

فراوانی ژن‌های *babA2* و *hsp* در سویه‌های هلیکوباکتری پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی

خاتون حیدری^۱، دکتر رامین آذرهوش*^۲، دکتر مهدی فرقاتی^۳

۱- کارشناس ارشد میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان. ۲- دانشیار، گروه آسیب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی گلستان.

۳- دکتری ژنتیک مولکولی، استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.

چکیده

زمینه و هدف: هلیکوباکتری پیلوری از مهم‌ترین پاتوژن‌های معده در انسان است. حضور ژن‌های *babA2* و *hsp* در اتصال به سلول‌های اپیتلیال معده و بیماری‌زایی باکتری نقش دارد. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی ژن‌های *babA2* و *hsp* در سویه‌های هلیکوباکتری پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی ۸۰ بیمار با اختلالات گوارشی مراجعه کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان انجام شد. بیماران با نظر متخصص گوارش آندوسکوپی شده و از معده آنان نمونه‌برداری گردید. تست اوره‌آز و هیستوپاتولوژی برای اثبات وجود هلیکوباکتری پیلوری و سپس استخراج DNA انجام شد. فراوانی ژن‌های *babA2* و *hsp* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و روش مولکولی PCR تعیین شدند.

یافته‌ها: از بین ۸۰ بیمار آلوده به هلیکوباکتری پیلوری، ۳۶ بیمار دچار گاستریت، ۱۸ بیمار دچار سرطان معده و ۲۶ بیمار دچار زخم معده بودند. ۵۱ نمونه (۶۳ درصد) از نظر حضور ژن *babA2* و ۴۹ نمونه (۶۱ درصد) از نظر حضور ژن *hsp* مثبت بودند. بین حضور ژن‌ها و نوع اختلال گوارشی ارتباط آماری معنی‌داری یافت نشد.

نتیجه‌گیری: علی‌رغم مثبت بودن حضور ژن‌های *babA2* و *hsp* در سویه‌های هلیکوباکتری پیلوری جدا شده از بیماران دچار گاستریت، زخم معده و سرطان معده، این یافته با نوع اختلال گوارشی مرتبط نبود.

کلید واژه‌ها: هلیکوباکتری پیلوری، زخم پپتیک، سرطان معده، ژن *babA2*، ژن *hsp*

* نویسنده مسؤول: دکتر رامین آذرهوش، پست الکترونیکی raminazarhoush@yahoo.com

نشانی: گرگان، خیابان پنجم آذر، مرکز آموزشی درمانی پنجم آذر، گروه پاتولوژی، تلفن ۰۱۷۱-۲۲۲۰۵۶۱، نمابر ۲۲۲۷۹۱۰

وصول مقاله: ۹۲/۱۰/۲۳، اصلاح نهایی: ۹۳/۲/۲۰، پذیرش مقاله: ۹۳/۲/۲۰

مقدمه

در معرض انتروتوکسین‌های این باکتری قرار می‌گیرد (۲). هلیکوباکتری پیلوری ممکن است در هر قسمتی از معده دیده شود؛ ولی ناحیه آنتروم معده مناسب‌ترین جایگاه آن است. این باکتری در موکوس معده کلونیزه می‌شود و انواعی از تظاهرات بالینی در دستگاه فوقانی گوارش ایجاد می‌کند (۳). کلونیزاسیون این باکتری در معده انسان منجر به بیماری‌های گوارشی نظیر گاستریت مزمن، زخم معده، لنفوم و آدنوکارسینومای معده می‌شود (۳).

پروتئین‌های غشاء خارجی و آدهزین‌هایی از جنس پروتئین، گلیکوکنژوگ‌ها و لیپیدهای باکتریایی که در سطح باکتری قرار گرفته‌اند؛ برای ایجاد ارتباط بین سطح سلول میزبان و باکتری دخالت می‌کنند. لذا به عنوان عوامل ویروالانس محسوب می‌شوند (۴-۶). پروتئین *babA2* یک عامل اتصال مهم در

هلیکوباکتری پیلوری شایع‌ترین باکتری است که جوامع انسانی را در ابعاد جهانی مبتلا به عفونت ساخته است. هلیکوباکتری پیلوری یک باسیل گرم منفی و میکروآئروفیل است که حدود ۳/۵ میکرون طول و ۰/۵ میکرون عرض داشته و رشد آهسته‌ای دارد. این باکتری اولین بار در سال ۱۹۸۲ توسط وارن و مارشال از نمونه‌های بیوپسی بیماران مبتلا به گاستریت مزمن جدا گردید. این باکتری باعث التهاب حاد و مزمن معده، زخم معده و بدخیمی‌های معده مانند Maltoma می‌گردد (۷و۸).

اتصال هلیکوباکتری پیلوری به سلول‌های اپیتلیال و مخاطی معده یک قدم مهم در پاتوژنز این باکتری است. به‌دنبال چسبیدن هلیکوباکتری پیلوری به سطوح مخاطی دستگاه گوارش بافت میزبان

آزمایشگاه پاتولوژی مرکز آموزشی درمانی پنجم آذر گرگان و نمونه دیگر داخل ویال‌های استریل حاوی سرم فیزیولوژی برای استخراج DNA به آزمایشگاه دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی گلستان ارسال شد.

تست اوره آز توسط کیت اختصاصی بهارافشان (ساخت ایران) انجام شد. نمونه‌هایی که تست اوره آز آنها مثبت شد (تغییر رنگ صورتی)؛ به‌عنوان نمونه‌های هلیکوباکتریلوری مثبت در نظر گرفته شدند. همه ۸۰ نمونه بیوپسی معده جدا شده از بیماران به باکتری آلوده بودند و تایید نهایی هلیکوباکتریلوری براساس گزارش هیستوپاتولوژی انجام شد.

نمونه‌های داخل سرم فیزیولوژی در ظرف مدت یک هفته از زمان تهیه، برای استخراج DNA بررسی شدند و تا آن زمان در یخچال با دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

برای استخراج DNA از کیت Ko512 Fermentase Germany طبق دستورالعمل استفاده شد. سپس DNA استخراج شده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد تا انجام PCR نگهداری گردید.

از سکانس‌های پرایمرها برای تکثیر بخشی از قطعات ژن‌های babA2 و hsp که در مطالعات قبلی (۱۰ و ۱۴ و ۱۵) طراحی شده بود؛ استفاده گردید. به منظور تعیین اختصاصی بودن پرایمرها برای توالی هدف در ژنوم هلیکوباکتریلوری و بررسی همولوژی توالی پرایمرها با توالی‌های ثبت شده ژنتیکی از نرم‌افزار Blast در سایت اینترنتی NCBI استفاده شد. در مرحله بعد برای تعیین حضور ژن‌های babA2 و hsp در نمونه‌های آلوده به هلیکوباکتریلوری از دو جفت پرایمر به ترتیب شامل ۸۳۲ و ۳۸۴ جفت باز، استفاده شد. توالی پرایمرها و نشانگرهای اختصاصی شامل موارد زیر بود.

ژن	پرایمر
<i>BabA2</i>	<i>F 5'-AATCC AAAAA GGA GAAAAA GTATGAAA-3'</i> <i>R 5'-TGTTAGTGATTTCGGGTGTTAGGACA-3'</i>
<i>hsp</i>	<i>F5'- TGCGCTATAG TTGTGT CGC-3'</i> <i>R5'- GC TA TC TG AAAATTIGA TTTCTTTTTC-3'</i>

به منظور انجام PCR برای ژن babA2 یک حجم ۲۵ میکرولیتری شامل ۵ میکرولیتر بافر TBE، ۲/۵ میکرولیتر Mgcl2، ۲ میکرولیتر پرایمر (Forward and Reverse)؛ ۰/۲ میکرولیتر dNTP، ۲ میکرولیتر DNA Taq پلی‌مراز و ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده؛ استفاده گردید.

به منظور انجام PCR برای ژن hsp یک حجم ۵۰ میکرولیتری شامل ۵ میکرولیتر بافر TBE، ۳ میکرولیتر Mgcl2، ۲ میکرولیتر پرایمر (Forward and Reverse)؛ ۰/۲ میکرولیتر dNTP، ۲ میکرولیتر DNA Taq پلی‌مراز و ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده؛ استفاده گردید.

هلیکوباکتریلوری است که باعث اتصال باکتری به آنتی‌ژن گروه خونی Lewis b بر روی سلول‌های اپیتلیال معده می‌شود (۸ و ۷). ژن کدکننده ادهزین babA2 دارای دو آلل babA1 (شکل غیرفعال) و babA2 (شکل فعال) است (۱۰-۸). ادهزین‌ها، پروتئین‌های شوک حرارتی و لیپیدهای باکتریایی هم در کلونیزاسیون و اتصال چسبندگی هلیکوباکتریلوری به مخاط معده دخالت دارند و هم زمینه را برای التهابات گوارشی فراهم می‌آورند (۱۱).

شناسایی ژن babA2 به‌وسیله روش مولکولی PCR نشان‌دهنده فعالیت این ژن است. براساس نتایج مطالعات، عوامل محیطی و خصوصیات ژنتیکی میزبان و تنوع جغرافیایی می‌توانند در بیماری‌زایی موثر باشند (۱۱).

پروتئین hsp (Heat Shock Protein) فراوان‌ترین پروتئین سلولی است. این پروتئین در شرایط استرس به میزان بالاتری بیان می‌شود. پروتئین‌های شوک حرارتی در هدایت و عرضه آنتی‌ژن‌ها از طریق MHC کلاس I و القای پاسخ سلول‌های TCD8+ نقش مهمی دارند. امروزه نقش hsp ها به عنوان مارکری مناسب برای تهیه واکسن‌های ضدسرطان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴ و ۱۲). پروتئین‌های شوک حرارتی در چسبندگی هلیکوباکتریلوری به سلول‌های مخاطی معده نقش دارند. مقدار hsp60 و hsp70 در سطح انواع هلیکوباکتریلوری با هم متفاوت است و با میزان چسبندگی ارتباط دارد. سولفاتیدها گیرنده‌های میزبان برای hsp60 و hsp70 است. ایجاد استرس (در معرض PH=۳ یا PH=۵) و واکنش hsp-Sulfatide را سبب می‌شود. حضور این ژن‌ها، پیامدهای بالینی شدیدی را در بیماران گاستروئودونال و دیسپسی ایجاد می‌کنند (۹ و ۱۰ و ۱۳). این مطالعه به منظور تعیین فراوانی ژن‌های babA2 و hsp در سویه‌های هلیکوباکتریلوری جدا شده از بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی انجام شد.

روش بررسی

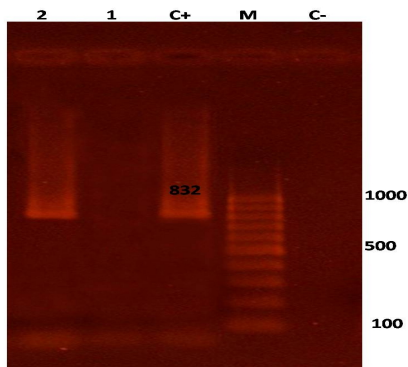
این مطالعه توصیفی - تحلیلی روی ۸۰ بیمار (۴۴ مرد و ۳۶ زن) با اختلالات گوارشی مراجعه کننده به کلینیک گوارش مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰ انجام شد. از بیماران رضایت‌نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه اخذ شد. متغیرهای فردی مانند سن، جنس و قومیت در پرسشنامه‌ای ثبت شد. بیماران از نظر رده سنی به گروه‌های زیر ۲۰ سال، ۲۱-۳۰ سال، ۳۱-۴۰ سال، ۴۱-۵۰ سال و بیش از ۵۰ سال تقسیم شدند. همچنین قومیت بیماران مورد مطالعه شامل قومیت‌های فارس، ترکمن و سیستانی بود.

بیماران با نظر متخصص گوارش آندوسکوپی شده و از معده آنان نمونه‌برداری گردید. یک نمونه برای انجام آزمایش هیستوپاتولوژی و تست اوره آز داخل محلول فرمالدئید ۱۰ درصد به

حضور ژن hsp با ژن babA2 اختلاف آماری معنی داری مشاهده نشد. ۱۹ نفر دارای ژن hsp، ۲۱ نفر دارای ژن babA2، ۳۰ نفر دارای هر دو ژن babA2 و hsp و ۱۰ نفر فاقد هر دو ژن بودند (جدول ۲).

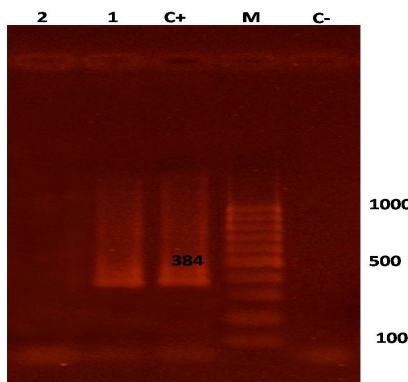
جدول ۱: فراوانی آلودگی به باکتری هلیکوباکتریلوری برحسب سن و قومیت در بیماران دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰

تعداد (درصد)		
کمتر از ۲۰	۰ (۰)	
۲۱-۳۰	۳ (۳/۸)	
۳۱-۴۰	۱۵ (۱۸/۸)	گروه سنی (سال)
۴۱-۵۰	۲۸ (۳۵)	
بیش از ۵۰	۳۴ (۴۲/۵)	
فارس	۴۳ (۵۳/۸)	قومیت
ترکمن	۲۶ (۳۲/۵)	
سیستانی	۱۱ (۱۳/۸)	



شکل ۱: نتایج حاصل از PCR ژن babA2 در بیوپسی بیماران دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰

چاهک ۱ و ۲: نمونه های بالینی دارای ژن babA2؛ چاهک C-: کنترل منفی؛ چاهک C+: کنترل مثبت باند ۸۳۲ bp؛ M: مارکر DNA



شکل ۲: نتایج حاصل از PCR ژن hsp در بیوپسی بیماران دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰

چاهک ۱ و ۲: نمونه های بالینی دارای ژن hsp؛ چاهک C-: کنترل منفی؛ چاهک C+: کنترل مثبت باند ۳۸۴ bp؛ M: مارکر DNA

برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر مورد استفاده برای PCR ژن babA2 شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل دمایی شامل دمای دناتوراسیون ثانویه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، دمای Annealing ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و دمای Elogation ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود.

برنامه دمایی مورد استفاده PCR ژن hsp شامل دمای دناتوراسیون اولیه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل دمایی شامل دمای دناتوراسیون ثانویه ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه، دمای Annealing ۵۲ درجه سانتی گراد به مدت یک دقیقه و دمای Elogation ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۲ دقیقه و در نهایت دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه بود.

در نهایت محصولات هر PCR در ژل ۱/۵ درصد آگاروز رنگ آمیزی و با اتیدیوم بروماید الکتروفورز شدند. سپس با استفاده از UV ترانس لومیناتور در حضور یک نشانگر DNA (۱۰۰ bp Fermentase) باندها مشاهده و با مارکر الگو مقایسه شدند. همچنین برای انجام الکتروفورز از ولتاژ ۷۰ با مدت زمان ۴۰-۵۰ دقیقه استفاده شد.

داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SPSS-18 تجزیه و تحلیل شدند. داده ها با استفاده از درصد و نسبت ها توصیف شدند. برای مقایسه بین گروه ها از آزمون آماری کای اسکور با سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده گردید.

یافته ها

اختلالات گوارشی بیماران شامل ۳۶ مورد (۴۵ درصد) گاستریت، ۲۶ مورد (۳۲/۵ درصد) زخم معده و ۱۸ مورد (۲۲/۵ درصد) سرطان معده بود.

بیشترین آلودگی به هلیکوباکتریلوری در گروه سنی بالای ۵۰ سال (۴۲/۵ درصد) مشاهده شد و موردی از آلودگی به باکتری در رده سنی زیر ۲۰ سال وجود نداشت. بین گروه سنی و ابتلا به هلیکوباکتریلوری ارتباط آماری معنی داری یافت نشد (جدول یک). همچنین بین ابتلا به هلیکوباکتریلوری و جنس (۵۵ درصد مرد، ۴۵ درصد زن) ارتباط آماری معنی داری یافت نشد.

بیشترین آلودگی به هلیکوباکتریلوری در قومیت فارس (۵۳/۸ درصد) مشاهده شد. بین آلودگی به باکتری با قومیت های فارس، ترکمن و سیستانی ارتباط آماری معنی داری یافت نشد (جدول یک).

نتایج حاصل از PCR ژن های babA2 و hsp در شکل های ۱ و ۲ نشان داده شده است.

حضور ژن babA2 در ۵۱ نمونه (۶۳/۸ درصد) و ژن hsp در ۴۹ نمونه (۶۱/۲ درصد) مثبت بود. همچنین در مقایسه فراوانی

حاضر می‌تواند به تنوع جغرافیایی و قومیتی مرتبط باشد. در مطالعه صفایی و همکاران در اصفهان فراوانی ژن babA2 در ۸۱ بیمار گوارشی مبتلا به گاستریت، زخم معده و سرطان معده به ترتیب ۶۸/۲ درصد، ۷۴/۱ درصد و ۸۰ درصد گزارش گردید و فراوانی کلی ژن babA2 ۷۱/۶ درصد تعیین شد (۱۶). در مطالعه اسحاقی و همکاران ارتباط معنی‌داری بین ژنوتیپ babA2 و گاستریت و زخم معده مشاهده نشد؛ ولی ارتباط این ژن با سرطان معده مشاهده شد (۱۴). در مطالعه Mizushima و همکاران نیز ارتباط ژن babA2 با بیماری‌های مختلف ناشی از هلیکوباکتریلوری نشان داده شد (۱۷). در صورتی که در مطالعه ما و مطالعه Tahara و همکاران (۱۵) بین حضور این ژن با بیماری گوارشی ارتباط معنی‌داری یافت نشد.

در مطالعه Tahara و همکاران در ژاپن فراوانی ژن hsp در بیماری گاستریت و زخم پپتیک گزارش گردید؛ اما ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن hsp و زخم پپتیک نشان داده نشده است (۱۵) که نتایج آن تقریباً مشابه نتایج مطالعه حاضر است. مطالعات بیشتری در خصوص حضور ژن‌های hsp و babA2 سویه‌های هلیکوباکتریلوری جدا شده از بیماران با اختلالات گوارشی پیشنهاد می‌گردد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد علی‌رغم مثبت بودن حضور ژن‌های hsp و babA2 در سویه‌های هلیکوباکتریلوری جدا شده از بیماران دچار گاستریت، زخم معده و سرطان معده، این یافته با نوع اختلال گوارشی مرتبط نبود.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم خاتون حیدری برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی از دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین وسیله از واحد حمایت از توسعه تحقیقات بالینی پنجم آذر سپاس‌گزاری می‌گردد. همچنین از خانم سکینه تقوی همکار محترم بخش آسیب‌شناسی و خانم فاطمه شاکری کارشناس محترم بخش میکروبیولوژی دانشگاه پزشکی دانشکده علوم پزشکی گلستان و نیز از کارکنان محترم بخش آندوسکوپی مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان تشکر و قدردانی می‌نمایم.

References

- 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 Jun;6(4):e4739
- Karima TM, Bukhari SZ, Ghais MA, Fatani MI, Hussain WM. Prevalence of Helicobacter pylori infection in patients with peptic ulcer diseases. Saudi Med J. 2006 May;27(5):621-6.

جدول ۲: ارتباط حضور ژن‌های hsp و babA2 در بیوپسی بیماران دچار اختلالات گوارشی مراجعه‌کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰

hsp منفی	hsp مثبت
۱۰ (۱۲/۵)	۱۹ (۲۳/۸)
۲۱ (۲۶/۲)	۳۰ (۳۷/۵)

جدول ۳: فراوانی حضور ژن‌های hsp و babA2 در بیوپسی بیماران دچار اختلالات گوارشی مراجعه‌کننده به مرکز آموزشی - درمانی پنجم آذر گرگان در سال ۱۳۹۰

سرطان معده تعداد (درصد)	گاستریت تعداد (درصد)	زخم معده تعداد (درصد)	
۱۱ (۶۱/۱)	۲۱ (۵۸/۳)	۱۹ (۷۳/۱)	babA2 +
۷ (۳۸/۸)	۱۵ (۴۱/۶)	۷ (۲۶/۹)	2 -
۸ (۴۴/۴)	۲۱ (۵۸/۳)	۲۰ (۷۷)	hsp +
۱۰ (۵۵/۵)	۱۵ (۴۱/۶)	۶ (۲۳)	-

فراوانی ژن babA2 برای بیماری‌های زخم معده، سرطان معده و گاستریت به ترتیب ۷۳/۱ درصد، ۶۱/۱ درصد و ۵۸/۳ درصد تعیین شد. همچنین فراوانی ژن hsp برای اختلالات گوارشی زخم معده، گاستریت و سرطان معده به ترتیب ۷۷ درصد، ۵۸/۳ درصد و ۴۴/۴ درصد تعیین گردید (جدول ۳). درصد مثبت بودن ژن‌های babA2 و hsp در بیماران مبتلا به زخم معده بیشتر بود. بین حضور این ژن‌ها و بیماری‌های سرطان معده زخم معده و گاستریت ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نگردید.

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه حضور ژن‌های hsp و babA2 در سویه‌های هلیکوباکتریلوری جدا شده از بیماران مثبت بود؛ اما این یافته با نوع اختلال گوارشی مرتبط نبود.

در مطالعه حاضر فراوانی ژن babA2 در زخم معده (۷۳/۱ درصد) نسبت به گاستریت و سرطان معده بیشتر بود. همچنین فراوانی این ژن در سویه‌های مثبت هلیکوباکتریلوری ۶۳/۸ درصد تعیین شد.

در مطالعه شیرازی و همکاران در تهران فراوانی ژن babA2 در نمونه‌های سرطان معده نسبت به سایر بیماری‌های گوارشی بالاتر بود و ارتباط معنی‌داری بین حضور این ژن و سرطان معده مشاهده نشد (۱۰). علت تناقض نتایج مطالعه شیرازی و همکاران (۱۰) با مطالعه

- Sanders MK, Peura DA. Helicobacter pylori-associated diseases. Curr Gastroenterol Rep. 2002 Dec;4(6):448-54.
- Ndip RN, MacKay WG, Farthing MJ, Weaver LT. Culturing Helicobacter pylori from clinical specimens: review of microbiologic methods. J Pediatr Gastroenterol Nutr. 2003 May;36(5):616-22.
- Chattopadhyay S, Patra R, Ramamurthy T, Chowdhury A, Santra A, Dhali GK, Bhattacharya SK, et al. Multiplex PCR assay

- for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. *J Clin Microbiol*. 2004 Jun;42(6):2821-4.
6. Bittencourt PF, Rocha GA, Penna FJ, Queiroz DM. Gastroduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)*. 2006;82(5):325-34.
7. Covacci A, Telford JL, Del Giudice G, Parsonnet J, Rappuoli R. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. *Science*. 1999 May; 284(5418):1328-33.
8. Logan RP. Adherence of *Helicobacter pylori*. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*. 1996; 10(1): 3-15.
9. Sheu BS, Sheu SM, Yang HB, Huang AH, Wu JJ. Host gastric Lewis expression determines the bacterial density of *Helicobacter pylori* in babA2 genopositive infection. *Gut*. 2003 Jul; 52(7): 927-32.
10. Shirazi MH, Pakbaz Z, Douraghi M, Pourmand MR, Azhdarkosh H, Aliramezani A. [Frequency of babA2 genotype in *Helicobacter pylori* from patient with gastroduodenal diseases in firouzgar hospital Tehran]. *Govareh*. 2012;17(2):78-83. [Article in Persian]
11. Hessey SJ, Spencer J, Wyatt JJ, Sobala G, Rathbone BJ, Axon AT, et al. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter* associated chronic gastritis. *Gut*. 1990 Feb; 31(2): 134-8.
12. Wang XY, Sun X, Chen X, Facciponte J, Repasky EA, Kane J, et al. Superior antitumor response induced by large stress protein chaperoned protein antigen compared with peptide antigen. *J Immunol*. 2010 Jun;184(11):6309-19.
13. Aspholm M, Kalia A, Ruhl S, Schedin S, Arnqvist A, Lindén S, et al. *Helicobacter pylori* adhesion to carbohydrates. *Method Enzymol*. 2006; 417: 293-339.
14. Eshaghi M, Ghasemian Safaee H, Havaee A, Navab Akbar F, Salehi R, Tavakoli H et al. [Assessment of babA2 genotype frequency in *H. Pylori* and its relationship with digestive tract diseases in patients in Isfahan's Alzahra Hospital]. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2008; 13(3):21-27. [Article in Persian]
15. Tahara T, Arisawa T, Shibata T, Yamashita H, Nakamura M, Yoshioka D, et al. Role of heat-shock protein (hsp) 70-2 genotype in peptic ulcer in Japanese population. *Hepatogastroenterology*. 2012 Mar-Apr;59(114):426-9.
16. Safaei HG, Havaei SA, Tavakkoli H, Eshaghei M, Navabakbar F, Salehei R. Relation of bab A2 genotype of *Helicobacter pylori* infection with chronic active gastritis, duodenal ulcer and non-cardia active gastritis in Alzahra hospital Isfahan, Iran. *Jundishapur J Microbiol*. 2010;3(3):93-8.
17. Mizushima T, Sugiyama T, Komatsu Y, Ishizuka J, Kato M, Asaka M. Clinical relevance of the babA2 genotype of *Helicobacter pylori* in Japanese clinical isolates. *J Clin Microbiol*. 2001 Jul; 39(7): 2463-5.

Original Paper

Assessment of babA2 and hsp genotype frequency in Helicobacter pylori specimens isolated from digestive disorders patients

Heidari Kh (M.Sc)¹, Azarhoush R (Ph.D)^{*2}, Forghanifar M (Ph.D)³

¹MS.c in Microbiology, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran. ²Associate Professor, Department of Pathology, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran. ³Assistant Professor, Ph.D in Genetics Molecular, Islamic Azad University, Damghan Branch, Damghan, Iran.

Abstract

Background and Objective: Helicobacter pylori is the main gastric pathogen in human. BabA2 and Hsp genotypes are essential for enormous clinical outcomes in gastroesophageal and dyspepsia. This study was done to determine the assessment of babA2 and hsp genotype frequency in Helicobacter pylori specimens isolated from digestive disorders patients.

Method: This descriptive-analytic study was carried out on 80 digestive disorders patients in 5th hospital, Gorgan, northern Iran. Stomach specimen biopsy was taken by a gastroenterologist. Urease test, histopathologic assessment and DNA extraction were performed. The frequency of babA2 and hsp genotypes was determined using polymerase chain reaction.

Results: In 80 affected patients with H.pylori, 36, 18 and 26 patients were found to suffer from gastritis, stomach cancer and stomach ulcer, respectively. 51 specimens (63%) were positive babA2 genotype. 49 specimens (61%) were positive hsp genotype. No significant relationship was found between babA2 and hsp genotypes with stomach diseases.

Conclusion: In spite of positive babA2 and hsp genotype in isolated Helicobacter pylori specimens from digestive disorders patients, this finding was not correlated with type of digestive disorders.

Keywords: Helicobacter pylori, babA2 gene, Hsp gene, Gastric disease

* **Corresponding Author:** Azarhoush R (Ph.D), E-mail: raminazarhoush@yahoo.com

Received 13 Jan 2014

Revised 20 May 2014

Accepted 20 May 2014