic gram negative bacillus which is one of the most common human infections. This bacterium is associated with various diseases and having multiple virulence genes such as toxins and adhesion factors. Several adhesion factors of bacteria involved in binding to the gastric epithelial cell and cause infection. The purposes of this study were to assess the babA2, babB and oipA genes to H. pylori isolated from Imam Reza Hospital of Tabriz**.**

***Materials & Methods*:** Biopsy specimens obtained from 340 patients (During the year 2016) were cultured on Brucella agar and 130 H. pylori isolates were collected. Genomic DNA of total H. pylori isolates was extracted by using CTAB method. PCR reaction was performed on glmM gene for the confirmation of H. pylori. The presence of the babA2, babB, oipA genes were determined by PCR method.

***Results*:** The prevalence of babA2, babB and oipA genes was positive in 62.3%, 73.8% and 54.6%, respectively. The endoscopic observations indicated 21 PUD and 109 NUD cases of total 130 isolations. These findings showed that the prevalence of the babA2, babB and oipA genes in PUD patients were 13.1%, 10.8% and 6.9%, respectively.

***Conclusion*:** Our findings showed that the prevalence of all three genes of babA2, babB and oipA in NUD patients is more than PUD patients. The oipA gene has a significant relation in developed clinical outcomes.

Address: Department of Medical Nanotechnology, School of Advanced Medical Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran
Tel: + 989143721411
Email: akbaezadehab@tbz.med.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2018: 29(4): 263 ISSN: 1027-3727

[1] Associate Professor, Infectious and Tropical Diseases Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[2] Professor, Liver and Gastrointestinal Disease Research Center, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran
[3] Associate Professor, Department of Medical Nanotechnology, School of Advanced Medical Science, Tabriz University of Medical Science, Tabriz, Iran (Corresponding Author)

[Downloaded from umj.umsu.ac.ir on 2024-08-10]