جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

● مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی کرمان، دورهٔ بیست‌ودوم، شمارهٔ ۱، ص ۳۱-۲۱، ۱۳۹۳

مقالهٔ پژوهشی

بررسی ارتباط ژنوتیپ‌های ناحیه s و m ژن *vacA* *هلیکوباکتر پیلوری* با بیماری‌های مختلف معده– دوازدهه در منطقه آذربایجان شرقی

رضا صفرعلیزاده[1*]، زینب بصیری[2]، محمدعلی حسینپور فیضی[3]، مرتضی جبارپور بنیادی[4]، بتول متقی[5]، معصومه نعمتی[5]

خلاصه

مقدمه: با قرار گرفتن عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در رده اول عامل سرطان‌زای معده، آدنوکارسینوما از سال ۱۹۹۴ نوعی بیماری عفونی در نظر گرفته شد. *هلیکوباکتر پیلوری* از عوامل بیماری‌زای گسترده‌ای جهت غلبه بر مکانیسم‌های دفاعی میزبان استفاده می‌کند. یکی از این عوامل مستقل که در تعیین بیماری‌زایی *هلیکوباکتر پیلوری* نقش مهمی دارد، سیتوتوکسین واکوئله کننده (vacuolating cytotoxin A یا *vacA*) می‌باشد. در این تحقیق فراوانی آلل‌های m و s (m۱، m۲، s۱ و s۲) در سوش‌های جدا شده از بیماران مبتلا به التهاب معده، زخم‌های پپتیک و آدنوکارسینوما و ارتباط آن‌ها با تظاهرات بالینی مورد مطالعه قرار گرفت.

روش: نمونه‌های بیوپسی از ناحیه آنتروم ۸۸ بیمار با بیماری‌های مختلف معده- دوازدهه جمع‌آوری شد و پس از جداسازی *هلیکوباکتر پیلوری*، وجود آلل‌های مختلف ژن *vacA* با روش PCR (Polymerase chain reaction) تعیین گردید.

یافته‌ها: از ۶۴ بیمار مبتلا به *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت، ۳۸ نفر به التهاب معده، ۱۱ نفر به زخم پپتیک و ۱۵ نفر به آدنوکارسینومای معده مبتلا بودند. وجود آلل‌ها به ترتیب فراوانی در بیماران، آلل s۱m۲ (۲۲/۷ درصد) با فراوانی به نسبت مساوی در هر سه گروه، آلل s۱m۱ (۱۳/۶ درصد) با بیشترین فراوانی در آدنوکارسینومای معده و زخم پپتیک، آلل s۲m۲ (۷/۹ درصد) با بیشترین فراوانی در التهاب معده و آلل s۲m۱ (۳/۴ درصد) با بیشترین فراوانی در زخم پپتیک مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: در مطالعه حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* و تظاهرات بالینی مشاهده نشد. همچنین آدنوکارسینوما ارتباط معنی‌داری با سن ابتلا و جنسیت نشان داد.

واژه‌های کلیدی: *هلیکوباکتر پیلوری*، ژنوتیپ‌های *vacA*، آدنوکارسینومای معده، زخم پپتیک، ایران

۱- استادیار، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ۲- پژوهشگر، کارشناس ارشد بیوشیمی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران۳- استاد، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ۴- دانشیار، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران ۵- پژوهشگر، کارشناس ارشد ژنتیک، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۴/۱۴ دریافت مقاله اصلاح شده : ۱۳۹۳/۷/۲۳ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۸/۴

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری گرم منفی، میکروآئروفیلیک (Micro aerophilic)، تاژک‌دار و مارپیچی شکل است (۱). این باکتری با بیماری‌های قسمت فوقانی دستگاه گوارش از جمله التهاب مزمن، زخم پپتیک (زخم معده و زخم اثنی عشر)، لنفومای MALT (Mucosa-associated lymphoid tissue) معده و سرطان معده در ارتباط می‌باشد (۲). سرطان معده پس از سرطان‌های ریه، سینه و کولورکتال، چهارمین سرطان شایع در سراسر جهان (با بروز ۹۳۴ هزار مورد در سال) و پس از سرطان ریه دومین عامل مرگ و میر (با بروز ۷۰۰ هزار مورد در سال) ناشی از سرطان در جهان می‌باشد (۴، ۳). با توجه به این که ۶۳ درصد سرطان‌های معده، ۲۵ درصد سرطان‌های ناشی از عفونت و ۵/۵ درصد کل سرطان‌ها به عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* نسبت داده شده است (۵)، این باکتری نقش اولیه و اصلی را در ایجاد سرطان معده دارد و سایر عوامل (مانند عوامل محیطی و ژنتیکی میزبان) این نتیجه را تعدیل می‌کند (۶).

مطالعات نشان داده است که ریشه‌کنی *هلیکوباکتر پیلوری* با کاهش بیماری‌های زخم پپتیک و سرطان معده، منجر به افزایش بیماری‌هایی همچون سرطان مری، آلرژی، آسم و بیماری‌های خودایمنی می‌شود. این باکتری دارای تنوع ژنتیکی است و به علت نقش حفاظتی آن در مقابل برخی از بیماری‌ها، شناخت و ریشه‌کنی سوش‌هایی با شاخص‌های بیماری‌زایی مرتبط با زخم پپتیک و سرطان معده بسیار ضروری می‌باشد (۷). یکی از این شاخص‌های بیماری‌زایی، پروتئین سیتوتوکسین واکوئله کننده (Vacuolating cytotoxin A یا VacA) است (۸). vacA کلون شده از برخی سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* با القای تشکیل واکوئل در سل لاین‌های اپی‌تلیالی کشت شده باعث تخریب این سلول‌ها می‌شود (۹).

پروتئین VacA محصول بیان ژن *vacA* در *هلیکوباکتر پیلوری* است. این ژن در تمامی سوش‌ها وجود دارد، اما تنها نیمی از این سوش‌ها قادر به القای تشکیل واکوئل در سلول‌های اپی‌تلیال معده می‌باشند. ژن *vacA* از دو ناحیه توالی نشانه (s) و ناحیه میانی (m) تشکیل شده است که دارای انواع s۱، s۲، m۱ و m۲ می‌باشد. پروتئین‌های VacA بیان شده به لحاظ سمیت متفاوت هستند. شکل s۱ که فعالیت سمی بالایی نسبت به s۲ دارد، دارای یک انتهای آمینی آب‌گریز جهت فعالیت سمی ضروری می‌باشد. شکل m۱ دارای فعالیت سمی بالایی بوده، اما نوع m۲ فعالیت سمی محدود شده‌ای دارد. نوع s۱m۲ در مقایسه با نوع s۱m۱ تعداد واکوئل کمتری تولید می‌کند؛ در حالی که نوع s۲m۲ قادر به تولید واکوئل نمی‌باشد (۱۱، ۱۰).

شیوع سرطان معده در شرق آسیا، شرق اروپا و بخش‌های مرکزی و جنوبی آمریکا بالا می‌باشد در حالی که شیوع آن در جنوب آسیا، شمال و شرق آفریقا، غرب و شمال اروپا، آمریکای شمالی و استرالیا پایین می‌باشد (۱۲). دو سوم سرطان معده در آسیا رخ می‌دهد و ایران بعد از کشورهای چین، ژاپن و کره، چهارمین رتبه را در ابتلای به سرطان معده به خود اختصاص داده است (۱۳). فراوانی آلل‌های s و m و همچنین ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* و تظاهرات بالینی در مناطق مختلف جغرافیایی متفاوت می‌باشد (۱۴). فراوانی آلل‌های s۱ و m۲ در شمال خاورمیانه با شیوع بالای سرطان معده زیاد است؛ در حالی که در جنوب خاورمیانه با شیوع پایین سرطان معده فراوانی آلل‌های s۲ و m۱ بالا می‌باشد (۱۵). استان آذربایجان شرقی در شمال غرب ایران شیوع بالایی از سرطان معده را دارد. سرطان معده در این استان از لحاظ درجه فراوانی رتبه نخست را در مردان [ASRs = ۲۶/۰ (Age-standardized rate)] و رتبه چهارم را بعد از سرطان‌های سینه، پوست و مری در بین زنان (ASRs = ۱۱/۶) به خود اختصاص داده است (۱۶). میزان شیوع عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در منطقه

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

آذربایجان شرقی ۷۲ درصد گزارش گردیده است (۱۳). به علت فقدان گزارش ارتباط بین سرطان معده و هم‌زمان با آن زخم پپتیک با ناحیه s و m ژن *vacA* در این منطقه، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط بین ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* و تظاهرات بالینی در منطقه آذربایجان شرقی بود.

روش بررسی

مطالعه حاضر بر روی بیماران بالای ۱۶ سال مبتلا به ناراحتی‌های ناحیه فوقانی دستگاه گوارش که به بخش آندوسکوپی مجتمع آموزشی، پژوهشی و درمانی امام رضا (ع) وابسته به دانشگاه علوم پزشکی تبریز مراجعه کرده بودند، انجام شد. اطلاعات مربوط به بیماران مانند سن، جنسیت، ملیت و زبان به وسیله پرسش‌نامه حاصل و برای همگی آن‌ها فرم اخلاق تهیه شد. بیماران دارای سابقه قبلی سرطان معده، زخم پپتیک، جراحی معده، بدخیمی و خونریزی در معده و همچنین بیمارانی که حداقل سه ماه قبل از آندوسکوپی داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی یا داروهای استروئیدی مصرف کرده بودند، از بررسی حذف شدند (۱۷). بیماران مورد مطالعه به زخم پپتیک، گاستریت و آدنوکارسینومای معده مبتلا بودند. تشخیص بیماری توسط پزشک متخصص و یا روش‌های پاتولوژی انجام شد. از هر بیمار حداقل دو نمونه بیوپسی جهت انجام تست RUT (Rapid urease test) و بررسی‌های پاتولوژی و یک نمونه دیگر جهت بررسی‌های مولکولی [استخراج DNA (Deoxyribonucleic acid) و انجام PCR (Polymerase chain reaction)] برداشته شد. نمونه‌های بیوپسی برداشته شده جهت بررسی‌های مولکولی بعد از انتقال به تیوپ‌های ۱/۵ میکرولیتری تا زمان استخراج در فریزر با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت استخراج DNA، ابتدا نمونه‌های بیوپسی در شرایط استریل بر روی لام انتقال یافت و با دقت بسیار توسط لام دیگری خرد شد. سپس استخراج از DNA به کمک کیت DNGTM-Plus kit (سیناژن، ایران) صورت گرفت. پرایمرهای اختصاصی ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* (m۱، m۲، s۱ و s۲) در جدول ۱ آمده است (۱۸). واکنش‌های PCR همگی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر و با استفاده از Master kit (سیناژن، ایران) انجام شد.

جدول ۱. *پرایمرهای مورد استفاده جهت مطالعه ژنوتیپ‌های مختلف vacA (vacuolating cytotoxin A) در مطالعه حاضر*

ژن	آلل	توالی پرایمرها (۳′→ ۵′)	دمای چسبندگی (سانتی‌گراد)	اندازه محصول (جفت باز) PCR
vacA	m۱/m۲	VAG-F CAATCTGTCCAATCAAGCGAG	۵۳	m۱ = ۵۶۷
		VAG-R GCGTCAAAATAATTGAAGG	–	m۲ = ۶۴۲
	s۱/s۲	VAI-F ATGGAAATACAACAAACACAC	–	s۱ = ۲۵۹
		VAI-R CTGCTTGAATGCGCCAAAC	–	s۲ = ۲۸۶

PCR: Polymerase chain reaction; vacA: vacuolating cytotoxin A

سیکل دمایی برای انجام PCR بدین صورت بهینه گردید: برای آلل‌های m۱ و m۲، دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، دمای چسبندگی (Primer-template melting temperature: Tm) ۵۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای ۳۷ دور استفاده شد. دمای ۹۵ درجه

سانتی گراد ۳۰ ثانیه، دمای ۵۶ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه و دمای ۷۲ درجه سانتی گراد ۹۰ ثانیه برای ۳۰ دور برای آلل‌های s۱ و s۲ مورد استفاده قرار گرفت. سپس محصول PCR توسط ژل آگارز ۱/۲ درصد و رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید (Ethidium bromide) بررسی و توسط UV (Ultraviolet) مشاهده گردید.

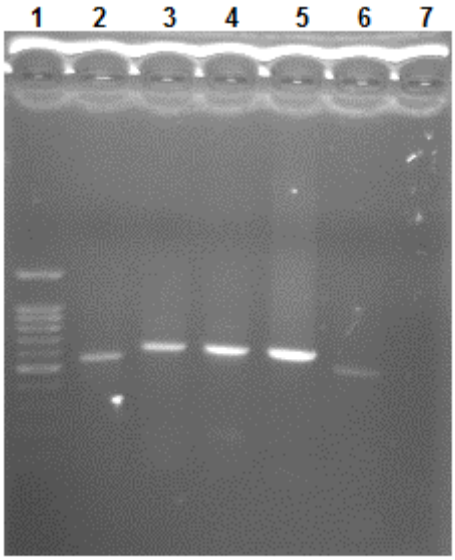
برای بررسی این که آیا فراوانی آلل‌های m۱، m۲، s۱ و s۲ ژن *vacA* با خطر بروز سرطان معده و سایر بیماری‌های گوارشی در ارتباط می‌باشد و آیا این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است؟، از آزمون‌های χ^2 و Fisher's exact در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) استفاده شد. $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. بیماران مبتلا به التهاب معده در همه تحلیل‌های مقایسه‌ای به عنوان گروه شاهد بودند.

نتایج

در بررسی حاضر از میان ۸۸ بیمار مطالعه شده، در مجموع ۶۴ بیمار *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت داشتند که بر اساس تظاهرات بالینی ۳۸ نفر به التهاب معده، ۱۱ نفر به زخم پپتیک و ۱۵ نفر به آدنوکارسینومای معده مبتلا بودند. تحلیل آزمون χ^2 نشان داد که هیچ ارتباط معنی‌داری بین فراوانی آلل‌های m۱، m۲، s۱ و s۲ در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از افراد مبتلا به زخم یا آدنوکارسینومای معده نسبت به گروه شاهد در منطقه آذربایجان شرقی وجود نداشت ($P > ۰/۰۵۰$) (جدول ۲). با استفاده از تحلیل ANOVA ارتباط بین توزیع آلل‌های ژن *vacA* و تظاهرات بالینی مورد بررسی قرار گرفت که هیچ ارتباط معنی‌داری مشاهده نشد ($P > ۰/۰۵۰$). شکل‌های ۱ و ۲ مربوط به الکتروفورز محصولات PCR و اندازه باندهای مربوط به آن می‌باشد.

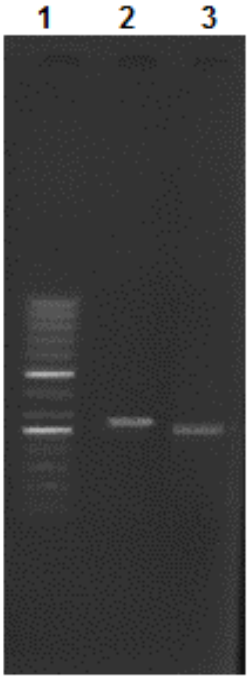
جدول ۲. *فراوانی ژنوتیپ‌های ژن vacA (vacuolating cytotoxin A) در مطالعه حاضر*

ژنوتیپ	التهاب (تعداد = ۵۰ نفر)	زخم پپتیک (تعداد = ۱۳ نفر)	آدنوکارسینوما (تعداد = ۲۵ نفر)	حالت کلی (تعداد = ۸۸ نفر)
	تعداد (درصد)			
***vacA*m۱**	۸ (۱۶)	۴ (۳۰/۸)	۶ (۲۴)	۱۸ (۲۰/۴)
***vacA*m۲**	۱۹ (۳۸)	۴ (۳۰/۸)	۷ (۲۸)	۳۰ (۳۴/۰)
***vacA*s۱**	۱۶ (۳۲)	۵ (۳۸/۵)	۹ (۳۶)	۳۰ (۳۴/۰)
***vacA*s۲**	۹ (۱۸)	۳ (۲۳/۱)	۲ (۸)	۱۴ (۱۵/۹)
***vacA*s۱m۱**	۵ (۱۰)	۲ (۱۵/۴)	۵ (۲۰)	۱۲ (۱۳/۶)
***vacA*s۱m۲**	۱۰ (۲۰)	۳ (۲۳/۱)	۷ (۲۸)	۲۰ (۲۲/۷)
***vacA*s۲m۱**	۰ (۰)	۲ (۱۵/۴)	۱ (۴)	۳ (۳/۴)
***vacA*s۲m۲**	۶ (۱۲)	۰ (۰/۰)	۱ (۴)	۷ (۷/۹)
نتیجه آماری				$P > ۰/۰۵$



شکل ۱. *الکتروفورز محصولات PCR (Polymerase chain reaction) آلل‌های m ۱ و m ۲*

چاهک ۱ شامل اندازه مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۶-۲ مربوط به نمونه‌های دارای آلل‌های m۱ و m۲ و چاهک ۷ مربوط به شاهد منفی است وزن قطعه آللی m۱، ۵۶۷ و وزن قطعه آللی m۲، ۶۴۲ جفت باز است



شکل ۲. *الکتروفورز محصولات PCR (Polymerase chain reaction) آلل‌های s ۱ و s ۲*

چاهک ۱ شامل اندازه مارکر ۱۰۰ جفت بازی و چاهک ۲ و ۳ شامل نمونه‌های دارای آلل‌های s۱ و s۲ است

وزن قطعه آللی s۱، ۲۵۹ و وزن قطعه آللی s۲، ۲۸۶ جفت باز است

در مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری بین شیوع آدنوکارسینومای معده و سن مشاهده شد (P = ۰/۰۰۱). همچنین نتایج مطالعه ارتباط معنی‌داری را بین شیوع آدنوکارسینومای معده و جنسیت نشان داد، اما هیچ ارتباط معنی‌داری بین سن یا جنس و شیوع بیماری زخم پپتیک مشاهده نشد (P > ۰/۰۵۰). نوع اختلالات گوارشی بر اساس سن و جنس در جدول ۳ ارایه شده است.

جدول ۳. *توزیع بیماران مورد مطالعه بر اساس نوع اختلالات گوارشی، جنس و سن*

بیماری / سن	التهاب (تعداد = ۵۰ نفر)		زخم پپتیک (تعداد = ۱۳ نفر)		آدنوکارسینومای معده (تعداد = ۲۵ نفر)	
	مرد	زن	مرد	زن	مرد	زن
۴۰ سال و بالاتر	۱۵ (۶۵/۲)	۱۵ (۵۵/۶)	۵ (۸۳/۳)	۶ (۸۵/۷)	۱۷ (۹۴/۴)	۷ (۱۰۰)
کمتر از ۴۰ سال	۸ (۳۴/۸)	۱۲ (۴۴/۴)	۱ (۱۶/۷)	۱ (۱۴/۳)	۱ (۵/۶)	۰ (۰/۰)
مجموع	۲۳	۲۷	۶	۷	۱۸	۷

بحث

هلیکوباکتر پیلوری دارای شاخص‌های متعددی می‌باشد که نقش مهمی را در بیماری‌زایی سوش‌های مختلف این باکتری ایفا می‌کند (۱۹). سیتوتوکسین واکوئله کننده یکی از شاخص‌های مهم *هلیکوباکتر پیلوری* در تعیین بیماری‌زایی به شمار می‌رود. بسیاری از مطالعات با بررسی فراوانی ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* در مناطق مختلف، تنوع جغرافیایی سوش‌های هلیکوباکتر پیلوری را در سراسر جهان نشان داده‌اند. این تحقیقات می‌توانند جهت ارایه روش‌های مناسب پیشگیری و درمان مفید واقع شوند (۱۴). مطالعه حاضر به بررسی توزیع آلل‌های ژن *vacA* و ارتباط آن با تظاهرات بالینی در ۶۴ سوش هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از سه گروه بیماران مبتلا به التهاب معده، زخم پپتیک و آدنوکارسینومای معده در منطقه آذربایجان شرقی پرداخت.

در کشورهای غربی مانند آمریکا و اروپا که تنوع آللی *vacA* شایع می‌باشد، بین وجود گونه‌های آللی s۱ و m۱ ژن *vacA* و تظاهرات بالینی ارتباط معنی‌داری نشان داده شده است (۲۴-۲۰، ۱۰)؛ به طوری که بین سوش‌های نوع s۱/m۱ و s۱/m۲ و زخم گوارشی و بین سوش‌های s۱/m۱ و سرطان معده ارتباط معنی‌داری مشاهده شد (۲۶، ۲۵ ۲۰، ۱۰). مطالعه انجام شده در کشور آلمان نشان داد که ۹۶ درصد سوش‌های جدا شده دارای آلل s۱، ۴ درصد دارای آالل s۲ و ۰/۵۱ درصد دارای آلل m۱ هستند (۲۷). بیشتر سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* در کشورهای آسیای شرقی و در افراد آلوده دارای آالل s۱ می‌باشند. در کشورهای ژاپن و کره (با شیوع بالای سرطان معده) فراوانی آلل m۱ و در مناطق جنوبی آسیای شرقی (با شیوع پایین سرطان معده) فراوانی آلل m۲ غالب است (۲۸).

سایر مطالعات انجام شده در ایران فراوانی آلل s۱ و m۲ را در مقایسه با آلل s۲ و m۱ بالا ذکر کرده‌اند که با مطالعه حاضر مطابقت دارد، اما این تفاوت از لحاظ آماری معنی‌دار نبود. برخلاف مطالعات ذکر شده که آلل s۱ را فراوان‌ترین نوع سوش (در حدود ۷۰ درصد) در ایران معرفی کرده‌اند (۳۳-۲۹)، در مطالعه حاضر فراوانی آلل s۱ برابر با ۳۴ درصد بود. بنابراین در مطالعه حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری بین فراوانی آلل‌های s۱، s۲، m۱ و m۲ در سوش‌های

هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از افراد مبتلا به زخم پپتیک یا آدنوکارسینومای معده مشاهده نشد.

در موافقت با مطالعه انجام شده در کشورهای شمال خاورمیانه که شیوع بالایی از سرطان معده را دارند (۱۵)، در مطالعه حاضر نیز فراوانی ژنوتیپ‌های s۱m۲، s۱m۱، s۲m۲ و s۲m۱ به ترتیب بیشترین می‌باشد، اما از لحاظ آماری هیچ ارتباط معنی‌داری وجود ندارد و این در حالی است که مطالعه‌ای در اصفهان فراوانی سوش نوع s۱m۱ را بالاترین معرفی کرد (۳۴). در مطالعه حاضر سوش نوع s۱m۲ بیشترین فراوانی را در بین افراد آلوده داشت که با سایر مطالعات صورت گرفته در ایران (۳۴-۲۹) همخوانی دارد. در ترکیه و کشورهای غربی نیز سوش نوع s۱m۲ بیشترین فراوانی را نشان داد (۳۵)، اما در هند (۳۶) و افغانستان (۳۷)، s۱m۱ بیشترین فراوانی را به خود اختصاص داده است.

بر اساس نتایج مطالعه حاضر، سوش نوع s۱m۱ دارای بالاترین سمیت در سلول‌های اپی‌تلیالی معده بود و درصد بیشتری را در بیماران مبتلا به زخم پپتیک و آدنوکارسینوما نسبت به بیماران مبتلا به التهاب داشت و کمترین سمیت متعلق به سوش نوع s۲m۲ بود؛ به طوری که این نوع سوش در بیماران مبتلا به زخم پپتیک یافت نشد و با نتایج تحقیقات انجام شده در ایران (۳۰، ۲۹) مطابقت دارد. هیچ یک از فراوانی‌ها در مطالعه حاضر از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

مطالعات نیز ارتباط معنی‌داری را بین ژنوتیپ‌های *vacA* و تظاهرات بالینی گزارش کرده‌اند (۳۸، ۳۲). همچنین مطالعه مقایسه‌ای انجام شده در عراق و ایران، ارتباط معنی‌داری را بین این ژنوتیپ‌ها با زخم پپتیک در عراق نشان داد در حالی که چنین ارتباطی در سوش‌های ایرانی مشاهده نگردید (۳۹). با توجه به این که فراوانی ژنوتیپ‌های *vacA* در مناطق مختلف به طور معنی‌داری متفاوت می‌باشد، می‌توان گفت که در مطالعه حاضر هیچ ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مختلف *vacA* با تظاهرات بالینی مشاهده نگردید.

مطالعات نشان داده است که ۹۰ درصد سرطان‌های معده از نوع آدنوکارسینوما می‌باشد (۳). نوع روده‌ای آدنوکارسینومای معده شیوع بسیار بالایی نسبت به نوع منتشره دارد و بیشتر تحت تأثیر عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* به وقوع می‌پیوندد (۴۰). تومور در این نوع از آدنوکارسینوما اغلب در اواخر زندگی (سن ۵۰ سال به بالا) بیمار توسعه می‌یابد و شیوع آن در مردان نسبت به زنان دو برابر می‌باشد (۴۱). در مطالعه حاضر آدنوکارسینومای نوع روده‌ای ارتباط معنی‌داری با سن ابتلا و جنسیت نشان داد؛ به طوری که میزان بروز آن در مردان بالا بود و بیشتر مبتلایان را افراد بالای ۴۰ سال تشکیل می‌دادند.

References

1. Atherton JC. The pathogenesis of Helicobacter pylori-induced gastro-duodenal diseases. *Annu Rev Pathol* 2006; 1: 63-96.
2. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP, Chang Y, Vogelman JH, Orentreich N, et al. Helicobacter pylori infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325(16): 1127-31.
3. Coleman MP, Esteve J, Damiecki P, Arslan A, Renard H. Trends in cancer incidence and mortality. *IARC Sci Publ* 1993; (121): 1-806.
4. Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55(2): 74-108.
5. Parkin DM. The global health burden of infection-associated cancers in the year 2002. *Int J Cancer* 2006; 118(12): 3030-44.
6. Peek RM, Jr., Fiske C, Wilson KT. Role of innate immunity in Helicobacter pylori-

induced gastric malignancy. *Physiol Rev* 2010; 90(3): 831-58.
7. Blaser MJ. Hypothesis: the changing relationships of Helicobacter pylori and humans: implications for health and disease. *J Infect Dis* 1999; 179(6): 1523-30.
8. 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(14): 10566-73.
9. Cover TL, Cao P, Murthy UK, Sipple MS, Blaser MJ. Serum neutralizing antibody response to the vacuolating cytotoxin of Helicobacter pylori. *J Clin Invest* 1992; 90(3): 913-8.
10. Atherton JC, Cao P, Peek RM, Jr., Tummuru MK, Blaser MJ, Cover TL. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of Helicobacter pylori. Association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *J Biol Chem* 1995; 270(30): 17771-7.
11. Letley DP, Lastovica A, Louw JA, Hawkey CJ, Atherton JC. Allelic diversity of the Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin gene in South Africa: rarity of the vacA s1a genotype and natural occurrence of an s2/m1 allele. *J Clin Microbiol* 1999; 37(4): 1203-5.
12. Bertuccio P, Cahtenoud L, Leui F, Praud D, Ferlay J, Negri E, et al, Recent patterns in gastric cancer: a global overview. *Int J Cancer* 2009; 125(3): 666-73.
13. Basiri Z, Safaralizadeh R, Bonyadi MJ, Somi MH, Mahdavi M, Latifi-Navid S. Helicobacter pylori vacA d1 genotype predicts risk of gastric adenocarcinoma and peptic ulcers in northwestern Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15(4): 1575-9.
14. Sheu SM, Hung KH, Sheu BS, Yang HB, Wu JJ. Association of nonsynonymous substitutions in the intermediate region of the vacA gene of helicobacter pylori with gastric diseases in Taiwan. *J Clin Microbiol* 2009; 47(1): 249-51.
15. Sugimoto M, Zali MR, Yamaoka Y. The association of vacA genotypes and Helicobacter pylori-related gastroduodenal diseases in the Middle East. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28(10): 1227-36.
16. Somi MH, Farhang S, Mirinezhad SK, Naghashi S, Seif-Farshad M, Golzari M. Cancer in East Azerbaijan, Iran: results of a population-based cancer registry. *Asian Pac J Cancer Prev* 2008; 9(2): 327-30.
17. Westbrook JI, Duggan AE, Duggan JM, Westbrook MT. A 9 year prospective cohort study of endoscoped patients with upper gastrointestinal symptoms. *Eur J Epidemiol* 2005; 20(7): 619-27.
18. Chattopadhyay S, Patra R, Ramamurthy T, Chowdhury A, Santra A, Dhali GK, et al. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of Helicobacter pylori directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42(6): 2821-4.
19. Wilson KT, Crabtree JE. Immunology of Helicobacter pylori: insights into the failure of the immune response and perspectives on vaccine studies. *Gastroenterology* 2007; 133(1): 288-308.
20. Atherton JC, Peek RM, Jr., Tham KT, Cover TL, Blaser MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 1997; 112(1): 92-9.
21. Evans DG, Queiroz DM, Mendes EN, Evans DJ, Jr. Helicobacter pylori cagA status and s and m alleles of vacA in isolates from individuals with a variety of H. pylori-associated gastric diseases. *J Clin Microbiol* 1998; 36(11): 3435-7.
22. Kidd M, Lastovica AJ, Atherton JC, Louw JA. Heterogeneity in the Helicobacter pylori vacA and cagA genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? *Gut* 1999; 45(4): 499-502.

23. Umit H, Tezel A, Bukavaz S, Unsal G, Otkun M, Soylu AR, et al. The relationship between virulence factors of Helicobacter pylori and severity of gastritis in infected patients. *Dig Dis Sci* 2009; 54(1): 103-10.
24. van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Pena S, Midolo P, Ng EK, et al. Expanding allelic diversity of Helicobacter pylori vacA. *J Clin Microbiol* 1998; 36(9): 2597-603.
25. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, et al. Clinical relevance of Helicobacter pylori cagA and vacA gene polymorphisms. *Gastroenterology* 2008; 135(1): 91-9.
26. Rhead JL, Letley DP, Mohammadi M, Hussein N, Mohagheghi MA, Eshagh HM, et al. A new Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin determinant, the intermediate region, is associated with gastric cancer. *Gastroenterology* 2007; 133(3): 926-36.
27. Strobel S, Bereswill S, Balig P, Allgaier P, Sonntag HG, Kist M. Identification and analysis of a new vacA genotype variant of Helicobacter pylori in different patient groups in Germany. *J Clin Microbiol* 1998; 36(5): 1285-9.
28. Yamaoka Y, Kato M, Asaka M. Geographic differences in gastric cancer incidence can be explained by differences between Helicobacter pylori strains. *Intern Med* 2008; 47(12): 1077-83.
29. 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.
30. 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.
31. Jafari F, Shokrzadeh L, Dabiri H, Baghaei K, Yamaoka Y, Zojaji H, et al. vacA genotypes of Helicobacter pylori in relation to cagA status and clinical outcomes in Iranian populations. *Jpn J Infect Dis* 2008; 61(4): 290-3.
32. Molaei M, Foroughi F, Mashayekhi R, Haghazali M, Zojaji H, Jafari F, et al. CagA status and VacA subtypes of Helicobacter pylori in relation to histopathologic findings in Iranian population. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53(1): 24-7.
33. Salehi Z, Hossein Abadi AS, Ismail P. Evaluation of Helicobacter pylori vacA genotypes in Iranian patients with peptic ulcer disease. *Digestive Diseases and Sciences* 2008; 54(11): 2399-403.
34. Havaei S, Mohajeri P, Khashei R, Salehi R, Tavakoli H. Prevalence of Helicobacter pylori vacA different genotypes in Isfahan, Iran. *Adv Biomed Res* 2014; 3: 48.
35. 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(4): 1648-51.
36. Chattopadhyay S, Datta S, Chowdhury A, Chowdhury S, Mukhopadhyay AK, Rajendran K, et al. Virulence genes in Helicobacter pylori strains from West Bengal residents with overt H. pylori-associated disease and healthy volunteers. *J Clin Microbiol* 2002; 40(7): 2622-5.
37. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between Helicobacter pylori iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. *J Clin Microbiol* 1999; 37(7): 2274-9.
38. Chiarini A, Cala C, Bonura C, Gullo A, Giuliana G, Peralta S, et al. Prevalence of virulence-associated genotypes of Helicobacter pylori and correlation with severity of gastric pathology in patients

from western Sicily, Italy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2009; 28(5): 437-46.
39. Hussein NR, Mohammadi M, Talebkhan Y, Doraghi M, Letley DP, Muhammad MK, et al. 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(5): 1774-9.
40. Parkin DM, Bray FI, Devesa SS. Cancer burden in the year 2000. The global picture. *Eur J Cancer* 2001; 37(Suppl 8): S4-66.
41. Henson DE, Dittus C, Younes M, Nguyen H, Albores-Saavedra J. Differential trends in the intestinal and diffuse types of gastric carcinoma in the United States, 1973-2000: increase in the signet ring cell type. *Arch Pathol Lab Med* 2004; 128(7): 765-70.

Correlation of *Helicobacter pylori vac A* s, m Region Genotypes with Different Gastrodoudenal Diseases in East Azerbaijan Patients

Reza Safaralizadeh, Ph.D.[1*], Zeynab Basiri, M.Sc.[2], Mohammad Ali Hosseinpour-Feizi, Ph.D.[3], Mortaza Jabarpour-Boniadi, Ph.D.[4], Batol Motaghi, M.Sc.[5], Masoumeh Nemati, M.Sc.[5]

1. Assistant Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
2. Researcher, Department of Animal Biology, Facultyof Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
3. Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
4. Associate Professor, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran
5. Researcher, Department of Animal Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran

* Corresponding author; e-mail: safaralizadeh@tabrizu.ac.ir

(Received: 5 July 2014 Accepted: 26 Oct. 2014)

Abstract

Background& Aims: Gastric adenocarcinoma has been considered as an infectious disease since 1994, when the Helicobacter pylori (H. pylori) infection categorized as a definite class I human carcinogen. H. pylori uses extensive numbers of virulence factors to overcome host defence mechanisms. One independent H. pylori factor that plays an important role in determining H.pylori pathogenesis is vacuolating cytotoxin A(vacA).The purpose of this study was to investigate the frequency of vacA Genotypes, and also its association with disease outcome in infected patients.

Methods: Antral gastric biopsy materials were collected from 88 patients with different gastroduodenal diseases. Genotyping of the VacA alleles were determined by PCR methods.

Results: Of 64 H.pylori positive patients, 38 were classified as gastritis, 11 as peptic ulcer, and 15 as gastric adenocarcinoma. Four Vac A genotypes were observed, including 20 (22.7%) for s1/m2 (with frequency of relatively equal in all groups), 12 (13.6%) for s1m1 (with the highest frequency in gastric adenocarcinoma and peptic ulcer), 7 (7.95%) for s2m2 (with the highest frequency in gastritis) and 3 (3.4%) for s2m1 (with the highest frequency in peptic ulcer).

Conclusion: In this study, no significant relationship was observed between the different genotypes of the vacA and the clinical outcome. Gastric adenocarcinoma also showed significant association with age and gender.

Keywords: East Azerbaijan, Iran, Helicobacter pylori (H. pylori), Vacuolating cytotoxin A (vacA) genotypes, Gastric adenocarcinoma, Peptic ulcer

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2015; 22(1): 21-31