تحقیقی

فراوانی آلل‌های s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA هلیکوباکترپیلوری* جداشده از نمونه‌های بالینی

ساسان بادی[۱]، دکتر حامی کابوسی*[۲]، دکتر حسین عباسپور[۳]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد زیست شناسی –ژنتیک، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران. ۲- استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران. ۳- دانشیار گروه زیست شناسی، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف : *عفونت هلیکوباکترپیلوری عامل بیماری‌زایی بسیاری از بیماری های معده از جمله زخم پپتیک، سرطان معده و لنفوم معده است. دلایل تنوع پیامدهای عفونت ناشی از هلیکوباکترپیلوری ممکن است با اختلاف در ژنوتیپ یا بیان عوامل بیماری‌زایی وابسته به باکتری و نیز عوامل محیطی و میزبان مرتبط باشند. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلل‌های s1، s2، m1 و m2 ژن vacA هلیکوباکترپیلوری جداشده از نمونه‌های بالینی انجام شد.*

روش بررسی : *در این مطالعه مقطعی توصیفی - تحلیلی، نمونه گیری از ۱۸۳ بیمار دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امیرالمومنین (ع) کردکوی، استان گلستان در سال ۱۳۹۵ انجام شد. از هر بیمار دو نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم گرفته شد. نمونه اول با تست اوره‌آز و نمونه دوم با محلول فسفات بافر سالین ارزیابی شد. تست اوره‌آز ۵۰ نمونه مثبت و استخراج DNA انجام شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (polymerase chain reaction) برای آلل‌های vacA انجام گردید. سپس ارتباط ترشح توکسین با علایم گوارشی نظیر درد شکم، درد معده، ریفلاکس، حالت تهوع، التهاب معده، خونریزی، زخم معده، سوزش، کم خونی و کاهش وزن ارزیابی شد.*

یافته‌ها : *در سویه‌های جداشده فراوانی آلل‌های s1، s2، m1 و m2 ژن vacA هلیکوباکترپیلوری به ترتیب ۸۸ درصد، ٦ درصد، ۳۸ درصد و ۷۰ درصد تعیین شدند. همچنین ژنوتیپ‌های s1/m1، s1/m2، s2/m1 و s2/m2 ژن vacA هلیکوباکترپیلوری به ترتیب ۳٦ درصد، ۵۸ درصد، صفر درصد و ٦ درصد تعیین شدند. ترشح توکسین با علایم گوارشی از نظر آماری ارتباط معنی‌داری نداشت.*

نتیجه‌گیری : *ژنوتیپ غالب بیماران دارای اختلالات گوارشی (۵۸ درصد) s1/m2 تعیین شد و ژنوتیپ s2/m1 مشاهده نگردید.*

کلید واژه‌ها : *بیماری گوارشی ، هلیکوباکترپیلوری ، آلل‌های ژن vacA*

* نویسنده مسؤول : دکتر حامی کابوسی ، پست الکترونیکی **hkaboosi@gmail.com**

نشانی: آمل، جاده قدیم آمل به بابل، فرعی دانشگاه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد آیت الله آملی، تلفن ٤٣٢١٧٣٢٤-٠١١، نمابر ٤٣٢١١٧٠٤١

وصول مقاله : ۱۳۹٦/۳/۱٦ ، اصلاح نهایی : ۱۳۹٦/۷/۱۷ ، پذیرش مقاله : ۱۳۹٦/۸/۲۲

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری (*Helicobacter pylori*) باکتری گرم منفی، میکروآئروفیلک و دارای ۶-۴ تاژک غشادار است. این باکتری افراد را در کشورهای توسعه یافته (۵۰ درصد) و درحال توسعه (۸۰ درصد) آلوده نموده است (۱). *هلیکوباکترپیلوری* میکروارگانیسم سختگیری است که نیاز به یک محیط رشد غنی برای کشت در شرایط آزمایشگاهی دارد (۲). فرم کوکوئید هر چند قابل کشت نیست؛ ولی به‌طور بالقوه قابل دوام و یک عامل عفونی است که مسؤول انتقال *هلیکوباکترپیلوری* است. تبدیل مارپیچی به فرم کوکوئید تحت شرایط نامطلوب مانند قرارگرفتن در معرض آنتی‌بیوتیک‌ها و کمبود ماده مغذی رخ می‌دهد. *هلیکوباکترپیلوری* اصولاً باکتری مارپیچی است و در هر دو شکل قابل زیست و بیماری‌زاست (۳). این باکتری دارای یکی از قوی‌ترین اوره‌آزها است. ضمن این که فعالیت کاتالازی و اکسیدازی نیز دارد. اگرچه ورود باکتری به بدن سبب تحریک سیستم ایمنی می‌گردد؛ ولی در اغلب موارد فعالیت دستگاه ایمنی منجر به حذف باکتری نمی‌گردد. بدین ترتیب باکتری می‌تواند سال‌ها وحتی مادالعمر در بدن به شکل مزمن باقی بماند. آلودگی با این باکتری در اکثر موارد بدون هیچگونه علامت بالینی بوده و تنها درصد کمی از افراد علایمی از قبیل سوزش سردل، التهاب معده، التهاب ناحیه دوازدهه، زخم معده و دوازدهه و کم‌خونی ناشی از فقر آهن از خود بروز می‌دهند. حدود ۳-۲ درصد از افراد مبتلا به *هلیکوباکترپیلوری* امکان ابتلا به آدنوکارسینوما و لنفومای معده را دارند (۱). از مبتلایان به گاستریت

کد ارکید: ساسان بادی: 0000-0002-5093-3189، دکتر حامی کابوسی: 0000-0002-3407-0950، دکتر حسین عباسپور: 0000-0001-9866-4347

مزمن، تنها یک جمعیت کوچک مبتلایان به این عفونت در نهایت به بیماری بالینی قابل توجهی مبتلا می‌شوند. این حساب تقریباً معادل یک در ۵ تا ۶ افرادی است که بیماری زخم پپتیک را در طول عمر خود و کمتر از یک درصد سرطان معده را توسعه می‌دهند (۴). بیماری‌زایی هر سویه با توجه به میزان تبادل علایم بین باکتری و سلول‌های پوششی میزبان متفاوت است. عفونت *هلیکوباکترپیلوری* یکی از شایع‌ترین عفونت‌های مزمن باکتریی در سطح جهان و به ویژه در کشورهای درحال توسعه است. الگوی اپیدمیولوژیک این عفونت در کشورهای صنعتی و در حال توسعه متفاوت است. به طوری که در کشورهای صنعتی به تدریج و با افزایش سن، شیوع عفونت افزایش می‌یابد؛ اما در کشورهای درحال توسعه بیشتر در سن کودکی و درصد زیادی از افراد جوان نیز پس از بزرگسالی عفونی می‌شوند (۵). انسان‌ها مخزن مهم *هلیکوباکترپیلوری* هستند و این باکتری می‌تواند در محیط خشن معده و در مقابل حضور شیره معده زندگی و رشد نماید (۶). باکتری با استفاده از غذا یا آب آلوده از راه دهان وارد معده شده و کافی است یک‌بار بتواند در موکوس معده پنهان شود. در این زمان باکتری مذکور در لایه مخاطی معده مستقر شده و توسط تاژک‌های برآمده خود را در میان سلول‌های لایه مخاطی جای می‌دهد. در صورت بروز زخم معده در ناحیه فاقد لایه مخاطی و در واقع بر روی سلول‌های اپیتلیوم معده استقرار یافته و تاژک‌های خود را در آن ناحیه فرو می‌برد. کلونیزاسیون به‌طور خاصی در مراکز نگهداری کودکان شایع است. این یافته‌ها انتشار فرد به فرد را مطرح می‌کنند. *هلیکوباکترپیلوری* به سادگی از مواد استفراغ شده و مواد فاسد از ریفلاکس معده به مری منتقل می‌شود (۶و۷). معمولاً انتقال بیماری ازطریق مدفوعی دهانی صورت می‌پذیرد. شیوع این باکتری در افرادی که از لحاظ بهداشتی در سطح پایین هستند یا در کسانی که به‌طور جمعی زندگی می‌کنند؛ بیشتراست (۸).

شیوع *هلیکوباکترپیلوری* در درجه اول به سن و منطقه جغرافیایی وابسته است. همچنین شیوع آن در مردان و زنان یکسان است. باکتری را می‌توان در مواد استفراغی یا مواد اسهالی افراد مبتلا یافت. انتقال عفونت اساساً خانوادگی است و در کشورهای توسعه یافته انتقال عفونت به‌طور مستقیم از شخصی به شخص دیگر و اغلب با مواد استفراغ شده، بزاق یا مدفوع صورت گیرد. در کشورهای درحال توسعه انتقال از طریق آب اهمیت بیشتری دارد. هیچ مدرکی در مورد احتمال انتقال باکتری از طریق حیوانات وجود ندارد (۹و۱۰).

ژن *vacA* که سیتوتوکسین واکوئل‌زا را کد می‌کند؛ در تمامی سویه‌های *هلیکوباکترپیلوری* وجود دارد. سم آنها تنها در ۵۰ درصد از سویه‌ها بیان می‌شود و این به دلیل تنوع در توالی اسیدهای آمینه ژن *vacA* در سویه‌های مختلف است. این ژن دارای دو ناحیه متغیر سیگنالینگ و میانی است. ناحیه سیگنالینگ رمز کننده بخش پپتید سیگنالی انتهای آمینی توکسین بالغ است و ۲ تیپ s1 و s2 است. *vacA* در ناحیه m خود نیز دارای تنوع و به دوشکل آللی m1 و m2 در ناحیه m قابل تشخیص است. آلل‌های ژن *vacA* دارای نوعی تنوع ژنتیکی موزائیک هستند. به‌طوری که در میان توالی سیگنال آنها ۴ ناحیه s1a، s1b، s1c و s2 و در توالی میانی آنها تاکنون سه ناحیه m1a، m1b و m2 کشف شده است. سویه‌هایی با ژنوتیپ‌های s1/m1 و s2/m2 دارای حداکثر فعالیت سیتوتوکسیک و سویه‌های با ژنوتیپ s2/m2 و s2/m1 دارای حداقل فعالیت سیتوتوکسیک یا بدون فعالیت هستند (۵). این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلل‌های s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA* *هلیکوباکترپیلوری* جداشده از نمونه‌های بالینی در شهرستان کردکوی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه به صورت مقطعی توصیفی - تحلیلی در گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان انجام شد. نمونه‌گیری از ۱۸۳ بیمار دچار اختلالات گوارشی مراجعه کننده به بخش آندوسکوپی بیمارستان امیرالمومنین (ع) کردکوی، استان گلستان در سال ۱۳۹۵ انجام شد.

از هر بیمار دو نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم به همراه رضایت نامه کتبی آگاهانه شرکت در مطالعه گرفته شد. برای تشخیص وجود *هلیکوباکترپیلوری*، از دو نمونه گرفته شده، نمونه اول با تست اوره‌آز و نمونه دوم با محلول فسفات بافر سالین ارزیابی شد. تست اوره‌آز ۵۰ نمونه مثبت شد. استخراج DNA با کیت سیناژن انجام

جدول ۱ : پرایمرهای بر پایه ژن vacA مورد استفاده در PCR

نام پرایمر	Primer Sequence (5′→3′)	اندازه محصول	مرجع
S1 F S1R	5′ ATGGAAATACAACAAACACAC3′ 5′ CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3′	۲۵۹bp	طراحی شده با oligo7 چک شده با Blast
S2F S2 R	5′GCTAACACGCCAAATGATCC 3′ 5′ CTGCTTGAATGCGCCAAAC 3′	۱۹۹bp	۱۱
M1F M1R	5′GGTCAAAATGCGGTCATGG3′ 5′CCATTGGTACCTGTAGAAAC3′	۲۹۰bp	۱۱
M2F M2R	5′GGAGCCCCAGGAAACATTG3′ 5′CATAACTAGCGCCTTGCAC3′	۳۵۲bp	۱۲

جدول ۲ : فراوانی آلل‌های s1، s2، m1 و m2 ژن vacA هلیکوباکترپیلوری ژن vacA جدا شده از نمونه‌های بالینی مراجعین به بیمارستان امیرالمومنین (ع) کردکوی برحسب جنس در سال ۱۳۹۵

جنسیت	نتیجه تست اوره‌آز	آلل s1 تعداد (درصد)	آلل s2 تعداد (درصد)	آلل m1 تعداد (درصد)	آلل m2 تعداد (درصد)	جمع کل تعداد (درصد)
مرد	مثبت	۳۰ (۹۰/۹)	۱ (٤/٥٥)	۱۰ (٤٥/٤٥)	۱٥ (٦٨/۲)	۲۲ (٤٤)
	منفی	۲ (۹/۱)	۲۱ (۹٥/٤٥)	۱۲ (٥٤/٥٥)	۷ (۳۱/۸)	
زن	مثبت	۲٤ (۸٥/۷)	۲ (۷/۱٥)	۹ (۳۲/۱٥)	۲۰ (۷۱/٤)	۲۸ (٥٦)
	منفی	٤ (۱٤/۳)	۲٦ (۹۲/۸٥)	۱۹ (٦۷/۸٥)	۸ (۲۸/٦)	

شد. واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (polymerase chain reaction) برای آلل‌های *vacA* انجام گردید. پس از استخراج DNA جذب آن در nm ۲۸۰ خوانده شد. پرایمرهای مورد استفاده در PCR بر پایه ژن *vacA* در جدول یک آمده است.

شرایط دمایی و مدت زمان انجام واکنش PCR به شرح زیر بود: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد طی یک سیکل ۵ دقیقه‌ای انجام شد. دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد طی ۳۵ سیکل ۳۵ ثانیه‌ای انجام شد. اتصال طی ۳۵ سیکل ۳۰ ثانیه‌ای انجام شد. تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد طی ۳۵ سیکل ۳۵ ثانیه ای انجام شد. تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد طی یک سیکل ۷ دقیقه‌ای انجام شد.

ارتباط ترشح توکسین با علایم گوارشی نظیر درد شکم، درد معده، ریفلاکس، حالت تهوع، التهاب معده، خونریزی، زخم معده، سوزش، کم‌خونی و کاهش وزن ارزیابی شد.

داده ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-19 تجزیه و تحلیل شدند. برای بررسی متغیرهای سن با احتمال ترشح توکسین از آزمون پیرسون، متغیر جنسیت و احتمال ترشح توکسین از آزمون T-test و ترشح توکسین برحسب علایم بیماری از آزمون ANOVA در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده شد.

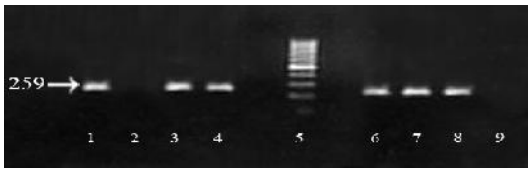
یافته‌ها

در سویه های جداشده فراوانی آلل های s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA هلیکوباکترپیلوری* به ترتیب ۸۸ درصد، ۶ درصد، ۳۸ درصد و ۷۰ درصد تعیین شدند. فراونی آلل‌های مورد مطالعه به تفکیک جنسیت مرد و زن در جدول ۲ آمده است.

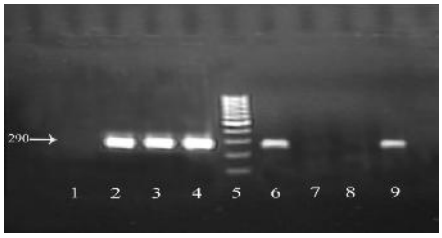
همچنین ژنوتیپ‌های s1/m1، s1/m2، s2/m1 و s2/m2 ژن *vacA هلیکوباکترپیلوری* به ترتیب ۳۶ درصد، ۵۸ درصد، صفر درصد و ۶ درصد تعیین شدند.

از ۵۰ نمونه مورد بررسی ۴۴ نمونه واجد آلل s1 (شکل یک)، ۱۹ نمونه واجد آلل m1 (شکل ۲)، ۳۵ نمونه واجد آلل m2 (شکل ۳) و ۳ نمونه واجد آلل s2 (شکل ۴) بودند.

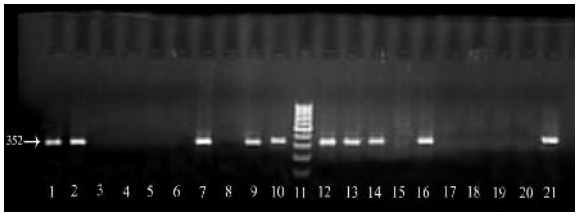
احتمال ترشح توکسین در مردان ۱/۱۷±۳/۶۹ و در زنان ۱/۱۷±۳/۵۳ تعیین شد و این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. احتمال ترشح توکسین با درد شکم، درد معده و ریفلاکس (۱/۲۲±۳/۵۷)؛ حالت تهوع و التهاب معده (۱/۳۴±۳/۷۸)؛ خونریزی، زخم معده، سوزش و کم‌خونی (۰/۸۵±۳/۵) و نیز کاهش وزن (۰/۰±۴) از نظر آماری معنی‌دار نبود.



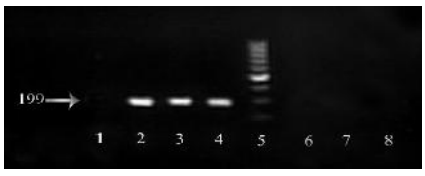
شکل ۱: شماره‌های ۱، ۳، ٤، ٦ و ۷: نمونه‌های مثبت آلل s1؛ شماره ۲: منفی؛ شماره ۵: لودینگ bp ۱۰۰؛ شماره ۸: کنترل مثبت؛ شماره ۹: کنترل منفی



شکل ۲: شماره ۱: کنترل منفی؛ شماره ۲: کنترل مثبت؛ شماره‌های ۷و۸: منفی؛ شماره ۵: لودینگ bp ۱۰۰؛ شماره‌های ۳، ٤، ٦ و ۹: نمونه‌های مثبت آلل m1



شکل ۳ : شماره‌های ۱، ۲، ۷، ۹، ۱۰، ۱۲، ۱۳، ۱٤ و ۱٦: نمونه‌های مثبت آلل m2؛ شماره‌های ۳، ٤، ٥، ٦، ۸، ۱٥، ۱۷، ۱۸، ۱۹: نمونه‌های منفی؛ شماره ۱۱: لودینگ bp ۱۰۰؛ شماره ۲۰: کنترل منفی؛ شماره ۲۱: کنترل مثبت



شکل ٤ : شماره ۱: کنترل منفی؛ شماره ۲: کنترل مثبت؛ شماره‌های ۳و٤: نمونه‌های مثبت آلل s2؛ شماره ۵: لودینگ bp ۱۰۰؛ شماره‌های ٦، ۷ و ۸: منفی

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه در سویه‌های جداشده فراوانی آلل های s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA هلیکوباکترپیلوری* به ترتیب

۸۸ درصد، ۶ درصد، ۳۸ درصد و ۷۰ درصد تعیین شدند. همچنین ژنوتیپ‌های s1/m1، s1/m2، s2/m1 و s2/m2 ژن *vacA* *هلیکوباکترپیلوری* به ترتیب ۳۶ درصد، ۵۸ درصد، صفر درصد و ۶ درصد تعیین شدند.

سویه‌های دارای زیر واحدهای *vacA* s1/m1 مقدار بالایی از توکسین را ترشح می‌نمایند. این در حالی است که سویه‌های دارای زیر واحدهای *vacA* s1/m2 میزان متوسط و سویه‌های دارای زیرواحدهای *vacA* s2/m2 یا مقدار ناچیزی از توکسین را به وجود می‌آورند و یا توکسینی را تولید نمی‌کنند. همچنین سویه‌های دارای آلل m1، نسبت به سویه های دارای آلل m2، آسیب‌های بیشتری را به اپیتلیال معده وارد می‌کنند (۱۳).

در مطالعه Vinagre و همکاران فراوانی آلل‌های s1 و m1 به ترتیب ۸۸ درصد و ۸۷ درصد و فراوانی ژنوتیپی s1/m1، s1/m2، و s2/m2 به ترتیب ۸۶/۶ درصد، ۱/۲ درصد و ۱۲/۲ درصد گزارش شد. فراوانی آلل s1 (۸۸درصد) با مطالعه حاضر همخوانی دارد (۱۴). در مطالعه هنرمند جهرمی و همکاران ژنوتیپ‌های سویه‌های جدا شده *هلیکوباکترپیلوری* S1، m2، S2 و m1 به ترتیب ۸۲ درصد، ۷۰ درصد، ۱۸ درصد و ۲۹/۲ درصد تعیین شدند (۱۵). فراوانی آلل m2 (۷۰درصد) با مطالعه حاضر همخوانی دارد.

در مطالعه لطیفی نوید و همکاران فراوانی آلل‌های s1 *vacA*، s2، m1 و m2 به ترتیب ۹۴/۹ درصد، ۵۱/۱ درصد، ۲۴/۶ درصد و ۷۵/۴ درصد گزارش شد (۱۶). در مطالعه Ozbey و همکاران از ۴۹ جدایه *هلیکوباکترپیلوری* ۴۵ سویه (۹۱/۸درصد) آلل s1، ۱۷ سویه (۳۴/۷درصد) آلل m1، ۴ سویه (۸/۲ درصد) آلل s2 و ۳۲ سویه (۶۵/۳درصد) آلل m2 را دارا بودند و همچنین ژنوتیپ‌های s1m1، s1m2 و s2m2 به‌ترتیب در ۳۴/۷ درصد، ۵۷/۱ درصد و ۸/۲ درصد جدایه‌ها یافت شدند (۱۷). در مطالعه Kidd و همکاران ۴۷ سویه (۸۰درصد) از ۵۹ سویه ژنوتیپ S1، ۱۲ سویه (۲۰درصد) S2، ۴۰ سویه (۶۸درصد) m1 *vacA* و ۱۹ سویه (۳۲درصد) m2 را دارا بودند (۱۸). در مطالعه GoSciiziak و همکاران ترکیب ژنوتیپ‌های *vacA*، S1a/m1، S1a/m2 و S2/m2 گزارش شد که به‌ترتیب شامل ۳۵ درصد، ۳۶ درصد و ۲۸ درصد سویه‌ها بودند (۱۹). درمطالعه Erdogdu و همکاران فراوانی m1 *vacA* ۳۳/۶ درصد، m2 ۶۵/۵ درصد و s2 ۲۷/۱ درصد گزارش گردید (۲۰). در مطالعه مبارکی و همکاران فراوانی آلل‌های *vacA*، S1، S2، m1 و m2 به‌ترتیب ۶۲ درصد، ۳۸ درصد، ۲۳ درصد و ۷۸ درصد تعیین شدند. همچنین فراوانی ژنوتیپ‌های s1m1، s1m2 و s2m2 به‌ترتیب ۴۳ درصد، ۵۷ درصد و ۲۳ درصد گزارش شد (۱).

در مطالعه پاجاوند و همکاران بین ژنوتیپ‌های مختلف *vacA*، دو ژنوتیپ s1m2 و s2m2 به ترتیب با مقادیر ۳۹/۵ درصد و ۵۰ درصد فراوانی‌های غالب را دارا بودند و سویه‌ها دارای ۴۹/۹ درصد آلل s1، ۵۱/۱ درصد آلل s2، ۱۰/۵ درصد آلل m1 و ۸۹/۵ درصد آلل m2 بودند (۲۱). در مطالعه وزیری و همکاران از میان ۱۷۷ بیمار ۷۱ بیمار مبتلا به اختلالات گوارشی بودند که نسبت آلل‌های *vacA* s1 ۷۸/۹ درصد، s2 ۱۹/۷ درصد، m1 ۲۱/۱ درصد و m2 ۷۸/۹ درصد گزارش شد (۲۲) که با مطالعه حاضر همخوانی ندارد.

در مطالعه نهایی و همکاران زیرواحدهای s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA* به ترتیب ۶۶ درصد، ۲۷/۷ درصد، ۳۲/۷ درصد و ۵۴ درصد گزارش شد (۲۳). در مطالعه فروغی و همکاران زیرواحدهای s1، s2، m1 و m2 ژن *vacA* در ۷۸ جدایه به ترتیب ۷۰/۵ درصد، ۲۹/۵ درصد، ۳۷/۲ درصد و ۶۲/۸ درصد گزارش شد (۲۴). در مطالعه El-Toukhy و همکاران فراوانی آلل‌های *vacA* *هلیکوباکترپیلوری* m1، m2 و s2 به‌ترتیب ۶۱/۴ درصد، ۲۵ درصد و ۲۷/۱ درصد (۲۵).

در مطالعه حاضر با افزایش سن بیماران احتمال ترشح توکسین در میان آنها با شدت ضعیفی افزایش می‌یافت و این ارتباط از نظر آماری معنی‌دار نبود. همچنین ژنوتیپ s2m1 همان‌طور که در سایر مطالعات (۲۶و۲۷) میزان اندکی داشت؛ در مطالعه حاضر نیز میزانش صفر بود؛ اما سویه های *هلیکوباکترپیلوری* دارای آلل s1 در بیماران دارای بیماری‌های گوارشی بیشترین و کمترین میزان را آلل s2 دارا بودند. علت تفاوت فراوانی آللی مطالعه حاضر با سایر مطالعات را می توان در منشا جغرافیایی و نژاد، عوامل بیماری‌زایی باکتری و حساسیت میزبان جستجو کرد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که ژنوتیپ غالب *هلیکوباکترپیلوری* بیماران دارای اختلالات گوارشی (۵۸ درصد) در این مطالعه، s1m2 است. همچنین ژنوتیپ s2/m1 مشاهده نشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله نتیجه پایان‌نامه (شماره ۱۴۲۳۰۵۰۳۹۵۲۰۰۴) آقای ساسان بادی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته زیست‌شناسی - ژنتیک از دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان بود. بدین‌وسیله از جناب آقایان دکتر محمد سلیمانی ورکی و دکتر محمدرضا سیدمجیدی به خاطر تهیه نمونه‌های بالینی صمیمانه سپاسگزاری می گردد. همچنین از سرکار خانم نرگس بادی به خاطر همکاری در این تحقیق تشکر می‌نماییم.

References

1. Mobaraki M, Roughanian R, AzamT, Zarkesh-Esfahani S, Daghaghzadeh H. [Simultaneous detection of caga gene and vaca alleles in Helicobacter pylori isolated from patients with gastrointestinal inflammations using multiplex PCR]. Iranian Biology Society. 2012; 24(6): 895-903. [Article in Persian]

2. Warren JR, Marshall B. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet. 1983 Jun; 1(8336): 1273-75.

3. Mégraud F. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of Helicobacter pylori. Scand J Gastroenterol Suppl. 1996; 215: 57-62.

4. Ford AC, Axon AT. Epidemiology of Helicobacter pylori infection and public health implications. Helicobacter. 2010 Sep; 15 Suppl 1: 1-6. doi:10.1111/j.1523-5378.2010.00779.x

5. Tajbakhsh E, Shahve M, Tajbakhsh S, khamesipour F. Prevalence of Helicobacter pylori vacA allels and cagA gene in the feces of seroposetive children in Kermanshah city. Iran J Med Microbiol. 2015; 9(3): 54-65. [Article in Persian]

6. Nguyen AM, Engstrand L, Genta RM, Graham DY, el-Zaatari FA. Detection of Helicobacter pylori in dental plaque by reverse transcription-polymerase chain reaction. J Clin Microbiol. 1993 Apr; 31(4): 783-87.

7. Madinier IM, Fosse TM, Monteil RA. Oral carriage of Helicobacter pylori: a review. J Periodontol. 1997 Jan; 68(1): 2-6. doi:10.1902/jop.1997.68.1.2

8. Brown LM. Helicobacter pylori: epidemiology and routes of transmission. Epidemiol Rev. 2000; 22(2): 283-97.

9. Gramley WA, Asghar A, Frierson Jr HF, Powell SM. Detection of Helicobacter pylori DNA in fecal samples from infected individuals. J Clin Microbiol. 1999 Jul; 37(7): 2236-40.

10. Zhang L, Blot WJ, You WC, Chang YS, Kneller RW, Jin ML, et al. Helicobacter pylori antibodies in relation to precancerous gastric lesions in a high-risk Chinese population. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1996 Aug; 5(8): 627-30.

11. Havaei SA, Salehi R, Fazeli SA, Tavakkoli H, Mohajeri P. [Study of vac A genotypes of H.pylori Isolated from Patients with the Upper Gastrointestinal Diseases by PCR]. J Isfahan Med Sch. 2009; 27(93): 85-92. [Article in Persian]

12. 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.

13. Rezaeian A, Karegar M, Souod N, Ghorbani Salini S. Genetic polymorphisms of CagA and VacA genes in Helicobacter pylori isolates from Chaharmahal and Bakhtiari province, Iran. J Isfahan Med Sch. 2012; 30(197): 1019-27. [Article in Persian]

14. Vinagre ID, Queiroz AL, Silva Júnior MR, Vinagre RM, Martins LC. Helicobacter pylori infection in patients with different gastrointestinal diseases from Northern Brazil. Arq Gastroenterol. 2015 Dec; 52(4): 266-71. doi:10.1590/S0004-28032015000400004

15. Honarmand-Jahromy S, Siavoshi F, Malekzadeh R, Nejad Sattari T, Latifi-Navid S. Reciprocal impact of host factors and Helicobacter pylori genotypes on gastric diseases. World J Gastroenterol. 2015 Aug; 21(31): 9317-27. doi:10.3748/wjg.v21.i31.9317

16. Latifi-Navid S, Mohammadi S, Maleki P, Zahri S, Yazdanbod A, Siavoshi F, Massarrat S. Helicobacter pylori vacA d1/-i1 genotypes and geographic differentiation between high and low incidence areas of gastric cancer in Iran. Arch Iran Med. 2013 Jun; 16(6): 330-37. doi:013166/AIM.005

17. Ozbey G, Dogan Y, Demiroren K. Prevalence of Helicobacter pylori virulence genotypes among children in Eastern Turkey. World J Gastroenterol. 2013 Oct; 19(39): 6585-89. doi:10.3748/wjg.v19.i39.6585

18. 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 Oct; 45(4): 499-502.

19. GoSciiziak G, Gasxewska-Mastalarz A, Przotido-Mordarska' A, Zakriezuska- Czenuiriska J, Iwahxak B, Poiiiezuierka E. Diversity of Helicobacter pylori vacA gene and cytotoxin production. Clin Microbiol Infect. 1999; 5: 662-67.

20. Erdogdu C, Saribas Z, Akyön Yilmaz Y. Detection of cagA and vacA genotypes of Helicobacter pylori isolates from a university hospital in Ankara region, Turkey. Turk J Med Sci. 2014; 44(1): 126-32.

21. Pajavand H, Alvandi A, Mohajeri P, Bakhtyari S, Bashiri H, Kalali B, et al. High frequency of vacA s1m2 genotypes among Helicobacter pylori isolates from patients with gastroduodenal disorders in Kermanshah, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015 Nov; 8(11): e25425. doi:10.5812/jjm.25425

22. Vaziri F, Najar Peerayeh S, Alebouyeh M, Mirzaei T, Yamaoka Y, Molaei M, et al. Diversity of Helicobacter pylori genotypes in Iranian patients with different gastroduodenal disorders. World J Gastroenterol. 2013 Sep; 19(34): 5685-92. doi:10.3748/wjg.v19.i34.5685

23. Nahaei MR, Sharifi Y, Akhi MT, Asgharzadeh M, Nahaei M, Fatahi E. Helicobacter pylori cagA and vacA genotypes and their relationships to peptic ulcer disease and non-ulcer dyspepsia. Research Journal of Microbiology. 2008; 3: 386-94.

24. Foroughi F, Molaei M, Mashayekhi R, Dabiri H, Shokrzadeh L, Zojaji H, et al. Helicobacter pylori cagA Status, vacA subtypes and histopathologic findings in Iranian patients with chronic gastritis. Iran J Pathol. 2009; 4(1): 19-25.

25. El-Toukhy N, Saeed AM, Emara NM. Clinical Relevance of the cagA,vacA and babA2 virulence factors of Helicobacter pylori in Egyptian patients with gastroduodenal diseases. International Journal of Advanced Research. 2016; 4: 1002-20. doi:10.21474/IJAR01/192

26. Shiota S, Cruz M, Abreu JA, Mitsui T, Terao H, Disla M, et al. Virulence genes of Helicobacter pylori in the Dominican Republic. J Med Microbiol. 2014 Sep; 63(Pt 9): 1189-96. doi:10.1099/jmm.0.075275-0

27. Rafeey M, Ghostaslou R, Milani M, Farokhi N, Ghojazadeh M. Association between Helicobacter pylori, cagA, and vacA status and clinical presentation in Iranian Children. Iran J Pediatr. 2013 Oct; 235: 551-56.

Original Paper

Prevalence of s1, s2, m1 and m2 alleles of *vacA* *Helicobacter pylori* gene isolated from clinical specimen

Sasan Badi (M.Sc)[1], Hami Kaboosi (Ph.D)*[2], Hossian Abbaspoor (Ph.D)[3]

[1]M.Sc in Genetic Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran. [2]Assistant Professor, Department of Microbiology, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran. [3]Associate Professor, Department of Biology, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Helicobacter pylori* infection is a pathogenic agent of many stomach disorders, including peptic ulcer disease, stomach cancer and stomach lymphoma. The reasons for the variety of the outcomes of the infection resulting from *Helicobacter pylori* may be related to difference in genotype or expression of pathogenic bacterial-related factors, as well as environmental and host factors. This study was conducted to determine the frequency of s1, s2, m1 and m2 alleles of the *vacA Helicobacter pylori* gene isolated from clinical samples.

Methods: This descriptive-analytic study was conducted on 183 patients whom suffering from digestive disorders which referring to the endoscopic department of Kordkuy's Amiralmomenin hospital in Golestan province, north of Iran during 2016. Two samples of biopsy from antrum region were taken from each patient. The first sample was evaluated by urease test and the second one was done with saline buffer phosphate solution. Urease test of 50 positive samples and DNA extraction was performed. The polymerase chain reaction was performed for *vacA* alleles and then the relationship between toxin secretion with the symptoms such as abdominal pain, stomachache, reflux, nausea, gastritis, bleeding, stomach ulcers, burning, anemia, and weight loss were evaluated.

Results: Frequency of s1, s2, m1, m2 *vacA* alleles of isolated strains was 88%, 6%, 38% and 70%, respectively. Also, the s1 / m1, s1 / m2, s2 / m1 and s2 / m2 genotypes of *vacA Helicobacter pylori* gene were determined 36%, 58%, 0% and 6%, respectively. Toxin secretion did not have significant relationship with digestive symptoms.

Conclusion: The dominant genotype of the patients with digestive disorders (58%) in this study was s1 / m2 and s2 / m1 genotype did not observe in clinical samples.

Keywords: Digestive diseases, *Helicobacter pylori*, *vacA* gene alleles

*** Corresponding Author: Kaboosi H (Ph.D), E-mail: hkaboosi@gmail.com**

Received 6 Jun 2017 **Revised** 9 Oct 2017 **Accepted** 13 Nov 2017

Cite this article as: Badi S, Kaboosi H, Abbaspoor H. [Prevalence of s1, s2, m1 and m2 alleles of *vacA Helicobacter pylori* gene isolated from clinical specimen]. J Gorgan Univ Med Sci. 2018 Autumn; 20 (3): 70-75. [Article in Persian]

Orcid id: Sasan Badi: 0000-0002-5093-3189, Hami Kaboosi: 0000-0002-3407-0950, Hossian Abbaspoor: 0000-0001-9866-4347