● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل، دوره دهم، شمارهٔ ۱، فروردین - اردیبهشت ۱۳۸۷، صفحه ۵۳-۴۶

فراوانی ژن cagA و iceA در سویه های هلیکوباکترپیلوری جدا شده از افراد مبتلا به بیماری های گاسترودئودنال در شهرستان بابل

جواد شکری شیروانی[*1]، رمضان رجب نیا[2]، فاطمه توحیدی[3]، مهدی آسمار[4]، حسن طاهری[1]

۱- استادیار گروه داخلی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۲- استادیار گروه میکروب شناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل ۳- کارشناس ارشد میکروب شناسی دانشگاه آزاد واحد لاهیجان ۴- استاد گروه انگل شناسی دانشگاه علوم پزشکی تهران

سابقه و هدف: هلیکوباکترپیلوری شایع ترین باکتری است که جوامع انسانی را در بعد جهانی مبتلا ساخته و عمدتا با عوارض گوارشی به صورت گاستریت، زخم و گاهی سرطان معده همراه است. هدف از این مطالعه بررسی انواع ژنوتیپ هلیکوباکتری پیلوری در بیماریهای گاسترو دئودنال در شهرستان بابل می باشد.

مواد و روشها: برای بررسی ژن cagA و iceA و آللهای iceA2 و iceA1 از ۵۰ بیمار با بیماریهای گاسترو دئو دنال بیوپسی معده بعمل آمد. بعد از کشت و استخراج DNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن های cagA، iceA، iceA1 و iceA2 با روش PCR بررسی شد.

یافته ها: از ۳۰ نمونه هلیکو باکتر مثبت، فراوانی ژن cagA ۸۰٪ بدست آمد. همچنین فراوانی ژن cagA در بیماران مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه و زخم معده به ترتیب برابر با ۹۱/۷٪ (۱۱ نفر از ۱۲ نفر) و ۷۳/۳٪ (۱۱ نفر از ۱۵ نفر) و۶۶/۷٪ (۲ نفر از ۳ نفر) بود. فراوانی ژن iceA در کل جمعیت ۷۰٪ بدست آمد که از این تعداد ۱۴ مورد iceA1 مثبت (۶۶/۷٪) و ۵ مورد iceA2 مثبت (۲۳/۸٪) بودند. ۲ مورد هیچ کدام از آلل های iceA1 و iceA2 نبودند (۹/۵٪). فراوانی ژن iceA1 در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه، زخم معده و گاستریت به ترتیب برابر با ۴۵/۵ و ۵۰ و ۸۸/۹ درصد بدست آمد.

نتیجه گیری: در این مطالعه فراوانی سویه های cagA مثبت هلیکوباکترپیلوری بیشتراست و آلل iceA1 نیز در این منطقه آلل غالب شناخته گردید. دو نمونه iceA مثبت جزو هیچ کدام از آلل های iceA1 و iceA2 نبودند که به نظر می رسد آلل های جدیدی از این ژن باشند.

واژه های کلیدی: *هلیکوباکترپیلوری، ژن cagA، ژن iceA، گاسترودئودنال.*

دریافت: ۸۶/۶/۲۸، ارسال جهت اصلاح: ۸۶/۱۱/۳، پذیرش: ۸۷/۲/۱۸

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری شایع ترین باکتری است که جوامع انسانی را در بعد جهانی مبتلا به عفونت ساخته است (۱). معده انسان تنها محل مناسب برای این میکروب است و انسان از دوران پس از شیرخوارگی تا سنین کهولت می تواند ناقل این باکتری باشد. این میکروب به علت اقامت طولانی در معده، می تواند باعث التهاب حاد و مزمن معده، زخم معده، زخم دوازدهه و بدخیمی های معده مثل MALToma گردد (۱). براساس نتایج مطالعات مختلف، فاکتورهای محیطی، خصوصیات ژنتیکی میزبان و فاکتورهای بیماریزایی باکتری در نتیجه نهایی بیماری سهیم می باشند (۴-۲). از جمله عواملی که بیشتر مورد توجه محققین قرار گرفته است فاکتورهای بیماریزایی باکتری باشد. اگرچه فاکتورهای متعدد هلیکوباکترپیلوری شامل اوره از، فلاژل، فاکتورهای چسبندگی، سیتوتوکسین واکوئل زا و جزیره پاتوژنیسیته cag ممکن است در بیماریزایی دخیل باشند ولی به نظر می رسد اصلی ترین فاکتور در بیماریزایی، ژن های متعلق به جزیره

▣ هزینه انجام این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی شماره ۲۰۳۷۱۱۴۵ از اعتبارات دانشگاه علوم پزشکی بابل تامین شده است.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

پاتوژنیسیته cag باشند (۳و۲). CagA یک پروتئین ۱۲۰ تا ۱۴۰ کیلو دالتونی است و ژن آن فقط در سویه هایی است که بیان می شوند. این ژن در یک قطعه ۴۰ کیلو بازی به نام منطقه بیماریزایی قرار دارد (۵). در مطالعاتی که بر اساس عفونت تجربی حیوانات آزمایشگاهی با سویه های مختلف هلیکوباکترپیلوری انجام گرفته است، مشخص گردید که سویه های تیپ I، که در ژنوم آن ها منطقه بیماریزایی cag وجود دارد، بیشتر منجر به زخم های پپتیک و سرطان میگردند(۸-۶). cagA در همه سویه های هلیکوباکترپیلوری دیده نمی شود و بنابراین به عنوان مارکری برای حضور جزیره پاتوژنیسیته cag استفاده می گردد (۹). فراوانی سویه های cagA مثبت در کشورهای پیشرفته ۸۰-۷۰ درصد و در ژاپن و کره ۱۰۰٪ گزارش شده است (۱۲-۱۰).

در کشورهای غربی آلودگی با سویه های cagA مثبت، به عنوان مارکری در همراهی با زخم های معده، دوازدهه و سرطان معده دیده شده است اما در کشورهای آسیایی چون اکثر افراد آلوده شده با هلیکوباکترپیلوری سویه های cagA مثبت هستند، همراهی و ارتباط میان سویه های cagA مثبت و نتایج بیماری مشخص نمی باشد (۱۳). در مطالعه طالب خان و محمدی در ایران ۹۰٪ از بیماران با سوءهاضمه، ۵۷٪ با زخم پپتیک و ۸۹٪ با سرطان معده از نظر cagA مثبت بودند (۱۴). همچنین ژن iceA هلیکوباکترپیلوری، اخیراً به عنوان یک شاخص ژنتیکی برای پیشرفت و تکامل بیماری زخم دوازدهه در شرق شناخته شده است (۱۵). این ژن توسط Peek و همکارانش معرفی شد. iceA دارای دو آلل iceA2 , iceA1 می باشد. آلل iceA1 پروتئین مشابه (homologue) آنزیم اندو نوکلئاز nlaIIIR در نایسریا لاکتامیکا (N. Lactamica) را کد می کند و iceA2 پروتئین با ۵۹ اسید آمینه را کد می کند و به iceA1 وابسته نیست (۱۵). نقش ژن iceA در عفونت انسانی هنوز مشخص نشده است (۱۸-۱۶). بیان یکی از این دو، به شیوع جغرافیایی و به نوع بیماری بستگی دارد. تحقیقات و مطالعات نشان داده است که آلل iceA1 در هلند و آمریکا با زخم پپتیک مرتبط بوده ولی در کشورهایی مانند ژاپن، کره و کلمبیا این ارتباط وجود ندارد (۱۸و۱۵).

هدف ما در این مطالعه بررسی وجود ژن cagA، iceA و آللهای آن iceA1 , iceA2 در سویه های هلیکوباکترپیلوری مرتبط با بیماریهای گاسترودئودنال بوده است.

مواد و روشها

این مطالعه مقطعی بر روی ۵۰ بیمار مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه، زخم معده مراجعه کننده به بیمارستان شهید بهشتی بابل به روش نمونه گیری آسان انجام شد. حداقل سه نمونه بیوپسی از آنتر و تنه معده این افراد با آندوسکوپی توسط پزشک متخصص گوارش گرفته شد و پس از قرار گیری در محیط ترانسپورت به آزمایشگاه میکروبشناسی دانشگاه علوم پزشکی بابل فرستاده شد.

جداسازی و کشت: نمونه ها سریعاً بر روی محیط بروسلاآگار حاوی ۱۰٪ خون گوسفند و آنتی بیوتیکهای وانکومایسین، تری متوپریم و پلی میکسین B تلقیح گردیدند و پلیت تلقیح شده در شرایط میکروآئروفیل به مدت ۷-۵ روز انکوبه شد. پس از پایان انکوباسیون کلنی های بدست آمده که حاوی باسیل های خمیده گرم منفی کاتالاز، اوره آز و اکسیداز مثبت بودند، به عنوان کلنی های هلیکوباکترپیلوری تشخیص داده شدند. سپس از کلنی های مربوطه جهت استخراجDNA استفاده شد.

استخراج DNA: جهت استخراج DNA از High pure PCR template preparation kit شرکت رژ آلمان استفاده شد.

PCR: پس از استخراج DNA هر نمونه تا انجام PCR در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید. سکانس پرایمرها جهت تکثیر بخشی از این پرایمرها طوری طراحی شده اند که قادرند در cagA قطعه به طول ۵۰۶ جفت باز و در iceA قطعه به طول ۹۷۴ جفت باز و در iceA1 قطعه به طول bp ۲۴۶ و در iceA2 قطعه به طول bp ۳۳۴/۲۲۹ را تکثیر نمایند.

F5´– GATCTCGGTGGGTCTTTC- 3´	cagA
R5´– TCTTTTACGGCATTGTTCA – 3´	
F5´– GGGTGCGATTTGCGTGGGCGATG - 3´	iceA
R5´– GATCATGGCCTACAACCGCATGGA - 3´	
F5´– GTGTTTTTAACCAAAGTATC - 3´	iceA1
R5´– CTATAGCCACTCTCTTTGCA - 3´	
F5´- GTTGGGTATATCACAATTTAT - 3´	iceA2
R5´- TTGCCCTATTTTCTAGTAGGT - 3´	

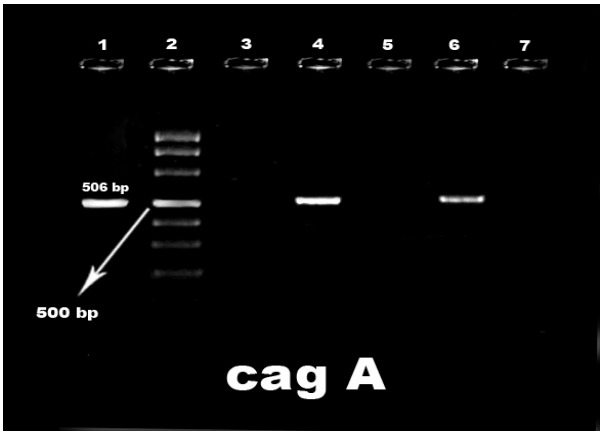
[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

واکنش PCR برای ژن های iceA , cagA (A1/A2): جهت تکثیر قطعه مورد نظر از ژن های cagA و iceA در یک حجم ۵۰ میکرولیتری ۱/۵واحد از آنزیم Taq پلی مراز همراه ۵۰ پیکومول از هر پرایمر، ۲۰۰ میکرومولار از هر کدام از دزوکسی نوکلئوتیدهای چهارگانه، ۵ میکرولیتر از DNA الگو، ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم (pH=۸/۳)، Tris – HCL ۱۰ میلی مولار استفاده گردید. تکثیر قطعه مورد نظر در دستگاه ترموسایکلر برای ژن cagA با دمای دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۸ دقیقه، سپس ۴۰ سیکل با دمای ۹۴ درجه سانتیگراد یک دقیقه، ۵۵ درجه سانتیگراد یک دقیقه و ۷۲ درجه سانتیگراد یک دقیقه. در پایان جهت تکثیر قطعات ناتمام، ۷ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد انجام گردید و برای ژن iceA1 و iceA2 نیز ۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل با دمای ۹۴ درجه ۱ دقیقه، ۵۷ درجه ۱ دقیقه، ۷۲ درجه یک دقیقه و آخرین مرحله آن نیز همانند ژن cagA انجام شد. برای ژن iceA نیز از همان برنامه با زمان Extension ۹۰ دقیقه استفاده شد. پس از قرار دادن نمونه ها در دستگاه ترموسایکلر محصولات PCR به تفکیک هر پرایمر در ژل آگارز ۱/۵٪ به مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز گردید و از ژل تحت نور UV، عکس گرفته شد و این تصاویر (باندها) مورد بررسی قرار گرفت. بعد از PCR، باندهای بدست آمده با وزن مربوطه به عنوان قطعه مورد نظر از ژن های iceA و cagA در نظر گرفته شد.

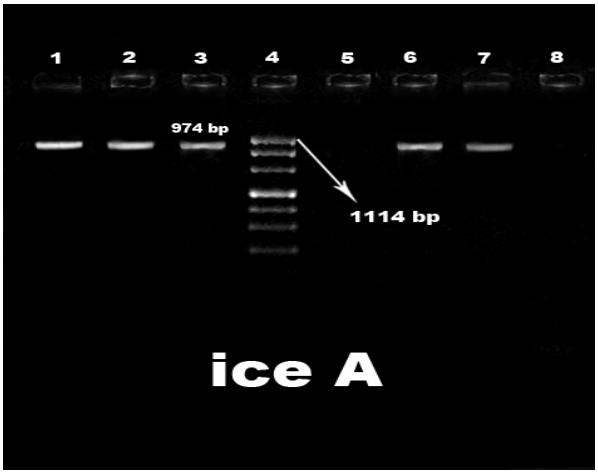
در نهایت داده ها با استفاده از آزمون های آماری Chi-square و Fisher exact مورد بررسی قرار گرفت و مقدار p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

از ۵۰ نمونه تحت بررسی ۳۰ مورد (۶۰٪) کشت مثبت هلیکوباکترپیلوری بدست آمد. از این میان، ۱۲ نمونه مربوط به افراد مبتلا به گاستریت (۴۰٪)، ۱۵ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم دوازدهه (۵۰٪) و ۳ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم معده بود (۱۰٪). از ۳۰ مورد کشت هلیکوباکترپیلوری مثبت در ۲۴ نمونه (۸۰٪) ژن cagA شناسائی گردید. فراوانی ژن cagA در سویه های مرتبط در زخم دوازدهه، معده و گاستریت بترتیب ۷۳/۳٪، ۶۶/۷٪ و ۹۱/۷٪ بود. همچنین در میان ۳۰ مورد کشت مثبت، ۲۱ نمونه (۷۰٪) دارای ژن iceA بودند. سپس بر روی این نمونه های مثبت، برای تعیین آلل های این ژن (iceA1 , iceA2) PCR اختصاصی آلل انجام شد که ۱۴مورد (۶۶/۷٪) iceA1 و ۵ نمونه (۲۳/۸٪) iceA2 را داشتند و دو مورد هیچ آللی یافت نشد. نتایج حاصله از الکتروفورز در تصاویر ۱ و ۲ نشان داده شده است. فراوانی ژن iceA در گاستریت، زخم دوازدهه و زخم معده به ترتیب ۷۵، ۳۳/۷ و ۳۳/۷ درصد بدست آمد.



تصویر ۱. ژل الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه ۵۰۶ جفت بازی ژن cagA . از چپ به راست : ردیف ۱ و ۶ مربوط نمونه های cagA مثبت ، ردیف ۲ مارکر مولکولی و ردیف ۴ نمونه کنترل مثبت، ردیف ۵ نمونه cagA منفی مارکرملکولی از بالا به پائین ، ۱۱۱۴–۹۰۰–۶۹۲–۴۸۹ تا۵۰۱–۴۰۴–۳۲۰–۲۴۲



تصویر۲. ژل الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه ۹۷۴ جفت بازی ژن iceA . از چپ به راست : ردیف ۱و ۲و ۳ و۷ مربوط نمونه های iceA مثبت، ردیف ۴ مارکر مولکولی، ردیف۵ مربوط به کنترل منفی وردیف ۶ نمونه کنترل مثبت مارکرملکولی از بالا به پائین ،۱۱۱۴–۹۰۰–۶۹۲– ۴۸۹

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

فراوانی آلل iceA1 در بیماری های گاستریت، زخم دوازدهـه و زخم معده به ترتیب ۸۸/۸، ۴۵/۵ و ۵۰٪ بدسـت آمـد. در حالیکـه میزان آلل iceA2 در بیماری های گاستریت، زخم دوازدهـه و زخـم معده به ترتیب ۱۱/۱، ۳۶/۴ و صفر درصد بدست آمد.

بحث و نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که۶۰٪ بیماران با بیماریهای گاسترو دئودنال، هلیکوباکترپیلوری مثبت بودند که از این میان ۲۴ مورد (۸۰٪) حاوی ژن cagA و ۲۱مورد (۷۰٪) حاوی ژن iceA بودند. فراوانی cagA در بیماران مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه و زخم معده به ترتیب ۹۱/۷، ۷۳/۳، ۶۶/۷ درصد بوده است که با مقادیر فراوانی این ژن در سویه های هلیکوباکترپیلوری جدا شده از کشورهای مختلف متفاوت می باشد.

Podzorski و همکاران در آمریکا گزارش کرده اند که ۶۶ درصد از سویه های هلیکوباکترپیلوری حامل ژن cagA می باشند (۱۹). در مطالعه دیگری که در کشور برزیل توسط Gatti و همکاران صورت گرفته است، میزان فراوانی ژن cagA در سویه های هلیکوباکترپیلوری جدا شده از بیماران برزیلی ۴۸٪ گزارش شده است (۲۰). همچنین Zhovi و همکاران نشان داده اند که فراوانی ژن cagA در سویه های هلیکوباکترپیلوری در کشور چین ۹۳/۹٪ می باشد (۲۱). همچنین Chen و همکاران نشان داده اند که ۹۴٪ از سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به زخم های پپتیک و سرطان معده دارای ژن cagA هستند (۲۲). فراوانی ژن cagA در کشورهای هلند – آلمان و استونی و سریلانکا نیز به ترتیب ۴۶٪، ۸۷/۲٪، ۸۷٪ و ۴۵٪ گزارش شد (۲۳). فراوانی این ژن در شهرستان بابل ۸۰٪ بدست آمد که مشابه با نتایج مطالعات در کشورهای آلمان و استونی می باشد. در بررسی دیگری که توسط شیرازی و همکاران در تهران انجام گردید فراوانی ژن cagA در سویه های جدا شده از بیماران ۸۵٪ بدست آمد (۲۴).

مطالعات متعددی نیز بر روی ارتباط این ژن با نوع بالینی بیماری انجام شده است. در مطالعات صورت گرفته توسط Zhou و همکاران، شیوع ژن cagA درسویه های مرتبط با بیماران مبتلا به زخم های پپتیک و سرطان معده ۱۰۰٪ بوده است (۲۱). در مطالعه Aydin و همکاران در ترکیه، میزان فراوانی ژن cagA در سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به زخم های پپتیک ۷۲/۳٪ گزارش گردید (۲۵). تشابهات و اختلاف فراوانی بروز این ژنها در این مطالعه و در کشورهای دیگر را می توان به انتشار جغرافیایی مرتبط دانست. همچنین Figueredo و همکاران نشان دادند که فراوانی سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه، زخم معده و سرطان معده به ترتیب برابر با ۵۶، ۹۰، ۸۸ و ۸۸ درصد است (۲۶). در مطالعه Arents و همکاران در کشور هلند فراوانی cagA در بیماری زخم معده نسبت به سایر بیماری ها مورد مطالعه غالب بود (۲۷). در بررسی انجام شده در بابل فراوانی ژن cagA در گاستریت بالاتر بوده است ولی از نظر آماری تفاوت معنی داری در همراهی این ژن با فرم بالینی بیماری یافت نشد که احتمال می رود به علت حجم کم نمونه باشد. علی رغم تفاوتی که در فراوانی این ژن ها در نوع بیماری ها بدست آمد اما از آن جائیکه ژن cagA در هر ۳ فرم بالینی دیده شده است می توان استنباط نمود که وجود یا عدم وجود ژن cagA می تواند به عنوان مارکری در جهت آنالیز شدت بیماری درنظر گرفته شود اما نباید نقش فاکتورهای دیگر شناخته شده مانند فاکتورهای محیطی را در بیماریزائی این باکتری، نادیده گرفت.

در ارتباط با ژن iceA که دارای ۲ آلل iceA1 و iceA2 می باشد هنوز ارتباط آن با بیماری زخم معده به طور دقیق مشخص نشده است (۲۸). همانطور که در نتایج اشاره شد از ۳۰ نمونه که از نظر H . Pylori مثبت بودند، ۲۱ مورد ژن iceA را داشتند که از این ۲۱ نمونه مثبت، ۱۴ مورد آلل iceA1 را داشتند که این آلل در کل جمعیت غالب بود (۶۶/۷٪) همچنین در مطالعه ای که در چهار کشور آمریکا، کلمبیا، ژاپن و کره صورت گرفت، شیوع ژن iceA1 در دو کشور کره و ژاپن بیشتر بود، درحالیکه در کشور آمریکا آلل iceA2 غالب بود (۲۸). در آلمان شیوع آلل iceA1 در مقایسه با iceA2 در میان تمام بیماری های مورد بررسی بیشتر بود (۲۳). ژن iceA توسط Van Doorn و همکاران وی در هلند مورد مطالعه قرار گرفت و پس از آزمایش بر روی ۹۴ نمونه بیوپسی گرفته شده از بیماران، رابطه بین آلل iceA1 و زخم معده را گزارش کردند (۲۹) ولی تحقیقات در دیگر کشورها این مطلب را تأیید نکرد (۲۸). در این مطالعه تنوع آللی H. Pylori در حالت ترکیبی از cagA و iceA در هر ۳ فرم بیماری مورد بررسی قرار گرفت که به طور کلی ۸۰٪ از بیماران مبتلا به گاستریت، زخم دوازدهه و زخم معده هر دو ژن cagA و iceA را داشتند (p=۰/۰۴۹). می توان گفت احتمالاً cagA و iceA در کنار هم باعث بیماریزایی و یا تشدید آن می شوند. در

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

این مطالعه فراوانی ژن های iceA1 و cagA در کنار هم، در هر سه فرم متفاوت بیماری بررسی شد که ملاحظه گردید بیشتر افراد دارای cagA مثبت، از نظر iceA نیز مثبت بودند و همه افراد cagA منفی، iceA منفی نیز بودند. Vandoorn نیز حضور ژن cagA را به همراه iceA1 به عنوان شاخصی برای بیماریهایی همراه با زخم مطرح کرد (۲۹). در این تحقیق نیز ۶۶/۷٪ سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت حاوی ژنcagA و iceA1 بوده اند که تفاوت معنی داری در همراهی این ژن با سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت وجود داشت (p=۰/۰۳۸). اگر چه مطالعات انجام شده توسط Peek و همکاران و نیز Vandoorn و همکاران ارتباط بین iceA1 و بیماری های زخم پپتیک را گزارش کردند (۳۰و۲۹)، اما در مطالعات انجام شده در آمریکا، ژاپن، کره، کلمبیا و آلمان، ارتباطی بین ژنوتیپ iceA1 و نتایج بالینی بیماری پیدا نشد (۳۱و۲۸) چنانچه در این مطالعه نیز نتایج متفاوتی از نظر فرم بالینی بیماری ارائه گردید. اختلاف درصد بروز این ژن در این مطالعه و نیز اختلاف در کشورهای دیگر را می توان به انتشار جغرافیایی مرتبط دانست. در خاتمه، با وجود ارتباط این ژن های مشهور باکتری با سرانجام بالینی بیماری، به نظر می رسد این موضوع، همچنان به عنوان بحثی جدال برانگیز در مباحثات و مناظرات علمی مطرح بماند. در هر حال در همه عفونتهایی که H. Pylori باعث بیماری آن ها می شود فاکتورهای بیماریزایی از قبیل فاکتورهای محیطی، فاکتورهای ژنتیکی میزبان و توانایی بیماریزایی باکتری نقش دارند و پیشنهاد می شود برای روشن شدن هر چه بیشتر پاتوژن های دخیل در بیماریهای گاسترودئودنال مثل هلیکوباکتر مطالعات با حجم وسیع تر و در مناطق متفاوت جغرافیایی ایران انجام شود.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بابل، بخش میکروب شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه، آقای دکتر علی بیژنی و خانم مریم محمدی و همچنین از پرسنل محترم بخش آندوسکوپی بیمارستان شهید بهشتی خانم ها سیده مرضیه موسوی، فاطمه اره کشان، آمنه قربانی و مریم اصغرنیا و نیز خانم محدثه میرزاپور بعلت فعالیت در شروع مطالعه تشکر می شود.

****

References

1. Czinn SJ, Nedrud JG. Oral immunization against helicobacter pylori. Infect Immun 1991; 59(7): 2359-63.

2. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. Helicobacter pylori virulence and genetic geography. Science 1999; 284(5418): 1328-33.

3. Peek JR, Blaser MJ. Helicobacter pylori and gastrointestinal tract adenocarcinomas. Nat Rev Cancer 2002; 2(3): 28-37.

4. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med 1991; 325(16): 1132-6.

5. Kikuchi S, Crabtree JE, Forman D, Kurosawa M. Association between infections with cagA positive for negative strains of Helicobacter pylori and risk for gastric cancer in young adults. Research group on prevention of gastric carcinoma among young adults. Am J Gastroenterol 1999; 94(12): 3455-9.

6. Blaser MJ, Perez Perez GI, Kleanthous H, et al. Infection with Helicobacter pylori strains prossessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res 1995; 55(10): 2111-5.

7. Censini S, Lange C, Xiang Z, et al. CagA pathogenicity island of Helicobacter pylori encodes type I- specific and disease–associated virulence factors. Proc Natl Acad Sci USA 1996; 93(25): 14648-53.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

8. Ogura K, Maeda S, Nakao M, et al. Virulence factors of Helicobacter pylori responsible for gastric diseases in Mongolian gerbil. J Exp Med 2000; 192(11): 1601-10.

9. Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, et al. Helicobacter pylori virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2003; 22(2): 85-91.

10. Peek RM,Van Doorn LJ, Donahue JP, et al. A quantitative detection of Helicobacter pylori gene expression in vivo and relationship to gastric pathology. Infect Immune 2000; 68(10): 5488-95.

11. Yamoka Y, Kodama T, Kita M, Imanish J, Kashiama K, Graham DY. Relationship of vacA genotypes of Helicobacter pylori to cagA status, cytotoxin production and clinical outcome. Helicobacter 1998; 3(4): 241-53.

12. Yamaoka Y, Kodama T, Imanishi J, Kashima K. Chemokines in the gastric mucosa in Helicobacter pylori infection.Gut 1998; 42(5): 609-17.

13. Ramelah M, Aminuddin A, Alfizah H, et al. CagA gene variants in Malaysian Helicobacter pylori strains isolated from patients of different ethnic groups. FEMS Immunol Med Microbiol 2005; 44(2): 239-42.

14. Talebkhan Y, Mohammadi M, Mohagheghi MA, et al. CagA gene and protein status among Iranian helicobacter pylori strains. Dig Dis Sci 2008; 53(4): 925-32.

15. Figueiredo C, Quint WG, Sanna R, et al. Genetic organization and heterogeneity of the iceA locus of Helicobacter pylori. Gene 2000; 246(1-2): 59-68.

16. Jiang X, Doyle MP. Growth supplements for Helicobacter pylori. J Clin Microbiol 2000; 38(5): 1984-87.

17. Ito Y, Azuma T, Ito S, et al. Sequence analysis and clinical significance of the iceA gene from Helicobacter pylori strains in Japan. J Clin Microbiol 2000; 38(2): 483-8.

18. Ashour AA, Collares GB, Mendes EN, et al. IceA genotypes of Helicobacter pylori strains isolated from Brazilian children and adults. J Clin Microbiol 2001; 39(5): 1746-50.

19. Podzorski RP, Podzorski DS , Wuerth A, Tolia V. Analysis of the vacA, cagA, cagE, iceA, and babA2 gene in Helicobacter pylori from sixty–one pediatric patients from the Mid Western United States. Diagn Microbiol Infect Dis 2003;46(2): 83-8.

20. Gatti LL, Fagundes E, Souza EK, et al. CagA vacA alleles and baba2 genotypes of helicobacter pylori associated with gastric disease in Brazilian adult patients. Diagn Microbiol Infect Dis 2005; 51(4): 231-5.

21. Zhou J, Zhang J, Xu C, He L. CagA genotype and variants in chines Helicobacter pylori strains and relationship to gastroduodenal diseases. J Med Microbiol 2004; 53(3): 231-5.

22. Chen XJ, Yan J, Shen YF. Dominant cagA/vacA genotypes and coinfection frequency of H. pylori in peptic ulcer or chronic gastritis patients in Zhejiang province and correlation among different genotype coinfection and severity of the disease. Chin Med J (Engl) 2005; 118(6): 460-7.

23. Miehlike S, Schuppler M, Frings C, et al. Helicobacter pylori vacA, iceA and cagA status and pattern of gastritis in patients with malignant and benign gastroduodenal disease. Am J Gastroentrol 2001; 96(4): 1008-130.

۲۴. شیرازی م، قاسمی ا، خرمی زاده م. بررسی وجود ژن cagA در بیماران با دیس پپسی، زخم پپتیک و سرطان معده با روش PCR. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام ۱۳۸۵؛ ۱۴(۳): ۲۲-۸.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

25. Aydin F, Kaklikkaya N, Ozgur O, et al. Distribution of vacA alleles and cagA status of Helicobacter pylori in peptic ulcer disease and non- ulcer dyspepsia. Clin Microbiol Infect 2004;10(12): 1102-4.

26. Figueiredo C, Van Doorn LJ, Nogueria C, et al. Helicobacter pylori genotypes are associated with clinical outcome in Portuguese patients and show a high prevalence of infections with multiple strains. Scand J Gastroenterol 2001; 36(2): 128-35.

27. Arents NL,Van Zwet AA, Thijs JC, et al. The importance of vacA, cagA and iceA genotypes of H. pylori infection in peptic ulcer disease and gastroesophageal reflux disease. Am J Gastroenterol 2001; 96(9): 2603-8.

28. Yamaoka Y, Kocama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashama K, Graham DY. Relationship between Helicobacter pylori iceA, cagA, and vacA status and clinieal outcome. J Clin Microbiol 1999; 37(7): 2274-9.

29. Vandoorn LJ, Figueircdo C, Sanna R, et al. Clinical relevance of the cagA , vacA and iceA status of H. pylori. Gastroenterology 1998; 115(1): 58-66.

30. Peek RM Jr, Thompson SA, Donahve JP, et al. Adherence to gastric epithelial cells induces expression of a H. pylori gene iceA, that is associated with clinical outcome. Proc Assoc Am Physicians 1998; 110(6): 531-44.

31. Nishiya D, Shimoyama T, Fukuda S, et al. Evaluation of the clinical relevance of the iceA1 gene in patients with H. pylori infection in Japan. Scand J Gastroenterol 2000; 35(1): 36-9.

* آدرس نویسنده مسئول: بابل، بیمارستان شهید بهشتی، تلفن: ٤-٢٢٥٢٠٧١-٠١١١.

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]

OUTBREAK OF cagA AND iceA IN H. PYLORI STRAINS ISOLATED FROM PATIENTS WITH GASTRO DUODENAL DISEASES IN BABOL CITY

J. Shokri Shirvani (MD) [1*], R. Rajabnia (PhD) [2], F. Tohidi (MSc) [3], M. Asmar (PhD) [4], H. Taheri (MD) [5]

*1.*Assistant Professor of Internal Medicine, Babol Univ Medical Sciences, Babol, Iran, javadshokry@gmail.com, 2. Assistant Professor of Microbiology, Babol Univ Medical Sciences, Babol, Iran, 3. MSc in Microbiology, Islamic Azad Univof Lahijan, Lahijan, Iran, 4. Professor of Parasitology Tehran Univ Medical Sciences,Tehran, Iran, 5. Assistant Professor of Internal Medicine, Babol Univ Medical Sciences, Babol, Iran*

BACKGROUND AND OBJECTIVE: Helicobacter pylori is one of the most common bacteria that afflicts world' human population. Virulence factor of Helicobacter pylori have been associated with clinical outcome of the infection including gastritis, gastric ulcer (GU), duodenal ulcer (DU) and gastric cancer. The aim of the present study was to determine the outbreak of cagA and iceA genotypes of H. pylori in patients with gastroduodenal diseases in Babol, North of Iran.

METHODS: Fifty patients with dyspepsia underwent gastroscopy and antral biopsy for histologic study. CagA, iceA, iceA1 and iceA2 genotypes were determined by PCR.

FINDINGS: Of 30(60%) HP positive strains, 80% were positive for cagA gene. CagA genotype was positive in 91.7% (11 of 12), 73.3% (11 of 15) and 66.7% (2 of 3) of patients with gastritis, DU and GU, respectively. IceA was positive in 21(70%) of all patients and iceA1 was found in 14(66.7%) isolates and iceA2 was found in 23.8% isolates. IceA1 and IceA2 were not found in 2(9.5%). IceA1 outbreak in patients with gastritis, DU and GU was 88.9%, 45.5% and 50%, respectively.

CONCLUSION: Positive cagA strain was more than negative cagA and, iceA1 was predominant strains in our patients with HP infection. We found that two genes other than iceA1 and iceA2 in this study. It seems that new allele other than iceA1 and iceA2 genes are present in H. pylori.

KEYWORDS: *Helicobacter pylori, CagA, IceA, Gasteroduodenal.*

Journal of Babol University of Medical Sciences 2008; 10(1): 46-53

Received: September 18th 2007, Revised: January 22nd 2008, Accepted: May 7th 2008

[DOR: 20.1001.1.15614107.1387.10.1.7.5]