*Original Article*

# Prevalence of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* genes in *Helicobacter pylori* strains isolated from patients with gastric cancer in Karaj city, 2016

**Ahmadi E[1], Amini K[1*], Sadeh M[2]**

1- Department of Microbiology, Faculty of Basic Sciences, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, I. R. Iran.
2- Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, I. R. Iran.

Received November 13, 2016; Accepted September 25, 2017

**Abstract:**

**Background:** It is estimated that approximately half of the planet's population is infected with *Helicobacter pylori* and 70%-60% of the infections in the Western countries are caused by cagA-positive strains. The aim of this study was to determine the frequency of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* genes in *H. pylori* isolated from patients with gastric cancer.

**Materials and Methods:** A total of 50 non-repetitive biopsy samples were collected from patients undergoing endoscopy in the endoscopic center of the Shahid Fayaz Hospital in Karaj. The presence of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* genes was determined using the multiplex PCR method.

**Results:** Of the 50 gastric biopsies, 44 samples (88%) were positive for the presence of various virulence genes. The molecular analysis of virulence factors showed that the prevalence rates of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* genes were 16 (32%), 8 (16%), 13 (26%), 7 (14%) and 17 (34%), respectively. There was a significant relationship between sex, smoking and gastric ulcer with some genes, but no significant relationship was found between the family history and age group with any of the genes.

**Conclusion:** The presence of various pathogenic genes has a significant effect on gastric ulcer, duodenal ulcer and gastric cancer. The effects of other genes, such as *hrgA*, are important in tissue damage and inflammatory responses.

**Keywords:** *Helicobacter pylori*, *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA*, *hrgA*

* **Corresponding Author.**
**Email:** dr_kumarss_amini@yahoo.com
**Tel:** 0098 912 545 4074
**Fax:** 0098 8642 241 511

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences, February, 2018; Vol. 21, No 6, Pages 562-568***

***Please cite this article as:*** Ahmadi E, Amini K, Sadeh M. Prevalence of *cagA*, *cagT*, *cagE*, *vacA* and *hrgA* in *Helicobacter pylori* isolated from patients with gastric cancer using Multiplex PCR. ***Feyz*** 2018; 21(6): 562-8.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]

# فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* در *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان معده در شهر کرج طی سال ۱۳۹۵

الهام احمدی[۱]، کیومرث امینی[۲*]، مجتبی ساده[۳]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** تخمین زده می‌شود که تقریبا نیمی از مردم کره زمین با *هلیکوباکتر پیلوری* آلوده هستند و ۷۰-۶۰ درصد عفونت‌ها در کشورهای غربی توسط سویه‌های *cagA*-مثبت ایجاد می‌شود. هدف اصلی این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* در *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان معده بود.

**مواد و روش‌ها:** در مجموع ۵۰ نمونه بیوپسی غیرتکراری از بیماران تحت اندوسکوپی در مرکز اندوسکوپی بیمارستان شهید فیاض بخش کرج به‌دست آمد. حضور ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* با استفاده از روش Multiplex PCR تعیین شد.

**نتایج:** از ۵۰ بیوپسی معده، ۴۴ نمونه (۸۸ درصد) برای وجود ژن‌های مختلف ویرولانس مثبت بود. آنالیز مولکولی فاکتورهای ویرولانس نشان داد که فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* به‌ترتیب برابر ۱۶ (۳۲ درصد)، ۸ (۱۶ درصد)، ۱۳ (۲۶ درصد)، ۷ (۱۴ درصد) و ۱۷ (۳۴ درصد) است. بین عواملی چون جنسیت، کشیدن سیگار و زخم معده با بروز بعضی ژن‌ها ارتباط معنی‌دار وجود داشت، اما سابقه خانوادگی و گروه سنی با هیچ‌کدام از ژن‌ها ارتباط معنی‌دار نداشت.

**نتیجه‌گیری:** وجود ژن‌های پاتوژنیک مختلف دارای اثرات قابل‌توجهی در بروز زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده هستند. اثرات دیگر ژن‌ها مانند *hrgA*، در آسیب بافتی و پاسخ‌های التهابی حائز اهمیت است.

**واژگان کلیدی:** *هلیکوباکتر پیلوری*، *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA*، *hrgA*

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره بیست و یکم، شماره ۶، بهمن و اسفند ۱۳۹۶، صفحات ۵۶۸-۵۶۲

**مقدمه**

*هلیکوباکتر پیلوری* باکتری گرم منفی، مارپیچی شکل و میکروائروفیلیکی است که توسط انجمن بین‌المللی تحقیقات سرطان (International agency for research on cancer; IARC)، یکی از زیر مجموعه‌های سازمان جهانی بهداشت (WHO)، به‌عنوان عامل باکتریایی سرطان‌زای تیپ یک شناسایی می‌شود [۱]. این باکتری به‌عنوان عامل اصلی بسیاری از بیماری‌های گوارشی همانند التهاب معده، التهاب دوازدهه، زخم معده، زخم دوازدهه، لنفومای MALT و به‌ویژه سرطان معده معرفی شده است [۲]. باتوجه به تحقیقات اپیدمیولوژیک شیوع این باکتری بسیار بالا می‌باشد؛ به‌طوری‌که گفته می‌شود بیش از نیمی از مردم جهان به آن مبتلا می‌باشند [۳].

*هلیکوباکتر پیلوری* در میان باکتری‌های انتریک بیشترین ناهمگونی ژنتیکی را نشان می‌دهد؛ علاوه‌براین، بسیاری از سویه‌های این باکتری از لحاظ محتوای ژنتیکی و توالی ژن‌های حفاظت شده دارای تنوع می‌باشند؛ بنابراین ابتلا به *هلیکوباکتر پیلوری* به عوامل مختلفی از قبیل شرایط محیطی، سطح بهداشت اجتماعی و نژاد افراد مبتلا و همچنین ویژگی‌های خود این ارگانیسم مانند حضور ژن‌های ویرولانس مختلف از جمله *cagA*، *vacA*، *iceA*، *dupA*، *homB* و *babA* بستگی دارد [۴]. در میان فاکتورهای ویرولانس، CagA (یک سیتوتوکسین مرتبط با ژن A) و *VacA* (یک سیتوتوکسین واکوئله کننده A) در ۷۰-۶۰ درصد از سویه‌های *هلکیوباکتر پیلوری* دیده می‌شوند [۵]. نتایج تحقیقات گذشته حاکی از این است که عفونت با سویه‌های دارای ژن ویرولانس *CagA* باعث افزایش خطر علائم کلینیکی به‌خصوص در افراد مبتلا به ناراحتی‌های گوارشی می‌گردد [۷،۶]. ژن *VacA* فاکتور مهم بیماری‌زای دیگری را کد می‌نماید که سبب ایجاد واکوئل در سطح سلول‌های یوکاریوت در شرایط آزمایشگاهی می‌گردد [۸]. *CagA* یک پروتئین سطحی بوده، از قدرت ایمنی‌زایی بالایی برخوردار است و پس از ورود به سلول‌های اپی‌تلیال معده منجر به دوکی شدن سلول میزبان می‌گردد [۹]. بنابراین، پروتئین cagA می‌تواند به‌طور مستقیم پس از ورود به سلول‌های

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

[۲] استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران

[۳] متخصص باکتری شناسی پزشکی، گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

* **نشانی نویسنده مسئول:**
دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ساوه، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی

**تلفن:** ۰۹۱۲۵۴۵۴۰۷۴ **دورنویس:** ۰۸۶۴۲۲۴۱۵۱۱

**پست الکترونیک:** dr_kumarss_amini@yahoo.com

**تاریخ دریافت:** ۱۳۹۵/۸/۲۳ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۱۳۹۶/۷/۳



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]

هدف و تداخل با سیستم‌های پیام‌رسانی سلول سبب افزایش بیماری‌زایی باکتری و بیان ژن‌های جزایر بیماری‌زایی cag PAI شود [۱۰]. ژن *cagA* نقش مهمی در پیام‌رسانی سلول داشته و سبب تغییرات مورفولوژیکی متعددی مانند تکثیر باکتری و آپوپتوز در سلول‌های میزبان می‌شود. وجود ژن *cagA* با بروز بیماری‌هایی نظیر زخم دوازدهه، آتروفی مخاط و سرطان معده مرتبط است [۱۱]. سویه‌های حاوی ژن *cagA* با ایجاد Abnormal gastrin syndrome توانایی بالایی در بروز آپوپتوز در سلول‌های ترشحی معده را دارند. به‌عنوان مثال، حضور ژن *cagA* در بسیاری از جمعیت‌های انسانی در ارتباط با بیماری‌های گوارشی ( Peptic ulcer disease; PUD) گزارش شده است. سویه‌های دارای این ژن توانایی بیشتری جهت لانه‌گزینی، تخریب و التهاب بافتی دارند. شیوع عفونت با *هلیکوباکتر پیلوری* در ایران تقریبا ۹۲-۸۲ درصد گزارش شده است. براساس تحقیقات گذشته سوش‌های تولید کننده ژن‌های ویرولانس *ureAB, cagA* و *vacA* در بیماران با علائم کلینیکی مختلف مانند گاستریت، زخم معده، زخم دئودنوم و التهاب مری همراه با رفلکس شیوع بیشتری دارند. همچنین، بیان ژن *cagE* در تشدید تولید IL-8 موثر است و این سایتوکاین در جذب نوتروفیل‌ها به موضع عفونت و در نتیجه بروز التهاب نوتروفیلی دخالت دارد. CagT که نام دیگر آن virB4 است، در ساختار نوک سیستم ترشحی نوع ۴ (T4SS) و در نتیجه صدور مواد به خارج سلول باکتریایی و ورود آن به سلول میزبان شرکت می‌کند [۱۳،۱۲]. ژن *hrgA* سبب افزایش التهاب در افراد مبتلا به عفونت به *هلیکوباکتر پیلوری* می‌شود. همچنین مطالعات نشان داده‌اند که حضور این ژن در کشورهای غربی بیشتر از افراد آسیایی می‌باشد. مطالعات انجام شده در نواحی جغرافیایی مختلف جهان نشان داده است که حضور فاکتورهای ویرولانس مختلف با افزایش بیماری‌زایی و ایجاد زخم یا بیماری بدون زخم و یا ایجاد کارسینومای معده ثابت شده است. Essawi و همکاران نشان داده‌اند که ژن‌های *cagA* و *vacA* فاکتورهای ویرولانس اصلی در پاتولوژی معده در افراد مبتلا به سرطان معده هستند [۱۴]. بیش از ۹۰ درصد از بیماران مبتلا به زخم دئودنوم حامل این ارگانیسم هستند که خطر ایجاد زخم را ۵۱ برابر افزایش می‌دهد. ۵۰ تا ۸۰ درصد بیماران مبتلا به زخم معده با *هلیکوباکتر پیلوری* کلونیزه شده‌اند و خطر ایجاد بدخیمی به‌علت عفونت با این میکروب در حد ۶۰ تا ۸۰ درصد می‌باشد؛ به‌طوری‌که تقریبا ۱۰ درصد بیماران مبتلا به گاستریت آتروفیک مزمن در طی ۱۵ سال دچار بدخیمی معده می‌شوند که دومین بدخیمی شایع در دنیا است. لذا، باتوجه به اهمیت بالای این باکتری و عفونت ناشی از آن، هدف اصلی این مطالعه تعیین فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* در *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان معده در شهر کرج می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه مقطعی تمام بیمارانی که از ابتدای خرداد لغایت انتهای اسفند ۱۳۹۵ به درمانگاه گوارش یا بخش آندوسکوپی بیمارستان شهید فیاض‌بخش شهر کرج مراجعه کرده یا ارجاع داده شده بودند و سن بیشتر از ۲۴ سال داشتند، مورد بررسی قرار گرفتند. تنها بیمارانی که حداقل بیش از ۲ ماه از علائم دیس‌پپسی (درد شکم، ترش کردن، باد گلو، احساس نفخ شکم، تهوع و استفراغ) شکایت داشتند، وارد مطالعه شدند. پس از اخذ رضایت‌نامه و پر کردن پرسشنامه‌هایی که حاوی سن، جنس و بیماری زمینه‌ای بود، توسط متخصص گوارش مورد مطالعه کامل بالینی قرار گرفتند. در این مرحله بیمارانی که طی ۱ ماه گذشته از آنتی‌بیوتیک استفاده نکرده بودند و سابقه عمل جراحی روی لوله گوارش (واگوتومی، بیلروت و ...) یا بیماری‌های زمینه‌ای دیگر به‌جز دیس‌پپسی نداشتند، بدون توجه به شغل، میزان تحصیلات، وضعیت اقتصادی و اجتماعی و عادات غذایی، تحت مطالعه مقدماتی قرار گرفتند. این مطالعه شامل معاینه بالینی و شرح حال: ارزیابی عادات و وضعیت سلامت و بیماری فرد، انجام معاینات بالینی و بررسی پاراکلینیک: شمارش کامل سلول‌های خونی (تعداد گلبول‌های قرمز خون، گلبول‌های سفید خون و پلاکت‌ها، میزان هموگلوبین)، آزمون گایاک (بررسی وجود خون پنهان در مدفوع)، آزمون بلع باریم، آندوسکوپی فوقانی، نمونه‌برداری و سی‌تی‌اسکن بود. بیماران انتخاب شده با معیارهای فوق تحت معاینه کامل آندوسکوپی فوقانی قرار گرفتند؛ برای این کار از آندوسکوپ اولیمپوس (GIF-V) استفاده شد و برای جلوگیری از هر نوع آلودگی هربار دستگاه و سوزن بیوپسی میکروب‌زدایی می‌شدند. در تمام موارد از سوزن بیوپسی با قدرت یکسان استفاده شد. شرایط اندوسکوپی برای تمامی بیماران یکسان بود. در این مرحله بیمارانی که زخم پپتیک داشتند، از مطالعه حذف شدند. برای انجام بیوپسی، از هر ناحیه یک نمونه از دیواره قدامی و خلفی آنتر و بدنه معده گرفته می‌شد. تمام نمونه‌ها در محلول فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شده و پس از قرار دادن در پارافین در قطعات ۵ میکرونی برش داده می‌شدند. برای تشخیص *هلیکوباکتر پیلوری* و یافته‌های بافت‌شناسی از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین استفاده شد. در صورت لزوم جهت اثبات حضور ارگانیسم رنگ‌آمیزی به روش



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]

گیمسا صورت می‌گرفت. گزارش حداقل ۵ باسیل در هر میدان میکروسکوپی ضرورت داشت.

واکنش زنجیره ای پلیمراز:

جهت انجام واکنش PCR ابتدا پرایمرها به شرکت پیشگام سفارش داده شده و سپس مراحل استخراج DNA از نمونه بافتی با استفاده از کیت اسخراج بافت شرکت پیشگامان انتقال ژن با شماره cad. N: F7884 طبق دستورالعمل کیت انجام پذیرفت و در نهایت PCR انجام گردید. توالی پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی ژن‌های *VacA*، *cagA*، *cagT*، *cagE* و *hrgA* در جدول شماره ۱ آورده شده است [۱۵]. جهت تایید درجه خلوص DNA استخراج شده از دستگاه بیوفتومتر (Bio-Rad, USA) استفاده گردید. پس از بررسی صحت Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) آغازگرهای انتخاب شده در سایت NCBI، واکنش Multiplex PCR به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۵/۵ میکرولیتر PCR master mix 5X (سیناکلون، ایران) حاوی Taq DNA polymerase (0.05 U/µl)، $MgCl_2$ (3 mM) و dNTPs (0.4mM)، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرها به غلظت ۰/۸ میکرومولار، ۱ میکرولیتر از DNA الگو (۱۰ نانوگرم) و ۱۰/۵ میکرولیتر آب دوبار تقطیر استریل با استفاده از گرادیانت ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) برای ۳۴ سیکل انجام گرفت. با انتخاب برنامه مرتبط به‌صورت ذیل عمل گردید: واسرشت اولیه در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۴ دقیقه، مرحله جداسازی دو رشته در ۹۴ درجه سلسیوس به‌مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال پرایمر در دمای ۶۰ درجه سلسیوس به‌مدت ۳۰ ثانیه و مرحله طویل سازی در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۹۰ ثانیه و تعداد سیکل‌ها ۳۰ عدد بود. در نهایت مرحله بسط نهایی در ۷۲ درجه سلسیوس به‌مدت ۴ دقیقه انجام شد. در پایان محصولات واکنش Multiplex PCR در ژل آگاروز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید (۰/۵ µg/ml) الکتروفورز گردید. در تمامی مراحل این پژوهش از سویه *هلیکوباکتر پیلوری* ATCC 43504 به‌عنوان کنترل مثبت و *سالمونلا تایفی‌موریوم* ATCC 14028 به‌عنوان کنترل منفی (تهیه شده از بانک میکروبی دانشگاه علوم پزشکی ایران) استفاده شد. پس از جمع‌آوری نمونه‌ها، برای تعیین درصد و وفور ژن‌های مورد بررسی در نمونه‌های مورد مطالعه و نیز بررسی ارتباط وفور ژن‌ها با عواملی چون جنسیت، کشیدن سیگار، زخم معده، سابقه بیماری در خانواده و سن با استفاده از آزمون مجذور کای، از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ استفاده گردید.

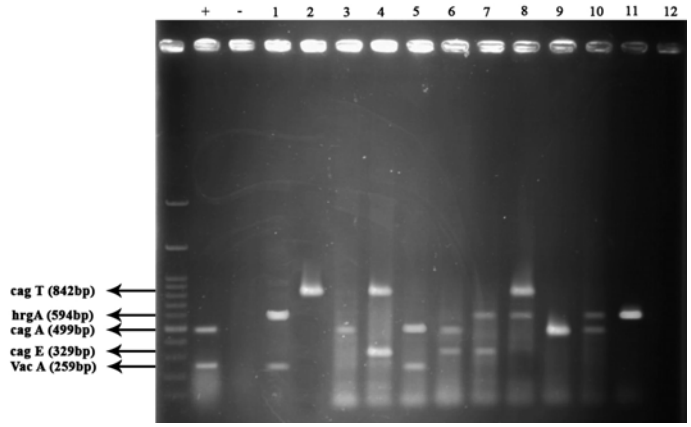
جدول شماره ۱- توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرهای استفاده شده در مطالعه حاضر

| پرایمر | توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمرها (′3 → ′5) | طول قطعه (bp) |
|---|---|---|
| *vac*A | Forward: 5′ - ATGGAAATACAACAAACACAC - 3′<br>Reverse: 5′ - CTGCTTGAATGCGCCAAAC - 3′ | 259 |
| *cag*A | Forward: 5′ - GATAACAGGCAAGCTTTTGA - 3′<br>Reverse: 5′ - CTGCAAAAGATTGTTTGGCA - 3′ | 499 |
| *hrg*A | Forward: 5′ - TCTCGTGAAAGAGAATTTCC - 3′<br>Reverse: 5′ - TAAGTGTGGGTATATCAATC - 3′ | 594 |
| *cag*T | Forward: 5′ - ATGAAAGTGAGAGCAAGTGT - 3′<br>Reverse: 5′ - TCACTTACCACTGAGCAAAC - 3′ | 842 |

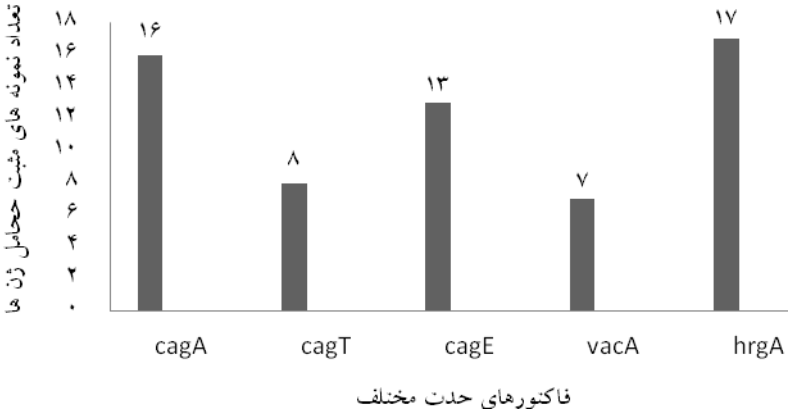
**نتایج**

در مطالعه حاضر میانگین سنی کل بیماران ۱/۳۴±۴۹ سال بود. میانگین سنی بیماران مرد و زن به‌ترتیب ۱/۲۳±۴۴ و ۱±۴۱/۹۳ سال بود. دامنه سنی بیماران ۷۳-۲۴ سال بود. از مجموع ۵۰ فرد شرکت کننده در این مطالعه، ۱۷ نفر زن (۳۴ درصد) و ۳۳ نفر (۶۶ درصد) مرد بودند. تعداد ۱۰ نفر (۲۰ درصد) از بیماران هیچ‌گونه سابقه ناراحتی و دردی در ناحیه معده خود نداشتند. همچنین، استعمال دخانیات در ۲۱ بیمار (۴۲ درصد) منفی بود. با‌توجه به نتایج به‌دست آمده از مجموع ۵۰ نمونه بیوپسی، ۴۴ نمونه (۸۸ درصد) از نظر وجود ژن‌های ویرولانس مختلف *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت بودند (تصویر شماره ۱). آنالیز مولکولی نشان داد که فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* به‌ترتیب برابر ۱۶ (۳۲ درصد)، ۸ (۱۶ درصد)، ۱۳ (۲۶ درصد)، ۷ (۱۴ درصد) و ۱۷ (۳۴ درصد) بود (نمودار شماره ۱). این نتایج نشان داد که کمترین و بیشترین فراوانی ژن‌ها مربوط به *cagE* (در ۷ نمونه؛ ۱۴ درصد) و *hrgA* (در ۱۷ نمونه؛ ۳۴ درصد) بود. همچنین، با بررسی ارتباط وفور ۵ ژن مورد مطالعه با عواملی چون جنسیت، کشیدن سیگار، زخم معده، سابقه بیماری در خانواده و سن مشخص شد که سابقه بیماری در خانواده و سن هیچ‌گونه ارتباط معنی‌داری با هیچ‌یک از جایگاه‌های ژنی ندارند ($P$>۰/۰۵). ارتباط جنسیت با بروز ژن cagE و وجود زخم معده با بروز ژن cagA در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. کشیدن سیگار نیز به‌طور معنی‌داری با بروز ژن hrgA در ارتباط بود ($P$<۰/۰۱).

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]




تصویر شماره ۱- نتیجه آزمایش M-PCR انجام شده روی نمونه‌های بیوپسی معده افراد مبتلا به سرطان معده در مطالعه حاضر، به‌ترتیب از چپ به راست: مارکر، کنترل مثبت (*هلیکوباکتر پیلوری* ATCC 43504)، کنترل منفی (*سالمونلا تایفی‌موریوم* ATCC 14028)، طول باند ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* به‌ترتیب برابر ۴۹۹، ۸۴۲، ۳۲۹، ۲۵۹ و ۵۹۴ جفت باز بود.




نمودار شماره ۱- فروانی ژن‌های حدت در نمونه‌های تحت مطالعه

## بحث

باتوجه به نتایج به‌دست آمده، از مجموع ۵۰ نمونه بیوپسی، ۴۴ نمونه (۸۸ درصد) از نظر وجود ژن‌های ویرولانس مختلف *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت بودند. آنالیز مولکولی ژن‌های تحت مطالعه نشان داد که فراوانی ژن‌های *cagA*، *cagT*، *cagE*، *vacA* و *hrgA* به‌ترتیب برابر ۱۶، ۸، ۱۳، ۷ و ۱۷ درصد می‌باشد. این نتایج نشان داد که بیشترین و کمترین فراوانی ژن‌ها مربوط به *cagE* (در ۷ نمونه؛ ۱۴ درصد) و *hrgA* (در ۱۷ نمونه؛ ۳۴ درصد) می‌باشد. آقاجانی و عباسی با بررسی همراهی عفونت مزمن *هلیکوباکتر پیلوری* و سوش $CagA^+$ آن با بیماری عروق کرونر در ۷۰ نفر از مبتلایان به این باکتری دریافتند که هیچ ارتباط معنی‌داری بین عفونت مزمن و سوش $CagA^+$ آن با بیماری عروق کرونر وجود ندارد [۱۶]. مولایی و همکاران فراوانی ژن *cagA* را ۷۹/۶ درصد گزارش نموده‌اند [۱۷] که با مطالعه فعلی مغایرت دارد و این می‌تواند در نتیجه نوع بیماری (زخم معده در مقایسه با سرطان) باشد. دوستی و همکاران در شهرکرد و دورقی و همکاران در تهران میزان فراوانی ژن *cagA* را به‌ترتیب ۸۳/۵ و ۸۲/۲ درصد گزارش نموده‌اند [۱۹،۱۸]. از جمله دلایل مخالفت نتایج مطالعه پیش رو با مطالعات دیگر، تفاوت جغرافیایی، سال انجام مطالعه، نوع نمونه جمع‌آوری شده و اختلاف در پرایمرهای استفاده شده جهت جستجوی قطعه ژنی موردنظر می‌باشد. این مطالعه علی‌رغم استفاده از پرایمرهای مشابه با مطالعه دورقی و همکاران نتیجه یکسانی نداشت که این امر می‌تواند به‌علت استفاده از نمونه‌های بلوک شده پارافینه در مطالعه کنونی باشد. عبداللهی و همکاران در تهران در مطالعه‌ای مشابه فراوانی ژن *cagA* را ۳۵/۱۸ درصد گزارش نموده‌اند [۲۰]. طالبی و همکاران با غربال‌گری ژن‌های ویرولانس در *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از ۱۳ بیمار مبتلا دریافتند که حضور ژن *babA2* با عارضه سرطان معده بی‌ارتباط است و پیش‌داوری در این مورد باتوجه به حجم کوچک جامعه مورد پژوهش مقدور نمی‌باشد [۲۱]. Vannarath و همکاران در

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]

لائوس با مطالعه روی ۳۲۹ بیمار دارای عارضه دیس‌پپسی دریافتند ۱۱۹ بیمار آلوده با *هلیکوباکتر پیلوری* بوده که ۸۳ نفر آنها مبتلا به گاستریت، ۱۳ نفر گاستریک مزمن، ۲۰ نفر زخم دئودنال بوده و ۳ بیمار سرطان معده داشتند. ژن *cagA* در ۹۹/۲ درصد از سویه‌ها وجود داشت. این محققین نتیجه گرفتند که ژن *cagA* تقریبا در تمامی بیماران لائوسی وجود داشته و ژن‌های *cagA* و *vacA* مهم‌ترین فاکتورها در بروز عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* هستند [۲۲]. Koehler و همکاران با بررسی ژنوم *هلیکوباکتر پیلوری* جدا شده از ۹۲ نمونه بافت پارافینی مربوط به بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده و لنفومای MALT دریافتند که شیوع ژن‌های *iceA1* و *iceA2* در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم ۶/۵ برابر بیشتر است [۲۳]. در سال ۲۰۰۳ Ye و همکاران از ۱۱۱ نمونه بیوپسی به‌دست آمده از بیماران مبتلا به لنفومای MALT، ۶۸/۸ درصد ژنوم *هلیکوباکتر پیلوری* را تشخیص دادند [۲۴]. در مطالعه‌ای که توسط حسینی و همکاران انجام شد، شیوع *cagA* برابر ۵۸ درصد بوده است. در تمام مطالعات انجام شده درصد مثبت بودن سوش‌های دارای فاکتور ویرولانس *VacA* و*CagA* در بیماران مبتلا به زخم معده بیشتر بوده که در برخی موارد در مقایسه با گروه فاقد زخم این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار شده است، اما در برخی دیگر این تفاوت معنی‌دار نبوده است. در بیماران فاقد زخم درصد مثبت بودن ژن‌های *VacA* و *CagA* به‌ترتیب ۳۷ تا ۸۹/۷ [۲۲،۲۰،۱۸] و ۳۳/۳ تا ۷۳ درصد [۲۵،۲۰،۱۸] گزارش گردیده است [۲۵]. نشان داده شده است که شیوع ابتلا به *هلیکوباکتر پیلوری* و گاستریت مزمن فعال در سنین پایین‌تر بیشتر است که با افزایش سن افزایش یافته و پس از دهه پنجم از شیوع آن کاسته می‌شود، اما شیوع گاستریت مزمن و متاپلازی روده‌ای در سنین پایین‌تر کمتر است و با افزایش سن افزایش می‌یابد. از سوی دیگر درصد موارد منفی *هلیکوباکتر پیلوری* در گاستریت مزمن و متاپلازی روده‌ای بیشتر از موارد مثبت آن است. ابتلا به عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* یک رخداد جهانی است و به محل زندگی شخص بستگی ندارد. شیوع آن به جنس ارتباط نداشته و مصرف الکل، سیگار و داروهای ضدالتهابی غیراستروئیدی موجب افزایش ابتلا به آن نمی‌شود. هر چه ابتلا به ارگانیسم در سنین پایین‌تر رخ دهد، عوارض مخاطی ناشی از آن نیز بیشتر خواهد بود [۲۶]. با-توجه به خطر بالا و روزافزون ابتلا به بیماری‌های گوارشی در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه بررسی عوامل ایجاد کننده این قبیل بیماری‌ها بسیار حائز اهمیت می‌باشد. در *هلیکو-باکتر پیلوری* عامل باکتریایی ایجادکننده زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده، افزایش شیوع ژن‌های پر اهمیت از قبیل *cagA* و موتیف‌های تاثیرگذار آن قابل‌توجه می‌باشد. تاثیر این ژن و ژن‌های دیگر همچون *hrgA* و *dupA* در پیش‌برد تخریب بافتی و ایجاد التهاب در روند مزمن شدن بیماری امروزه بسیار گزارش می‌گردد. باتوجه به یافته‌های مطالعه حاضر می‌توان با بررسی ژنوتیپ *hrgA* و انواع موتیف *cagA* قدرت مزمن شدن بیماری را پیش‌بینی نموده و از الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مرتبط جهت طراحی پروتوکل درمانی مناسب بهره برد؛ به‌صورتی‌که شکست درمانی در مرحله اول کاهش یافته و با تشخیص به‌موقع بیماری و سویه ایجادکننده می‌توان با استفاده از برنامه دارویی مناسب جهت ریشه‌کنی بیماری اقدام نموده و مانع ورود عفونت به مرحله مزمن شد.

## نتیجه‌گیری

به‌طور کلی، باوجود اینکه به‌نظر می‌رسد تنوع زیادی در فاکتورهای ویرولانس موجود در سوش‌های *هلیکوباکتر پیلوری* وجود دارد، اما حضور هم‌زمان سه ژن (*cag, vacA , hrgA*) با بیماری زخم معده و سرطان معده مرتبط بوده و سوش‌های جدا شده از بیماران که دارای این سه ژن باشند، حاکی از افزایش حدت بیماری و از عوامل اصلی بالا رفتن میزان ویرولانس باکتری و ایجاد التهاب در معده می‌باشد. همچنین، روش Multiplex PCR روش مناسبی برای تشخیص ژنوتایپ‌های مختلف (از لحاظ حضور فاکتورهای ویرولانس) این باکتری با سرعت و هزینه کمتر می‌باشد.

## تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه پرسنل محترم بخش میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه و آزمایشگاه تحقیقاتی پاسارگاد که ما را در انجام این پروژه یاری نمودند، کمال تشکر را داریم. این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه کارشناسی ارشد مصوب شورای تحصیلات تکمیلی و شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ساوه در سال ۱۳۹۵ است.

## *References*:

[1] Huang JY, Sweeney EG, Sigal M, Zhang HC, Remington SJ, Cantrell MA, et al. Chemodetection and destruction of host urea allows *Helicobacter pylori* to locate the epithelium. ***Cell Host Microbe*** 2015; 18(2):147–56.

[2] Sigal M, Rothenberg ME, Logan CY, Lee JY, Honaker RW, Cooper RL, Passarelli B et al. *Helicobacter pylori* activates and expands Lgr5+

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]

stem cells through direct colonization of the gastric glands. *Gastroenterology* 2015; 148 (7):1392–404.
[3] Müller SA, Pernitzsch SR, Haange SB, Uetz P, von Bergen M, Sharma CM, et al. Stable isotope labeling by amino acids in cell culture based proteomics reveals differences in protein abundances between spiral and coccoid forms of the gastric pathogen ***Helicobacter pylori. J Proteomics*** 2015; 126:34–45.
[4] De Bruyne E, Ducatelle R, Foss D, Sanchez M, Joosten M, Zhang G, et al. Oral glutathione supplementation drastically reduces *Helicobacter*-induced gastric pathologies. ***Sci Rep*** 2016; 6:20169.
[5] Hammond CE, Beeson C, Suarez G, Peek RM, Backert S, Smolka AJ. *Helicobacter pylori* virulence factors affecting gastric proton pump expression and acid secretion. ***Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*** 2015; 309(3): G193–201.
[6] Zhang L, Wu WK, Gallo RL, Fang EF, Hu W, Ling TK, et al. Critical role of antimicrobial peptide cathelicidin for controlling *Helicobacter pylori* survival and infection**.** ***J Immunol*** 2016; 196(4): 1799–809.
[7] Jung SW, Lee SW. The antibacterial effect of fatty acids on *Helicobacter pylori* infection. ***Korean J Intern Med*** 2016; 31(1): 30-5
[8] Gaddy JA, Radin JN, Cullen TW, Chazin WJ, Skaar EP, Trent MS, et al. *Helicobacter pylori* resists the antimicrobial activity of calprotectin via lipid A modification on and associated biofilm formation. ***MBio*** 2015; 6(6):e01349-15.
[9] Pachathundikandi SK, Lind J, Tegtmeyer N, El-Omar EM, Backert S. Interplay of the gastric pathogen *Helicobacter pylori* with toll-like receptors. ***Biomed Res Int*** 2015; 2015: 192420.
[10] Nagashima H, Iwatani S, Cruz M, Jiménez Abreu JA, Uchida T, Mahachai V, et al. Toll-like receptor 10 in *Helicobacter pylori* infection. ***J Infect Dis*** 2015; 212(10):1666–76.
[11] Pachathundikandi SK, Backert S. Differential expression of IL-1β during *Helicobacter pylori* infection of TLR2-and TLR10-expressing HEK293 cell lines. ***J Infect Dis*** 2016; 214(1): 166–7.
[12] Obayashi N, Ohtsuka Y, Hosoi K, Ikuse T, Jimbo K, Aoyagi Y, et al. Comparison of gene expression between pediatric and adult gastric mucosa with *Helicobacter pylori* infection. ***Helicobacter*** 2016; 21(2): 114–23.
[13] Kienesberger S, Cox LM, Livanos A, Zhang XS, Chung J, Perez-Perez GI, et al. Gastric *Helicobacter pylori* infection affects local and distant microbial populations and host responses. ***Cell Rep*** 2016; 14(6):1395–1407.
[14] Essawi T, Hammoudeh W, Sabri I, Sweidan W, Farraj MA. Determination of Helicobacter pylori Virulence Genes in Gastric Biopsies by PCR. ***ISRN Gastroenterology*** 2013; 4: 1-4.
[15] 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.
[16] Aghajani M, Abbasian M. Association of helicobacter pylori infection and its cagA-positive strains with Coronary heart disease (CHD)**.** ***Iran South Med J*** 2002; 5(1): 56-62.
[17] 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.
[18] Dousti A, Rahimian Gh, Nasiri J, Yavari Foroshani P. Identification the frequency of cytotoxin associated gene in *H. pylori* strain isolated form biopsy samples in Shahrekord. ***J Armaghan Danesh*** 2007; 29(1):12-21.
[19] Douraghi M, Mohamadi M, Shirazi M.H, Esmaili M. Evaluation of cytotoxin associated gene with gastric disorders in *H. pylori* infected patients. ***Iran J Med Microbiol*** 2008; 2(1): 31-36. [In Persian]
[20] Abdollahi H, Shokoohi M, Savari M. The prevalence of *Helicobacter pylori babA2*, *iceA1* and *iceA2* genes and their association with clinical outcomes in patients with chronic gastritis, ulcerative diseases and non-ulcer dyspepsia in south east of Iran. ***Jundishapur J Microbiol*** 2013; 6(4): e4739.
[21] Talebi Bezmin Abadi A, Taghvaei T, Mohabbati Mobarez A, Vaira G, Vaira D. High correlation of babA 2-positive strains of *Helicobacter pylori* with the presence of gastric cancer. ***Intern Emerg Med*** 2013; 8(6): 497–501.
[22] Vannarath S, Vilaichone RK, Rasachak B, Mairiang P, Yamaoka Y, Shiota S, et al. Virulence genes of *Helicobacter pylori* in gastritis, peptic ulcer and gastric cancer in Laos. ***Asian Pac J Cancer Prev*** 2014; 15(20): 9027-31.
[23] Koehler CI, Mues MB, Dienes HP, Kriegsmann J, Schirmacher P, Odenthal M. *Helicobacter pylori* genotyping in gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma by multiplex PCR analyses of paraffin wax embedded tissues. ***Mol Pathol*** 2003; 56(1): 36–42.
[24] Ye H, Liu H, Attygalle A, Wotherspoon AC, Nicholson AG, Charlotte F, et al. Variable frequencies of t(11;18)(q21;q21) in MALT lymphomas of different sites: significant association with CagA strains of *H. pylori* in gastric MALT lymphoma. ***Blood*** 2003; 102(3):1012-8.
[25] Hosseini E, Poursina F, Van de Wiele TV, Ghasemian Safaei HG, Adibi P. *Helicobacter pylori* in Iran: A systematic review on the association of genotypes and gastroduodenal diseases. ***J Res Med Sci*** 2012; 17(3): 280–92.
[26] Fakher Yasseri H. Determination of *Helicobacter pylori* Prevalence in Histologic Gastritis And Intestinal Metaplasia and Related to Age and Sex Study on 576 Patients with Nonulcer Dyspepsia at Endascopy Department of Firozgar Hospital. ***J Iran Univ Med Sci*** 2002; 9(30): 379-88. [in Persian]

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-15 ]