فراوانی ژن بیماری زای dupA در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از موارد بالینی و ارزیابی ارتباط آن با انواع بیماری های گوارشی

نگار صعود[1]، میثم سرشار [*2]، حسن ممتاز[3]، محمد کارگر[4]، احمد حسنی[5]

1. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، عضو باشگاه پژوهشگران جوان
2. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا..(عج)
3. میکروب شناس، دانشیار گروه دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد
4. میکروب شناس، دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم
5. کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات

*** نشانی برای مکاتبه:** مرکز تحقیقات بیولوژی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه ا...، تلفن: 09127870650، نمابر 021-88039883، meysam_sarshar@yahoo.com

دریافت مقاله: خرداد نود و یک پذیرش برای چاپ: مرداد نود و یک

چکیده

سابقه و هدف: *هلیکوباکتر پیلوری در معده انسان کلونیزه شده و در ایجاد انواع بیماری های گوارشی از اهمیت اتیولوژیک بالایی برخوردار است. dupA یکی از ژن های ویرولانس این باکتری می باشد که به نظر می رسد در ایجاد زخم دوازدهه نقش داشته و از طرفی در برخی مطالعات رابطه معکوس این ژن با سرطان معده گزارش شده است. هدف از این پژوهش، تعیین فراوانی ژن بیماری زای dupA در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از موارد بالینی و تعیین ارتباط این ژن با انواع بیماری های گوارشی می باشد.*

روش کار: *این مطالعه به صورت توصیفی- مقطعی در فاصله زمانی اردیبهشت تا تیر ماه سال 1390 بر روی 150 نمونه بیوپسی معده بیماران دارای بیماری های گوارشی مراجعه کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد انجام شد. نمونه های بیوپسی بیماران جهت حضور هلیکو باکتر پیلوری با تست اوره آز و کشت تایید و از PCR جهت تشخیص و بررسی ژن dupA استفاده شد. نتایج با استفاده از آزمون آماری مربع کای توسط نرم افزار SPSS تجزیه و تحلیل شد.*

یافته ها: *از مجموع 131 نمونه هلیکوباکتر پیلوری، 123 نمونه (94%) بر اساس ژن 16S rRNA، مثبت شدند که از این تعداد، 41 مورد (33/33%) دارای ژن dupA بودند. آزمون آماری، ارتباط معناداری بین حضور ژن dupA و بیماری زخم دوازده نشان نداد. در حالیکه ارتباط معکوس این ژن با سرطان معده مشاهده شد (P<0/05). هم چنین بررسی آماری، ارتباط قابل قبولی بین حضور ژن dupA، استفاده از دخانیات (P<0/04) و نفخ شکم (P<0/03) نشان داد.*

نتیجه گیری: *حضور ژن dupA در بیماران دارای زخم دوازدهه معنادار نبوده و ارتباط معکوسی با سرطان معده دارد. با این وجود به دلیل تنوع ژنتیکی بالا در میان سویه های هلیکوباکتر پیلوری در جوامع مختلف، تحقیقات بیشتر در ارتباط با نقش این ژن در ایجاد بیماری های گوارشی ضروری به نظر می رسد.*

واژگان کلیدی: ***هلیکوباکتر پیلوری، dupA، بیماریهای گوارشی***

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری، باسیلی گرم منفی، مارپیچی و تاژک دار است که حدود 3/5 میکرون طول و 0/5 میکرون عرض دارد. این باکتری یکی از شایع ترین عفونت های انسانی می باشد و حدود نیمی از جمعیت جهان حامل این ارگانیسم هستند(1، 2). هلیکوباکتر پیلوری در معده انسان کلونیزه شده و در ایجاد بیماری های گوارشی مانند گاستریت، زخم دوازدهه، زخم معده و سرطان معده از اهمیت اتیولوژیک بالایی برخوردار است(1، 3، 4). مطالعات صورت گرفته نشان می دهد عوامل متعددی بر شدت بروز اختلالات گوارشی مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری موثر می باشند، که از مهم ترین این موارد می توان به ژنتیک میزبان، عوامل محیطی و فاکتورهای ویرولانس باکتری اشاره نمود(4-6). بر اساس آخرین مطالعات صورت گرفته، ژنهای بیماری زایی هلیکوباکتر پیلوری به سه گروه طبقه بندی می گردند. اولین گروه، ژن های خاص سوش می باشند که فقط در سویه های هلیکوباکترپیلوری شناسایی شده اند. در این گروه، شناخته شده ترین ژن ها متعلق به جزیره بیماری زایی cag (cag PAI) می باشد که سیستم ترشحی نوع چهار را کد می کند.

سوش های هلیکوباکترپیلوری که دارای این جزیره بیماری زایی هستند، نسبت به سوش هایی که آنرا ندارند از لحاظ آماری ارتباط بیشتری با بیماری زخم معده و سرطان معده دارند(4، 7). در این گروه ژن های بیماری زایی دیگری نیز وجود دارند که در خارج از این جزیره واقع شده و تقریباً نیمی از ژن های خاص هلیکوباکتر پیلوری را شامل شده و در ناحیه ی Plasticity قرار گرفته اند. jhp0947 و dupA از ژن های مهم در این ناحیه می باشند که از عوامل حدت هلیکوباکتر پیلوری محسوب می گردند(8). دومین گروه از ژن های هلیکوباکتر پیلوری، ژن هایی با فاز متغیر می باشند. شش ژن عمده در این گروه یعنی ژنهای oipA، sabA، sabB، babB، babC و hopZ، پروتئین های غشاء خارجی باکتری را کد می نمایند که عمل کرد آنها در زمان رشد باکتری در محیط ها و موقعیت های مختلف تغییر می کند(8، 9). در این میان به نظر می رسد پروتئین های OipA (پروتئین التهابی خارجی) و SabA (ادهسین متصل شونده به سیالیک اسید) ارتباط بیشتری با زخم و سرطان معده دارند(10). آخرین گروه این ژن های بیماریزا، ژن هایی هستند که ساختار ژنوتیپ های متغیری را در هر سویه دارند که مهم ترین آنها، vacA می باشد. ژنوتیپ های این ژن که شامل ترکیبات موزائیک آلل های نواحی سیگنال (s) و نواحی میانی (m) می شود با بیماری های گوارشی متفاوت در ارتباط هستند(1، 4)Lu و همکاران در سال 2005، ژن های متوالی jhp0917 و jhp0918 را در سویه های هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار دادند و به عنوان یک نشانگر برای بروز بیماری زخم دوازدهه و عدم بروز سرطان معده در ژاپن، کره و کلمبیا معرفی نمودند. این ژن کامل را dupA (Duodenal ulcer promoting gene) نامیدند و به نظر می رسد در بیماران دارای زخم های گوارشی شیوع بیشتر و در بیماران دارای سرطان معده و بیماران آتروفی، شیوع کمتری داشته باشد(13-11).

در اواخر سال 2007 و اوایل 2008، چهار مطالعه در ارتباط بین حضور ژن dupA در سویه های هلیکوباکتر پیلوری و بیماری های گوارشی انجام شد. Arachi و همکاران در سال 2007، Argent و همکاران در سال 2007، دورقی و همکاران در سال 2008 و Gomes و همکاران در سال 2008، ارتباط این ژن را با بیماری های مختلف گوارشی نشان دادند(15-12). در بررسی که در هندوستان در سال 2007 انجام شد، ارتباط مستقیمی بین این ژن و بیماری زخم دوازدهه مشاهده گردید، در حالیکه شیوع این ژن در بیماران دارای dyspepsia ناچیز گزارش شد(15). اما در بررسی که توسط دورقی و همکاران در تهران انجام شد ارتباطی میان این ژن، با بیماری های گوارشی نظیر زخم معده، زخم دوازدهه مشاهده نگردید(14). اما بررسی های هیستولوژیکی در مطالعات انجام شده نشان داد که حضور ژن dupA با پیدایش فولیکول های لمفوئیدی و lesion gastric dyspepsia رابطه معکوس داشته، بنابراین عدم ارتباط این ژن با بیماری سرطان معده گزارش گردید(18-15). با توجه به اینکه حضور ژن dupA در سویه های هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط آن با بیماری زایی در مناطق و جوامع مختلف دنیا بسیار متفاوت می باشد، لذا هدف از این پژوهش، تعیین حضور ژن dupA در بیماران مورد مطالعه و ارزیابی ارتباط این ژن با بیماری های گوارشی در شهرکرد به عنوان یکی از مناطق با شیوع بالای هلیکوباکتر پیلوری می باشد.

روش کار

مطالعه حاضر به صورت توصیفی- مقطعی در فاصله زمانی اردیبهشت تا تیر ماه سال 1390 بر روی 150 نمونه بیوپسی معده از افراد دارای بیماری های گوارشی مراجعه کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد و با در نظر گرفتن میزان شیوع 80 درصدی، ضریب اطمینان 95 و خطای نوع اول 5 درصد، انجام شد (1، 4، 7). اطلاعات پزشکی و دموگرافیک بیماران نظیر سن، جنس، شغل، میزان تحصیلات، سابقه استفاده از دارو و غیره، توسط پرسشنامه و با همکاری پزشک متخصص بررسی شد. بیمارانی که طی سی روز گذشته از آنتی بیوتیک ها، داروهای ضد التهابی غیر استروئیدی و مهار کننده ها ی پمپ پروتون استفاده کرده بودند از مطالعه خارج شدند. از هر بیمار، دو نمونه از ناحیه آنتروم معده گرفته شد. یکی از نمونه ها بلافاصله در محلول اوره کریستینسن قرار گرفت (Rapid urease test, RUT, Fermentas, Lithuania) و در اثر اوره آز تولیدی توسط هلیکو باکتر، رنگ محیط تغییر و پس از گذشت 20 دقیقه نتایج ثبت گردید(1). نمونه دوم نیز بلافاصله در دمای پایین به آزمایشگاه بیوتکنولوژی شهرکرد انتقال داده شد و استخراج DNA از آن صورت گرفت. جهت استخراج DNA، ابتدا تیوپ حاوی نمونه بیوپسی به همراه محیط کشت درون آن با دور 5000 rpm به مدت 3 دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس از رسوب بدست آمده با استفاده از کیت استخراج DNA، ساخت شرکت سیناژن ایران و طبق دستورالعمل گفته شده، استخراج DNA صورت گرفت.ابتدا از ژن محافظت شده 16S rRNA هلیکوباکتر پیلوری، جهت تشخیص این باکتری استفاده شد(19، 20). سپس برای شناسایی ژن dupA، دو ژن jhp0917 و jhp0918 بررسی شد. ایزوله هایی که هر دوی این ژن ها را دارا بودند، dupA مثبت در نظر گرفته شدند(8، 11). از نمونه DNA سویه های استاندارد 26695، J99 و SS1 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید(جدول1 تا 3).

بررسی های آماری با استفاده از نرم افزار (spss Inc., Chicago, IL., USA ver 18) SPSS و (Microsoft office Ecell 2007 professional)آزمون های کای دو، دقیق فیشر و ANOVA صورت گرفت. مرز معنا دار بودن ($P<0/05$) در نظر گرفته شد.

جدول 1: توالی پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه

نام پرایمر	توالی پرایمر ها (5′ به 3′)	اندازه محصول (جفت باز)	منبع
HP-1 HP-2	F: 5'-CTGGAGAGACTAAGCCCTCC-3' R: 5'-ATTACTGACGCTGATTGTGC-3'	109	19 و 20
Jhp0917-A jhp0917-B	F: 5'-TGGTTTCTACTGACAGAGCGC-3' R: 5'-AACACGCTGACAGGACAATCTCCC-3'	307	8 و 11
jhp0918-A jhp0918-B	F: 5'-CCTATATCGCTAACGCGCGCTC-3' R: 5'-AAGCTGAAGCGTTTGTAACG-3'	276	8 و 11

جدول 2: مقادیر مورد نیاز جهت انجام واکنش PCR

مقادیر	ترکیبات (غلظت)
2.5 µl	DreamTaq™ PCR buffer(10X)
2 µl	MgCl2(25mM)
1 µl	dNTPs(2mM)
1 µl	Taq polymerase(5U/µl)
1.5 µl	Primer F: (20 p.mol)
1.5 µl	Primer R: (20 p.mol)
2 µl	DNA
13.5 µl	Distilled water
25 µl	Total Volume

جدول 3 : برنامه ی دمایی دستگاه ترموسایکلر

تعداد چرخه	زمان	دما	نام مرحله	چرخه
1 بار	4 دقیقه	95°C	واسرشت اولیه	اول
30 بار	1 دقیقه	94°C	واسرشت شدن	دوم
	1 دقیقه	57°C	اتصال پرایمر ها	
	1 دقیقه	72°C	گسترش	
1 بار	5 دقیقه	72°C	گسترش نهایی	سوم

یافته ها

از 150 نمونه بیوپسی گرفته شده از بیماران مبتلا به بیماریهای گوارشی، 131 نمونه (87/3%) با استفاده از تست اوره آز سریع (RUT) مثبت تشخیص داده شدند. تعداد 62 مورد (47/3%)، بیماران مرد با میانگین گروه سنی 49/9 سال و تعداد 69 مورد (52/7%) بیماران زن با میانگین گروه سنی 45/6 سال بودند. بر اساس اطلاعات پرسشنامه، 30% از نمونه های هلیکوباکترپیلوری مثبت، دچار بیماری های PUD (دارای زخم های گوارشی) و70% دارای بیماری های NUD (اختلالات گوارشی بدون زخم) بودند. بیماری های PUD را به سه دسته زخم معده(60%)، زخم دوازدهه(22%) و سرطان معده(2%) و بیماری های NUD نیز به دو دسته گاستریت(125) و دئودنیت(4%) دسته بندی شدند.

با استفاده از روش PCR از مجموع 131 نمونه هلیکوباکتر پیلوری، 123 نمونه (94%) بر اساس ژن 16S rRNA، مثبت شدند. نتاج حاصل از PCR سویه های هلیکوباکتر نشان داد، 41 مورد (33/33%) از نمونه های هلیکوباکتر پیلوری مثبت دارای ژن dupA می باشند که محصول 307 جفت بازی برای ژن jhp0917 و محصول 276 جفت بازی برای ژن jhp0918 مشاهده گردید (ژن dupA متشکل از دو ژن jhp0917 و jhp0918 می باشد). هم چنین ژنjhp0917 در 53 مورد (43/1%) و ژن jhp0918 در 49 مورد (39/9%) به صورت انفرادی در ایزوله های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران، مشاهده شد.

ارتباط معنی داری بین حضور ژن dupA و بیماری زخم دوازده به دست نیامد. از طرفی ارتباط میان نبود این ژن، با سرطان معده (P<0/05) مشاهده شد(جدول4). ارتباط قابل قبولی بین ژن dupA، استفاده از دخانیات (P<0/04) و نفخ شکم (P<0/03) دیده شد(جدول5).

جدول 4: توزیع مبتلایان به بیماری های گوارشی براساس نوع بیماری و داشتن ژن dupA

بیماریهای گوارشی	زخم معده	زخم دوازدهه	سرطان معده*	گاستریت معده	دئودنیت
تعداد بیماران	18	33	3	90	6
تعداد موارد مثبت واجد ژن	7 (%38/9)	13 (%39/4)	0 (%0/0)	37 (%24/7)	2 (%33/3)

جدول 5: توزیع مبتلایان به بیماری های گوارشی براساس علایم بالینی و داشتن ژن dupA

علائم	درد	تهوع	بی اشتهایی	برگشت اسید	استفاده از آنتی بیوتیک	سیگار*	نفخ شکم**
تعداد بیماران	120	95	34	102	47	19	93
تعداد موارد مثبت واجد ژن	19 (%15/8)	5 (%5/3)	7 (%20/6)	5 (%4/9)	7 (%14/9)	12 (%63/1)	89 (%95/7)

*P<0/05

*P<0/04, ** P<0/03

بحث

هلیکوباکتر پیلوری از عوامل مهم اتیولوژیک زخم های گوارشی شناخته شده است. هرچند افراد زیادی به این ارگانیسم پیچیده آلوده می شوند اما تنها 15 درصد آنها به انواع بیماری های گوارشی مبتلا می شوند(21). مطالعات صورت گرفته نشان می دهد که میزان شیوع هلیکوباکتر پیلوری در کشور های توسعه یافته و در حال توسعه بسیار متفاوت است. از دیگر نکات حائز اهمیت در این باکتری، افزایش میزان کلونیزاسیون آن از دوران کودکی تا سن بالاتر از 60 سال می باشد(24-22).

عوامل متعددی در شدت بروز اختلالات گوارشی مرتبط با هلیکوباکتر پیلوری موثر نقش دارند. از جمله این موارد می توان به ژنتیک میزبان، عوامل محیطی و فاکتورهای ویرولانس باکتری اشاره نمود(4). از جمله ژن های ویرولانسی که در پاتوژنز و بقای هلیکوباکتر پیلوری موثرند ژن های CagA، VacA، BabA، iceA، alpA، sabA، sabB و oipA می باشند(21، 25، 26). پژوهش حاضر با هدف تعیین فراوانی ژن dupA به عنوان یک فاکتور مهم بیماری زایی هلیکوباکتر پیلوری از نمونه های بیوپسی معده بیماران مبتلا به ناراحتی های گوارشی مراجعه کننده به بیمارستان هاجر شهرکرد صورت گرفت.

فراوانی این باکتری با استفاده از تست سریع اوره آز، 87/3% و PCR براساس ژن 16S rRNA، 82% در جمعیت مورد مطالعه بود. نتایج مطالعات صورت گرفته در ارتباط با شیوع ژن dupA و ارتباط آن با بیماری های گوارشی و سرطان معده در کشورهای آسیایی و کشورهای اروپایی بسیار متفاوت می باشد. یکی از دلایل این موضوع شیوع متفاوت هلیکوباکتر پیلوری در میان جوامع اروپایی و آسیایی است(14-11). مطالعه Gomes و همکاران در سال 2010 در برزیل که بر روی میزان شیوع ژن dupA در میان کودکان و بزرگسالان مبتلا به بیماری های گوارشی انجام شد، نشان داد که 92% بیماران هلیکوباکتر پیلوری مثبت، دارای ژن dupA می باشند و شیوع این ژن در کودکان مورد مطالعه بسیار بیشتر از بزرگ سالان گزارش گردید. با این وجود تمامی کودکان دارای زخم معده دارای این ژن بودند و هیچگونه ارتباطی میان این ژن و بیماری های گوارشی مانند گاستریت، زخم معده و سرطان معده مشاهده نشد(13).

در مطالعه حاضر 33/33% از سوش های هلیکوباکتر پیلوری، دارای هر دو ژن jhp0917 و jhp0918 بودند و dupA مثبت در نظر گرفته شدند. همچنین نتایج نشان داد، ژن jhp0918 نسبت به ژن jhp0917 دارای شیوع کمتری می باشد که به نظر می رسد این ژن در این سوش ها فعال نبوده و یا دچار جهش شده است. جهش های پی در پی در ژنهای بیماری زای هلیکوباکتر پیلوری مانند dupA یکی از دلایل مهم ارتباط بیماری زایی این ژن با زخم معده و سرطان معده می باشد. برای مثال جهش تغییر چارچوب متوالی در نتیجه اضافه و حذف شدن باز آدنین در جایگاه 1311 و 1426 ژن dupA که باعث بوجود آمدن کدون خاتمه در ژن و تغیر عمل کرد آن می گردد، بسیار شایع می باشد(13، 27، 28).

Lu و هم کاران در سال 2005 در ژاپن نشان دادند که ژن dupA در بیماران دارای زخم دوازدهه به طور معناداری شیوع بیشتری نسبت به بیماران دارای گاستریت و سرطان معده دارد و خطر ابتلا به زخم دوازدهه را افزایش می دهد(11).

با این وجود مطالعه Nguyen و هم کاران در سال 2010 که در همان کشور انجام شد نشان داد که هیچ گونه ارتباطی میان این ژن و بیماری های گوارشی وجود ندارد. این گروه دلیل نتایج کاملاً متفاوت بدست آمده را تفاوت منطقه جغرافیایی در شیوع این ژن دانستند(29). طی سالهای 2007 الی 2009، شش مطالعه به بررسی ارتباط میان ژن dupA و بیماری های گوارشی انجام شد که تمامی نتایج این مطالعات نیز بر خلاف یافته های Lu و هم کاران، منعکس کننده نبود ارتباط این ژن با بیماری های گوارشی نظیر زخم معده و سرطان معده دانستند. با این وجود دو مطالعه در هند و چین طی سالهای 2007 و 2008 نقش ژن dupA را در ایجاد بیماری های گوارشی گزارش کردند. مطالعات صورت گرفته در ایران و برزیل در سال 2008 نیز نشان دهنده نبود ارتباط این ژن با بیماری های گوارشی می باشد(14).

در مطالعه حاضر، ژن dupA در هیچ یک از بیماران دارای سرطان معده مشاهده نگردید و نتایج آنالیز آماری نشان داد ارتباط معنی داری بین نبود این ژن با سرطان معده وجود دارد (P<0/05). همچنین نتایج PCR نشان داد، در 39/4% از بیماران دارای زخم دوازده، ژن dupA وجود دارد. با این وجود، آنالیز آماری ارتباط معنی داری حضور این ژن و بیماری زخم دوازده نشان نداد.

Jung و هم کاران در سال 2012 به بررسی نقش کلاستر ژنی dupA به عنوان مجموعه ژنی بیماری زای هلیکوباکتر پیلوری مرتبط با بیماری های گوارشی پرداختند. مطالعات این گروه نشان داد که ارتباطی بین ژن dupA و ایجاد زخم اثنی عشر در بیماران وجود ندارد، با این وجود نتایج بررسی تکمیلی این افراد نشان داد که، کلاستر کامل ژن dupA با ایجاد زخم اثنی اعشر ارتباط دارد. به نظر می رسد که این ژن توسط سیستم ترشحی نوع چهار در کنار ژن vir بیان می شود و مجموع کلاستری ژن dupA در ایجاد زخم اثنی عشر نقش دارند. لذا مطالعه کامل ساختار ژنومی کد کننده ژن های بیماری زای در ارتباط با بیماری های گوارشی بسیار حائز اهمیت می باشد(30). Argent و هم کاران نیز در سال 2007 حضور ژن dupA در هلیکوباکتر پیلوری و ارتباط آن با سرطان معده و زخم اثنی عشر را در 258 نمونه بیمار از کشورهای بلژیک، افریقای جنوبی، چین و امریکا مورد مطالعه قرار دادند. در این مطالعه حداقل 52% از بیماران دارای سرطان معده در کشورهای مطالعه شده، حامل ژن dupA بودند(12)، در حالیکه نتایج LU و هم کاران در سال 2005 که بر روی نمونه های بیماران کشورهای کره جنوبی، کلمبیا و ژاپن صورت گرفته بود، نشان داد که تنها 6 الی 12% بیماران دارای سرطان معده واجد این ژن هستند(11). از دلایل تفاوت در نتایج بدست آمده در ارتباط و عدم ارتباط ژن dupA، با سرطان معده را می توان به هتروژنیسیته بودن بالای سویه های هلیکوباکتر پیلوری در مناطق مختلف، شیوع متفاوت هلیکوباکتر پیلوری و به تبع آن شیوع متفاوت ژن های بیماری زایی مانند dupA در این جوامع می باشد(8، 9، 11). نتایج تحقیقات صورت گرفته در برخی مطالعات نشان می دهد که ژن dupA می تواند به عنوان یک نشانگر مناسب در تشخیص برخی سویه های ویرولانس هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد زخم معده مورد مطالعه قرار گیرد. با این وجود، اختلافات مشاهده شده در ارتباط با نقش این ژن در تشدید بیماری های گوارشی، می تواند بخوبی مبین تنوع ژنتیکی اقلیم های گوناگون و سطوح مختلف اقتصادی اجتماعی زندگی در نواحی مختلف دنیا باشد(8، 11، 12).

نتیجه گیری

نتایج حکایت از آن داشت که حضور ژن dupA در بیماران دارای زخم دوازدهه معنادار نبوده و خطر ابتلا به این بیماری را در افراد افزایش نمی دهد. به رغم این موضوع، در این مطالعه ژن dupA ارتباط معکوس معنی داری با بیماری سرطان معده نشان داد. با این وجود به دلیل تنوع ژنتیکی بالا در میان سویه های هلیکوباکتر پیلوری در جوامع مختلف، تحقیقات بیشتر در ارتباط با نقش این ژن در ایجاد بیماریهای گوارشی، ضروری به نظر می رسد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان این مقاله از معاونت پژوهشی و باشگاه پژوهش گران دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم به دلیل تامین بودجه مالی این تحقیق، هم چنین از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی دانشگاه آزاد شهرکرد به دلیل حمایت از انجام طرح در این مرکز و تهیه امکانات مورد نیاز کمال تشکر و قدردانی را دارد.

REFERENCES

1. Momtaz H, Souod N, Dabiri H, Sarshar M. Study of Helicobacter pylori genotype status in saliva, dental plaques, stool and gastric biopsy samples. World J Gastroenterol. 2012; 18(17): 2105-11.

2. Kusters JG, Gerrits MM, Van Strijp JA, Vandenbroucke-Grauls CM. Coccoid forms of Helicobacter pylori are the morphologic manifestation of cell death. Infect Immun. 1997; 65(9): 3672–79.

3. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(4):720-41.

4. Kargar M, Souod N, Doosti A, Ghorbani-Dalini S. Prevalence of Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin A gene as a predictive marker for different gastrodoudenal diseases. Iran J Clin Infect Dis. 2011; 6(2): 85-89.

5. Malaty HM, Engstrand L, Pedersen NL, Graham DY. Helicobacter pylori infection: genetic and environmental influences. A study of twins. Ann Intern Med. 1994; 120(12):982-6.

6. Atherton JC, Peek RM, 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.

7. Momtaz H, Souod N, Dabiri H. Comparison of the virulence factors of Helicobacter pylori isolated in stomach and saliva in Iran. Am J Med Sci. 2010; 340(5):345-9.

8. Yamaoka Y. Roles of the plasticity regions of Helicobacter pylori in gastroduodenal pathogenesis. J Med Microbiol. 2008; 57(Pt 5):545-53.

9. Matteo MJ, Armitano RI, Granados G, Wonaga AD, Sánches C, Olmos M, Catalano M. Helicobacter pylori oipA, vacA and dupA genetic diversity in individual hosts. J Med Microbiol. 2010; 59(Pt 1):89-95.

10. Massarrat S, Saberi-Firoozi M, Soleimani A, Himmelmann GW, Hitzges M, Keshavarz H. Peptic ulcer disease, irritable bowel syndrome and constipation in two populations in Iran. Eur J Gastroenterol Hepatol. 1995; 7(5):427-33.

11. Lu H, Hsu PI, Graham DY, Yamaoka Y. Duodenal Ulcer Promoting Gene of Helicobacter pylori. Gastroenterology. 2005; 128(4):833-48.

12. Argent RH, Burette A, Miendje Deyi VY, Atherton JC. The Presence of dupA in Helicobacter pylori is Not Significantly Associated with Duodenal Ulceration in Belgium, South Africa, China, or North America. Clin Infect Dis. 2007; 45(9):1204-6.

13. Gomes LI, Rocha GA, Rocha AM, Soares TF, Oliveira CA, Bittencourt PF, Queiroz DM. Lack of association between Helicobacter pylori infection with dupA-positive strains and gastroduodenal diseases in Brazilian patients. Int J Med Microbiol. 2008; 298(3-4):223-30.

14. Douraghi M, Mohammadi M, Oghalaie A,Afshin Abdirad, Mohagheghi MA, Eshagh Hosseini M, Zeraati H, Ghasemi A, Esmaieli M and Mohajerani N. dupA as a risk determinant in Helicobacter pylori infection. J Med Microbiol. 2008; 57(Pt 5):554-62.

15. Arachchi HS, Kalra V, Lal B, Bhatia V, Baba CS, Chakravarthy S, Rohatgi S, Sarma PM, Mishra V, Das B, Ahuja V. Prevalence of Duodenal Ulcer-Promoting Gene (dupA) of Helicobacter pylori in Patients with Duodenal Ulcer in North Indian Population. Helicobacter. 2007; 12(6):591-7.

16. Ferrero RL. Immune response to mucosal infection: The Helicobacter pylori paradigm. Res Immunol. 1997; 148(2):91-107.

17. Ringnér M, Aleljung P, Wadström T. Adherence of haemagglutinating Helicobacter pylori to five cell lines. Zentralbl Bakteriol. 1993; 280(1-2):107-12.

18. Gold BD, Huesca M, Sherman PM, Lingwood CA. Helicobacter mustelae and Helicobacter pylori bind to common lipid receptors in vitro. Infect Immun. 1993; 61(6):2632-8.

19. Kargar M, Ghorbani-Dalini S, Doosti A, Souod N. Real-time PCR for Helicobacter pylori quantification and detection of clarithromycin resistance in gastric tissue from patients with gastrointestinal disorders. Res Microbiol. 2012; 163(2):109-13.

20. Kargar M, Ghorbani-Dalini S, Doosti A, Baghernejad M. Molecular assessment of clarithromycin resistant Helicobacter pylori strains using rapid and accurate PCR-RFLP method in gastric specimens in Iran. Afr J Biotechnol. 2011; 10(39): 7675-78.

21. Talebi Bezmin Abadi A, Mohabati Mobarez A, Taghvaei T. An investigation of the prevalence of iceA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from peptic ulcer patients in Sari (2008). AMUJ. 2010; 13(3): 84-90. [In Persian]

22. Mandell G, Dolin R, Benntts J. Principles and proactive of infectious Disease 5th ed, USA, Churchill Livingstone. 2000; p: 2285-91.

23. Braunwald E, Fauci A, kasper D, Harrison's principle of internal medicine 15th ed, USA, Macgrow-Hill. 2001; p: 960-2.

24. Kivi M, Tindberg Y. Helicobacter pylori occurrence and transmission: a family affair?. Scand J Infect Dis. 2006; 38(6-7):407-17.

25. Kargar M, Souod N, Ghorbani-Dalini S, Doosti A, Rezaian AA. Evaluation of cagA tyrosine phosphorylation DNA motifs in Helicobacter pylori isolates from gastric disorder patients in West of Iran. Sci Res Ess. 2011; 6(31): 6454-58.

26. Dabiri H, Maleknejad P, Yamaoka Y, Feizabadi MM, Jafari F, Rezadehbashi M, Nakhjavani FA, Mirsalehian A, Zali MR. Distribution of Helicobacter pylori cagA, cagE, oipA and vacA in different major ethnic groups in Tehran, Iran. J Gastroenterol Hepatol. 2009; 24(8):1380-6.

27. Shiota S, Matsunari O, Watada M, Hanada K, Yamaoka Y. Systematic review and meta-analysis: the relationship between the Helicobacter pylori dupA gene and clinical outcomes. Gut Pathog. 2010; 2(1):13.

28. Queiroz DM, Rocha GA, Rocha AM, Moura SB, Saraiva IE, Gomes LI, Soares TF, Melo FF, Cabral MM, Oliveira CA. dupA polymorphisms and risk of Helicobacter pylori-associated diseases. Int J Med Microbiol. 2011; 301(3):225-8.

29. Nguyen LT, Uchida T, Tsukamoto Y, Kuroda A, Okimoto T, Kodama M, Murakami K, Fujioka T, Moriyama M. Helicobacter pylori dupA gene is not associated with clinical outcomes in the Japanese population. Clin Microbiol Infect. 2010; 16(8):1264-9.

30. Jung SW, Sugimoto M, Shiota S, Graham DY, Yamaoka Y. The intact dupA cluster is a more reliable Helicobacter pylori virulence marker than dupA alone. Infect Immun. 2012; 80(1):381-7.