مقاله پژوهشی

ارتباط ژن‌های شناخته شده‌ی نواحی متغیر (plasticity region) و جزیره بیماری‌زای cag (cagPAI) هلیکوباکترپیلوری با زخم معده و زخم دوازدهه در ایران

سیده زهرا بختی [۱]، شکوفه قلیزاده [۱]، سعید لطیفی نوید [۱و۲*]، صابر زهری [۱]، فریده فیضی [۳]، عباس یزدان‌بد [۳]

[۱] گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، دانشکده علوم، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
[۲] مرکز تحقیقات علوم زیستی و زیست فناوری، دانشگاه فناوری های نوین سبلان، نمین، ایران
[۳] کلینیک ارس، بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران
[۴] مرکز تحقیقات سرطان های دستگاه گوارش، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران

چکیده

زمینه و هدف :
هلیکوباکترپیلوری به عنوان عامل اصلی بیماری‌های معده‌ای- روده‌ای مثل گاستریت آتروفی مزمن، زخم معده و زخم دوازدهه می‌باشد. ارتباط نزدیکی بین فاکتورهای اختصاصی این باکتری و بیماری‌های معده‌ای-روده‌ای وجود دارد. هدف از مطالعه‌ی حاضر توصیف نقش ژن‌های ناحیه‌ی متغیر- plasticity region (jhp0947, jhp0940, jhp0945) و ژن‌های شناخته شده‌ی جزیره بیماری‌زای cagA - cagPAI - (cagE, cagA) در ارتباط با زخم معده و زخم دوازدهه می باشد.

روش بررسی :
در کل ۱۷۳ سویه‌ی هلیکوباکترپیلوری از ۱۱۴ بیمار مبتلا به گاستریت غیر آتروفی، ۳۰ بیمار مبتلا به زخم دوازدهه و ۲۹ بیمار مبتلا به زخم معده بدست آمد و تعیین ژنوتیپ شد. داده‌ها جمع‌آوری شد و با برنامه‌ی SPSS نسخه‌ی ۱۹ آنالیز شد.

یافته ها :
بیشترین فراوانی مربوط به ژن cagE (۶۹/۴٪) و کمترین فراوانی نیز مربوط به ژن jhp0945 (۱۱/۰٪) بود. در آنالیز رگرسیون لجستیک ساده زمانیکه GU بعنوان متغیر وابسته لحاظ شد، هیچ ژنوتیپی با خطر بروز بیماری GU مرتبط نشد (P > ۰/۰۵). اما آنالیزهای آماری نشان داد که ژنوتیپ‌های $cagA^+$ (OR = ۳/۱۴۳ CI ٪۹۵ ۱/۱۲۰-۸/۸۱۷) و jhp0940 / $cagA^+$(OR = ۷/۲۵۰ CI ٪۹۵ ۱/۴۹۳-۳۵/۱۹۹) بطور معنی‌داری خطر DU را افزایش می‌دهند.

نتیجه گیری :
با توجه به فراوانی بالای ژن cagE، این ژن می‌تواند به عنوان مارکر مناسبی برای تعیین حضور cagPAI در سویه‌های ایرانی باشد. حضور ژن cagA و ژنوتیپ jhp0940 / $cagA^+$ نیز بطور بالقوه می‌توانند بعنوان پیش‌گویی کننده‌ی قوی بروز DU در ایران مطرح باشند.

کلید واژه: هلیکوباکترپیلوری ، ژن‌های ناحیه‌ی متغیر، cagPAI زخم معده، زخم دوازدهه، ایران

گوارش/ دوره ۲۱، شماره۳/ پاییز ۱۳۹۵/۱۸۴-۱۷۶

***نویسنده مسئول:** سعید لطیفی نوید
اردبیل، دانشگاه محقق اردبیلی، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی، گروه بیولوژی سلولی و مولکولی، کد پستی: ۱۱۳۶۷-۵۶۱۹۹، صندوق پستی: ۱۷۹
تلفن : ۳۳۵۱۴۷۰۱ - ۰۴۵
پست الکترونیک : slatifin@yahoo.com

تاریخ دریافت : ۹۵/۲/۱۸
تاریخ اصلاح نهایی : ۹۵/۵/۲
تاریخ پذیرش : ۹۵/۵/۳

زمینه و هدف:

هلیکوباکترپیلوری نوعی باکتری گرم منفی است که به‌طور انتخابی در اپی تلیوم معده ساکن شده و مهم‌ترین ویژگی آن پایداری طولانی مدت (چندین دهه) در محیط اسیدی معده می‌باشد. (۱و۲) عفونت هلیکوباکترپیلوری انتشار جهانی داشته، به طوری که بیش از نیمی از مردم جهان آلوده به این باکتری می‌باشند و محدوده‌ی فراوانی آن از ۲٪ در کشورهای توسعه یافته تا بیش از ۹۰٪ در نواحی در حال توسعه را شامل می شود. (۲) در ایران نیز عفونت هلیکوباکترپیلوری بسیار شایع بوده (۳) و بیشتر از ۹۰٪ ایرانی‌ها آلوده به این باکتری می‌باشند.(۴) مطالعات نشان داده است که در بین افراد آلوده تقریباً ۱۰٪ PU (زخم گوارشی)، ۱ تا ۳٪ آدنوکارسینومای معده و کمتر از ۰/۱٪ لنفوم بافت لنفوئیدی وابسته به موکوس را نشان می‌دهند.(۵) در گزارش‌های اولیه‌ی

ارائه شده از تمام نقاط دنیا در دهه‌ی اول پس از کشف این باکتری، چیزی در حدود ۹۵٪ زخم‌های دوازدهه و ۸۵٪ زخم‌های معده در حضور هلیکوباکترپیلوری اتفاق افتاده بودند.(۶, ۷) احتمال بروز زخم‌های گوارشی در افراد آلوده با این باکتری، ۳ تا ۱۰ برابر بیشتر از افراد غیرآلوده می‌باشد.(۶, ۸) فراوانی وقوع این بیماری‌ها و شدت آن‌ها تحت تاثیر فاکتورهای میزبانی، باکتریایی و محیطی می‌باشد.(۶)

cagPAI (جزیره بیماری‌زای cag) که کدکننده‌ی سیستم ترشحی نوع IV است، شناخته شده‌ترین فاکتور بیماری‌زای این باکتری است که حاوی ژن‌های اختصاصی سویه می‌باشد، اگرچه اکثر ژن‌های اختصاصی سویه خارج از جزیره‌ی بیماری‌زا، در ناحیه‌ی متغیر واقع شده‌اند.(۹) تنوع ژنوتیپی سویه‌های هلیکوباکترپیلوری به علت تفاوت در محتوای ژنی ناحیه‌ی متغیر، می‌تواند یکی از علل اصلی تفاوت در شدت بیماری‌زایی سویه‌های مختلف هلیکوباکترپیلوری باشد.(۱۱-۹) سویه های حاوی cagPAI در مقایسه با سویه های فاقد این جزیره‌ی بیماری‌زا، به طور معنی‌داری با افزایش احتمال ابتلا به بیماری‌های زخم گوارشی و سرطان معده ارتباط دارند.(۱۲) به‌طور متوسط حدود ۵۰ تا ۶۰٪ از سویه های غربی حامل cagPAI هستند در حالی که این جزیره‌ی بیماری‌زا در تمام سویه‌های آسیایی حضور دارد.(۱۳) cagPAI حاوی ژن cagA می‌باشد که پروتئین ۱۴۵-۱۲۰کیلودالتونی را کد می‌کند (۱۲, ۱۴) که اولین سرطان‌زای باکتریایی کشف شده در ارتباط با سرطان انسانی است (۱۲) و یکی از شناخته شده‌ترین فاکتورهای بیماری‌زای هلیکوباکترپیلوری می‌باشد.(۱۵) با این وجود برخی مطالعات هیچ ارتباط معنی داری بین حضور ژن cagA و بیماری‌های گواشی نشان نداند. (۱۶, ۱۷) هم چنین رابطه ی معنی داری بین cagA و زخم دوازدهه یافت نشد. (۱۶) cagPAI همچنین دارای ژنcagE می‌باشد این ژن cagE در نیمه‌ی راست cagPAI واقع شده است. (۱۸, ۱۹) مطالعه‌های زیادی، ژن cagE را در مقایسه با سایر ژن‌ها، مارکر دقیق‌تری برای تعیین حضور کامل cagPAI، معرفی کرده‌اند. (۱۸, ۲۰) ارتباط cagE با بیماری‌های گوارشی مثل؛ گاستریت، زخم معده و زخم دوازدهه (۲۱) در مقایسه با ارتباط این ژن با سرطان معده، زیاد می‌باشد. (۲۴-۲۲) ارتباط معنی دار بین cagE و بیماری زخم دوازدهه در کودکان وجود دارد و علت آن می تواند افزایش تولید اینترلوکین-۸ از سلول های اپی تلیال معده، پس از آلودگی با سویه های cagE+ باشد.(۲۵)

در سال‌های اخیر، ارتباط ژن‌های ناحیه متغیر - plasticity region- از جمله jhp0940 , jhp0945 , jhp0947 و jhp0949 در سویه‌های هلیکوباکترپیلوری غربی با بیماری‌های گوارشی و افزایش اختلال در تولید سیتوکین‌هایی مانند؛ اینترلوکین-۸ ، اینترلوکین – ۱۲ و فاکتور نکروز تومور (TNF-α)، مشاهده شده است.(۲, ۹, ۲۸-۲۶) در یک مطالعه اخیر ارتباط معنی دار jhp0940 و jhp0947 با کارسینوم معده مشخص شد. همچنین jhp0947 به تنهایی با زخم دوازدهه و jhp0940 به تنهایی با زخم معده مرتبط شد.(۲۹) اخیرا مطالعه ای بر روی ۲۹۶ سویه ی غربی و ۲۱۷ سویه ی آسیای شرقی انجام شد که تفاوت معنی-دار در فراوانی jhp0945, jhp0947 و jhp0949 بین سویه های غربی و آسیای شرقی نشان داد. در سویه های غربی حضور jhp0945 ارتباط معنی داری با زخم معده، زخم دوازدهه و سرطان معده داشت. سویه های $jhp0940^{+}$ غربی، ارتباط معنی داری با فقدان زخم معده یا زخم دوازدهه داشتند. (۹) در ایران بسیاری از این فاکتورها از جمله ژن‌های ناحیه‌ی متغیر به خوبی بررسی نشده‌اند. مطالعه و شناسایی این فاکتورها و تعیین ارتباط آن‌ها با یک‌دیگر و نیز ارتباط آن‌ها با تکوین بیماری‌های گوارشی زخم معده و زخم دوازدهه می‌تواند نقش مهمی در زمینه‌سازی برای طراحی استراتژی‌های درمانی موفق و کاهش میزان وقوع چنین بیماری‌هایی در کشور داشته باشد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی ارتباط بین ژن های jhp0940, jhp0945 و jhp0947 ناحیه‌ی متغیر و ژن‌های cagA/cagE جزیره‌ی بیماری‌زایcag هلیکوباکترپیلوری و همچنین بررسی ارتباط حضور همزمان ژن‌های ناحیه‌ی متغیر و جزیره‌ی بیماری‌زا با افزایش احتمال بروز بیماری‌های زخم معده و زخم دوازدهه در سویه‌های ایرانی هلیکوباکترپیلوری می‌باشد.

روش بررسی :

کشت هلیکوباکترپیلوری و شناسایی آن

در این مطالعه ۴۵۸ بیمار مبتلا به عارضه گوارشی که از سال ۱۳۹۲-۱۳۸۷ به مراکز آندوسکوپی در استان‌های مختلف ایران مراجعه کرده بودند، شرکت کردند. از هر بیمار دو نمونه بیوپسی از ناحیه آنتروم توسط آندوسکوپیست اخذ گردید و برای یکی از نمونه‌ها تست اوره‌آز سریع در محل انجام شد. یافته‌های آندوسکوپی و پاتولوژی در مورد هر بیمار ثبت شده و سپس بیماران در سه گروه گاستریت غیر آتروفی (NAG)، زخم دوازدهه (DU) و زخم معده (GU) طبقه‌بندی شدند. بیوپسی‌ها روی محیط کشت بروسلا آگار (مرک، آلمان) انتخابی حاوی چهار آنتی‌بیوتیک شامل ونکومایسین (۱۰ mg/L)، تریمتوپریم (۵ mg/L)، پلی‌میکسین (۲۵۰۰ U/L) و آمفوتریسین (۴ mg/L) و غنی شده با ۵ تا ۷ درصد خون دفیبرینه انسان در شرایط کم هوازی حاوی ۵٪ CO^2 و رطوبت بالای ۹۸٪ به مدت ۵ الی ۷ روز در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد کشت شد.

استخراج DNA از باکتری و تعیین ژنوتیپ

در کل ۱۷۳ سویه هلیکوباکترپیلوری از کشت بیوپسی بدست آمد که مربوط به ۱۱۴ بیمار NAG، ۳۰ بیمار DU و ۲۹ بیمار GU بودند. استخراج DNA از باکتری با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت Cinagen, Iran طبق دستورالعمل کارخانه تولید کننده انجام شد. تعیین ژنوتیپ وضعیت ژن های jhp0940, jhp0945 و jhp0947 ناحیه‌ی متغیر و ژن‌هایcagA و cagE جزیره‌ی بیماری‌زایcag در حجم ۳۰ µl با استفاده از پرایمرهای فهرست شده در جدول ۱ با دستگاه PCR انجام شد. شرایط تکثیر توسط PCR به صورت زیر بود: ۵ دقیقه واسرشتگی اولیه در دمای ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۳۵ چرخه هر کدام شامل ۴۰ ثانیه در ۹۶ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۴۰ ثانیه دمای اتصال پرایمر که برای هر پرایمر اختصاصی بود (جدول ۱)، ۴۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای گسترش) و گرمخانه‌گذاری نهایی در دمای

جدول ۱: پرایمرهای استفاده شده برای تعیین هویت کلنی‌های هلیکوباکترپیلوری و PCR

Genes	Primers	Sequences (5′→3′)	Size of PCR products (bp)	Annealing temperature (°C)
16 S rDNA				
	HP۱	GCA ATC AGC GTC AGT AAT GTT C	519	56
	HP۲	GCT AAG AGA TCA GCC TAT GTC C		
cagA				
	CAG۱	ACC CTAGTC GGT AAT GGG TTA	591-856	50
	CAG2	GTA ATT GTC TAG TTT CGC		
cagE		GTA ATT GTC TAG TTT CGC		
	Forward	TTGAAAACTTCAAGGATAGGATAGAGC	508	54
	Reverse	GCCTAGCGTAATATCACCATTACCC		
jhp0940				
	Forward	GAAATGTCCTATACCAATGG	381	48
	Reverse	CCTAAGTAGTGCATCAAGG		
jhp0945				
	Forward	ACTCCAGCCAGTATTGTAAA	380-400	48
	Reverse	TTCTTGCGAGTTAGGATTGG		
jhp0947				
	Forward	GATAATCCTACGCAGAACG	368	48
	Reverse	GCTAAAGTCATTTGGCTGTC		

۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱٪ بار گذاری شدند جهت مشاهده باندهای DNA، پس از الکتروفورز ژل آگارز ابتدا با محلول اتیدیوم بروماید رنگ آمیزی شد و سپس به دستگاه ژل داک انتقال یافت.

آنالیزهای آماری

داده ها جمع‌آوری شد و در برنامه SPSS نسخه ۱۹ آنالیز شد. برای بررسی ارتباط فراوانی ژنی با خطر بروز بیماری‌های زخم معده و زخم دوازدهه از آنالیز کای-اسکوئر (χ^2) و آزمون دقیق فیشر استفاده شد. $p < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. رگرسیون لجستیک ساده به روش Enter نیز برای بررسی تاثیر هر فاکتور در خطر بروز بیماری‌های زخم معده و زخم دوازدهه به کار برده شد. $p <۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد. بیماران NAG در همه آنالیزهای مقایسه‌ای به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند.

یافته ها :

در این مطالعه فراوانی ژن‌ها درهمه بیماران صرف‌نظر از نوع بیماری و همچنین فراوانی آن‌ها در بیماران مبتلا به زخم معده و زخم دوازدهه نسبت به گروه کنترل (گاستریت) مقایسه شد (جدول۲). بیشترین فراوانی مربوط به ژن cagE ۷۳/۷٪ بود. cagA به عنوان دومین ژن متداول با فراوانی ۶۱/۴٪ محاسبه شد. فراوانی ژن‌های jhp0947 و jhp0940 به ترتیب، ۴۷/۴٪ و ۳۶٪ به دست آمد و کم‌ترین فراوانی نیز مربوط به ژن jhp0940 با فراوانی ۱۴٪ بود. فراوانی‌های مربوط به حالت‌های مختلف حضور هم‌زمان ژن‌ها نیز محاسبه شده و در جدول ۲ نشان داده شده است. در این مطالعه ارتباط بین ژنوتیپ‌ها و بروز بیماری‌های گوارشی به وسیله‌ی آزمون Chi-Square و Fisher`s exact test و رگرسیون لجستیک ساده بررسی شد و OR و CI ۹۵٪ برای تمام ژنوتیپ‌ها محاسبه گردید. علاوه بر فاکتورهای باکتریایی، فاکتورهای میزبانی شامل سن و جنس نیز مورد بررسی قرار گرفت. از بین ۱۷۳ بیمار، ۹۶ (۵۵/۵٪) مورد مرد و ۷۷ (۴۴/۵٪) بیمار نیز زن بودند. ۴۸ (۲۷/۷٪) بیمار دارای سن بالای ۵۵ سال و ۱۲۵ (۷۲/۳٪) بیمار نیز دارای سن کمتر از ۵۵ سال بودند. آنالیزهای آماری ارتباط معنی داری بین جنس و بیماری زخم دوازدهه نشان داد ($p <۰/۰۵$ و OR برابر با ۵/۳۰۶). همچنین ارتباط معنی‌داری بین سن و جنس با بیماران زخم معده مشاهده گردید ($p <۰/۰۵$ و OR به ترتیب برابر با ۲/۳۸۹ و ۵/۰۸۵ بود). براساس نتایج حاصل از نتایج آنالیز کای-اسکوئر (χ^2) و آزمون دقیق فیشر، فراوانی ژنوتیپ‌های $cagA^+$ و $jhp0940^+$ / $cagA^+$ در بیماران زخم دوازدهه (به ترتیب برابر با ۸۳/۳٪ و ۸۶/۷٪) نسبت به بیماران NAG (به ترتیب برابر با ۶۱/۴٪ و۴۷/۳٪) بالاتر بود ($p <۰/۰۵$). آنالیز رگرسیون لجستیک ساده نیز زمانی که زخم دوازدهه بعنوان متغیر وابسته لحاظ شد، بین این ژنوتیپ‌ها وخطر بروز زخم دوازدهه ارتباط معنی‌دار نشان داد (به ترتیب ۱/۱۲۰-۸/۸۱۷ ،CI confidence interval) ۹۵٪ =۳/۱۴۳؛ OR =۰/۰۳۰؛ p و ۱/۴۹۳-۳۵/۱۹۹ ،CI ۹۵٪ =۷/۲۵۰؛ OR =۰/۰۱۴؛ p). حال آنکه زمانیکه زخم معده در آنالیز رگرسیون لجستیک ساده بعنوان متغیر وابسته لحاظ شد هیچ ژنوتیپی ارتباط مستقلی با خطر زخم معده نشان نداد (جدول ۳).

جدول۲: فراوانی ژنوتیپ ها در بیماران با اختلالات گوارشی

فاکتورهای بیماری‌زا	نوع بیماری تعداد (٪)			
	گاستریت غیر آتروفی (NAG)	زخم معده (GU)	زخم دوازدهه (DU)	کل
$cagA^+$	(۶۱/۴)۷۰/۱۱۴	(۷۵/۹)۲۲/۲۹	(۸۳/۳)۲۵/۳۰	(۶۷/۶)۱۱۷/۱۷۳
$cagE^+$	(۷۳/۷)۸۴/۱۱۴	(۵۵/۲)۱۶/۲۹	(۶۶/۷)۲۰/۳۰	(۶۹/۴)۱۲۰/۱۷۳
$jhp0940^+$	(۳۶)۴۱/۱۱۴	(۴۴/۸)۱۳/۲۹	(۵۰)۱۵/۳۰	(۳۹/۹)۶۹/۱۷۳
$jhp0945^+$	(۱۴)۱۶/۱۱۴	(۳/۴)۱/۲۹	(۶/۷)۲/۳۰	(۱۱)۱۹/۱۷۳
$jhp0947^+$	(۴۷/۴)۵۴/۱۱۴	(۴۱/۴)۱۲/۲۹	(۴۳/۳)۱۳/۳۰	(۴۵/۷)۷۹/۱۷۳
$cagA^+/cagE^+$	(۷۴/۷)۶۲/۸۳	(۶۸/۲)۱۵/۲۲	(۸۲/۶)۱۹/۲۳	(۷۵)۹۶/۱۲۸
$cagA^+/ jhp0940^+$	(۴۷/۳)۲۶/۵۵	(۷۱/۴)۱۰/۱۴	(۸۶/۷)۱۳/۱۵	(۵۸/۳)۴۹/۸۴
$cagA^+/ jhp0945^+$	(۱۹/۶)۹/۴۶	(۱۲/۵)۱/۸	(۲۸/۶)۲/۷	(۱۹/۷)۱۲/۶۱
$cagA^+/ jhp0947^+$	(۵۸/۹)۳۳/۵۶	(۶۹/۲)۹/۱۳	(۷۶/۹)۱۰/۱۳	(۶۳/۴)۵۲/۸۲
$jhp0940^+/ jhp0945^+$	(۹/۷)۷/۷۲	(۵/۹)۱/۱۷	(۱۱/۸)۲/۱۷	(۹/۴)۱۰/۱۰۶
$jhp0940^+/ jhp0947^+$	(۳۳/۳)۱۸/۵۴	(۲۵)۲/۸	(۴۱/۲)۷/۱۷	(۳۴/۲)۲۷/۷۹
$jhp0940^+/ cagE^+$	(۶۱/۵)۳۲/۵۲	(۵۰)۹/۱۸	(۶۱/۹)۱۳/۲۱	(۵۹/۳)۵۴/۹۱
$jhp0945^+/ jhp0947^+$	(۱۴/۵)۹/۶۲	(۰)۰/۱۶	(۱۰)۲/۲۰	(۱۱/۲)۱۱/۹۸
$jhp0945^+/ cagE^+$	(۳۱/۳)۱۰/۳۲	(۰)۰/۱۲	(۱۶/۷)۲/۱۲	(۲۱/۴)۱۲/۵۶
$jhp0947^+/ cagE^+$	(۷۱/۹)۴۱/۵۷	(۴۶/۲)۶/۱۳	(۶۰)۹/۱۵	(۶۵/۹)۵۶/۸۵
$cagA^+/ jhp0940^+/jhp0945^+$	(۱۳/۳)۴/۳۰	(۲۰)۱/۵	(۵۰)۲/۴	(۱۷/۹)۷/۳۹
$cagA^+/ jhp0940^+/jhp0947^+$	(۴۶/۲)۱۲/۲۶	(۵۰)۲/۴	(۸۵/۷)۶/۷	(۵۴/۱)۲۰/۳۷
$cagA^+/ jhp0940^+/cagE^+$	(۶۵/۸)۲۵/۳۸	(۶۶/۷)۸/۱۲	(۸۵/۷)۱۲/۱۴	(۷۰/۳)۴۵/۶۴
$cagA^+/ jhp0945^+/jhp0947^+$	(۲۰/۸)۵/۲۴	(۰)۰/۵	(۴۰)۲/۵	(۲۰/۶)۷/۳۴
$cagA^+/ jhp0945^+/cagE^+$	(۳۰/۴)۷/۲۳	(۰)۰/۶	(۳۳/۳)۲/۶	(۲۵/۷)۹/۳۵
$cagA^+/ jhp0947^+/cagE^+$	(۶۸/۴)۲۶/۳۸	(۶۶/۷)۶/۹	(۸۰)۸/۱۰	(۷۰/۲)۴۰/۵۷
$jhp0940^+/ jhp0945^+/jhp0947^+$	(۲/۷)۱/۳۷	(۰)۰/۶	(۱۶/۷)۲/۱۲	(۵/۵)۳/۵۵
$jhp0940^+/ jhp0945^+/cagE^+$	(۱۵)۳/۲۰	(۰)۰/۹	(۰)۰/۸	(۸/۱)۳/۳۷
$jhp0945^+/ jhp0947^+/cagE^+$	(۳۱/۶)۶/۱۹	(۰)۰/۶	(۲۵)۲/۸	(۲۴/۲)۸/۳۳

بحث :

در این مطالعه، آنالیزهای ژن cagA در بین سویه‌های مورد بررسی، صرف‌نظر از نوع بیماری، فراوانی ۶۷/۶٪ را نشان داد که تقریباً مشابه مقدار فراوانی گزارش شده در مطالعه‌های قبلی از ایران می‌باشد. در نتیجه اکثر سویه‌های ایرانی دارای ژن cagA می‌باشند. (۳۳-۳۰) براساس این نتایج، توزیع سویه‌های cagA مثبت در ایران مشابه کشورهای غربی مانند نیوزیلند (۶۷٪) و کمتر از برخی نواحی جغرافیایی دیگر مانند اتیوپی (۷۹٪)، برزیل (۹۴٪)، کره (۹۷٪) و ژاپن (۹۵٪) می‌باشد. (۳۴, ۳۵) مطالعات زیادی ارتباط بین این ژن و خطر زخم معده یا زخم دوازدهه را تایید کرده‌اند. (۳۹-۳۶) اما مطالعاتی از تگزاز (هوستون)، کلمبیا (بوگوتو)، ژاپن (کیوتو)، شرق چین و کره جنوبی (سئول) بین ژنوتیپ cagA و خطر این بیماری‌ها نشان نداد. در این مطالعه فراوانی سویه‌های $cagA^+$ در بین بیماران مبتلا به زخم معده و زخم دوازدهه ۷۵/۹٪ و ۸۳/۳٪ بود که بیشتر از فراوانی آن در بین بیماران NAG (۶۱/۴٪) می‌باشد. با این حال، نتایج آنالیز رگرسیون لجستیک ساده نشان داد، این ژن تنها با زخم دوازدهه مرتبط است (۱/۱۲۰-۸/۸۱۷، ۹۵٪ CI ؛ OR =۳/۱۴۳ ؛ p =۰/۰۳۰). این نتیجه برخلاف نتایج حاصل از مطالعه صفایی و همکاران در اصفهان (۴۰) و صالحی و همکاران در رشت (۴۱) بود. همچنین مطالعه‌ای در کشورهای آسیای شرقی نیز هیچ ارتباطی بین زخم معده و زخم دوازدهه و حضور ژن cagA نشان نداد، در حالی که در کشورهای غربی سویه‌های $cagA^+$ با زخم معده (۴/۰۲-۵۵/۳۳،

جدول ۳: نتایج آنالیز رگرسیون لجستیک تک متغیره (ساده)

فاکتورهای بیماری‌زا	زخم معده (تعداد= ۲۹)			زخم دوازدهه (تعداد= ۲۸)		
	P value	OR	٪۹۵ CI	P value	OR	٪۹۵ CI
$cagA^+$	۰/۱۵۱	۱/۹۷	۰/۷۷۹-۵/۰۰۹	۰/۰۳۰	۳/۱۴۳	۱/۱۲۰-۸/۸۱۷
$cagE^+$	۰/۰۵۶	۰/۴۴۰	۰/۱۸۹-۱/۰۲۰	۰/۴۴۶	۰/۷۱۴	۰/۳۰۰-۱/۶۹۸
$jhp0940^+$	۰/۳۸۱	۱/۴۴۷	۰/۶۳۳-۳/۳۰۴	۰/۱۶۴	۱/۷۸۰	۰/۷۹۱-۴/۰۰۸
$jhp0945^+$	۰/۱۴۹	۰/۲۱۹	۰/۰۲۸-۱/۷۲۲	۰/۲۸۹	۰/۴۳۸	۰/۰۹۵-۲/۰۱۸
$jhp0947^+$	۰/۵۶۴	۰/۷۸۴	۰/۳۴۴-۱/۷۹۰	۰/۶۹۴	۰/۸۵۰	۰/۳۷۸-۱/۹۱۱
$cagA^+/cagE^+$	۰/۵۴۰	۰/۷۲۶	۰/۲۶۱-۲/۰۲۲	۰/۴۳۲	۱/۶۰۹	۰/۴۹۱-۵/۲۶۹
$cagA^+/jhp0940^+$	۰/۱۱۵	۲/۷۸۸	۰/۷۷۹-۹/۹۷۶	۰/۰۱۴	۷/۲۵۰	۱/۴۹۳-۳۵/۱۹۹
$cagA^+/jhp0945^+$	۰/۶۳۸	۰/۵۸۷	۰/۰۶۴-۵/۳۹۸	۰/۵۸۷	۱/۶۴۴	۰/۲۷۳-۹/۸۹۲
$cagA^+/jhp0947^+$	۰/۴۹۵	۱/۵۶۸	۰/۴۳۱-۵/۷۱۱	۰/۲۳۷	۲/۳۲۳	۰/۵۷۵-۹/۳۸۱
$jhp0940^+/jhp0945^+$	۰/۶۲۲	۰/۵۸۰	۰/۰۶۷-۵/۰۶۰	۰/۸۰۲	۱/۲۳۸	۰/۲۳۳-۶/۵۶۹
$jhp0940^+/jhp0947^+$	۰/۶۴۰	۰/۶۶۷	۰/۱۲۲-۳/۶۴۰	۰/۵۵۶	۱/۴۰۰	۰/۴۵۷-۴/۲۸۸
$jhp0940^+/cagE^+$	۰/۳۹۴	۰/۶۲۵	۰/۲۱۲-۱/۸۴۰	۰/۹۷۷	۱/۰۱۶	۰/۳۵۶-۲/۸۸۲
$jhp0945^+/jhp0947^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۶۰۸	۰/۶۵۴	۰/۱۲۹-۳/۳۱۶
$jhp0945^+/cagE^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۳۴۲	۰/۴۴۰	۰/۰۸۱-۲/۳۹۰
$jhp0947^+/cagE^+$	۰/۰۸۲	۰/۳۳۴	۰/۰۹۷-۱/۱۴۹	۰/۳۷۵	۰/۵۸۵	۰/۱۷۹-۱/۹۱۲
$cagA^+/jhp0940^+/jhp0945^+$	۰/۶۹۵	۱/۶۲۵	۰/۱۴۶-۱۸/۴۷۷	۰/۰۹۹	۶/۵۰۰	۰/۷۰۳-۶۰/۱۳۳
$cagA^+/jhp0940^+/jhp0947^+$	۰/۸۸۶	۱/۱۶۷	۰/۱۴۲-۹/۵۸۶	۰/۰۹۰	۷/۰۰۰	۰/۷۳۶-۶۶/۶۱۷
$cagA^+/jhp0940^+/cagE^+$	۰/۹۵۵	۱/۰۴۰	۰/۲۶۳-۴/۱۱۲	۰/۱۷۴	۳/۱۲۰	۰/۶۰۵/۱۶/۰۸۶
$cagA^+/jhp0945^+/jhp0947^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۳۷۲	۲/۵۳۳	۰/۳۲۹-۱۹/۵۳۱
$cagA^+/jhp0945^+/cagE^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۸۹۱	۱/۱۴۳	۰/۱۶۸-۷/۷۶۲
$cagA^+/jhp0947^+/cagE^+$	۰/۹۱۹	۰/۹۲۳	۰/۱۹۷-۴/۳۳۰	۰/۴۷۸	۱/۸۴۶	۰/۳۳۹-۱۰/۰۴۳
$jhp0940^+/jhp0945^+/jhp0947^+$	۱/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۱۲۲	۷/۲۰۰	۰/۵۹۱-۸۷/۷۶۷
$jhp0940^+/jhp0945^+/cagE^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰
$jhp0945^+/jhp0947^+/cagE^+$	۰/۹۹۹	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۷۳۳	۰/۷۲۲	۰/۱۱۱-۴/۶۸۶

٪۹۵ CI، ۲/۵۴-۱۵/۱۶)و دوازدهه (p <۰/۰۱؛ OR = ۱۴/۹۱؛ ٪۹۵ CI

p <۰/۰۱؛OR = ۶/۲۰؛ ارتباط قوی نشان داد. (۳۴) در بلژیک نیز cagA با زخم معده مرتبط شد (infinity- ۰/۷۶، ٪۹۵ CI infinity؛ OR = ؛p <۰/۰۵) و هیچ ارتباطی با زخم دوازدهه نشان نداد. (۴۲) مطالعه یادگار و همکاران در سال ۲۰۱۴ بر روی ۳۶ بیمار مبتلا به NUD (non_ulcer dyspepsia) ، ۸ بیمار مبتلا به زخم گوارشی، ۱۲ بیمار مبتلا به ضایعات گوارشی و ۵ بیمار مبتلا به کارسینوم معده، ارتباط معنی داری بین حضور ژن cagA و cagL نشان داد (p>۰/۰۵)، اما آن‌ها هیچ ارتباط معنی داری بین ژن cagA و سایر ژن‌های هلیکوباکترپیلوری (ژن‌های babA۲، iceA، vacA، cagL و sabA) با بیماری‌های گوارشی مرتبط با عفونت هلیکوباکترپیلوری مشاهده نکردند. (۴۳)

در مطالعه‌ی حاضر، ۱۲۰ سویه از ۱۷۳ سویه (۶۹/۴٪)، حامل ژن cagE بودند. فراوانی ژن cagE در سویه‌های ایرانی بیشتر از ترکیه (۵۹/۳٪)، مالزی (۵۹٪) بوده و کمتر از برزیل (۸۹/۳٪) و هند (۸۵/۴٪) و تقریباً مشابه انگلیس (۶۲٪) می‌باشد. (۲۴, ۴۴, ۴۵) با مقایسه‌ی فراوانی سویه‌های $cagA^+$ و $cagE^+$، پیشنهاد می‌شود که در سویه‌های ایرانی، cagE نشانگر مناسب‌تری برای جزیره‌ی بیماری‌زا باشد. مطالعات قبلی در جمعیت ژاپنی (۳۵) و برزیل (۴۶) و سویه‌های فرانسوی (۴۷) نیز نشان داده‌اند که فراوانی ژن cagE بسیار بالاتر از ژن cagA بوده و

ژن cagE نشانگر مناسب‌تری برای تعیین حضور cagPAI است. (۲۴) این یافته همچنین با مشاهدات ایکینو و همکاران که ژن cagE را به عنوان دقیق‌ترین نشانگر برای تعیین حضور cagPAIمعرفی کرده بودند، مطابقت داشت. (۲۰) دی و همکاران در سال ۲۰۰۰، ارتباط بین $cagE^+$ و بیماری زخم دوازدهه را در کودکان برزیلی بررسی کردند. براساس نتایج بررسی آن‌ها، ۹۲٪ از کودکان مبتلا به زخم دوازدهه آلوده به هلیکوباکترپیلوری $cagE^+$ بودند در حالی که فقط ۳۱٪ سویه‌های جدا شده از کودکان مبتلا به گاستریت، حامل این ژن بودند. (۲۵) در مطالعه آن‌ها فراوانی ژن cagE در گروه‌های مختلف مبتلا به اختلالات گوارشی، فراوانی مشابهی را نشان داد. آنالیزهای آماری هیچ تفاوت معنی‌داری بین فراوانی این ژن و ترکیب آن با سایر ژن‌ها در سویه‌های بدست آمده از بیماران زخم‌های معده و دوازدهه نسبت به بیماران گاستریتی نشان نداد ($p > ۰/۰۵$). بقایی و همکاران، ۲۳۱ بیمار گوارشی شامل ۱۸۲ بیمار گاستریت، ۴۱ بیمار زخم گوارشی و ۸ بیمار سرطانی، را مطالعه کردند. از این تعداد، ۱۵۴ (۶۶/۷٪) مورد ژن cagA، ۹۰ (۳۹٪) مورد ژن cagE و ۷۰ (۳۰/۳٪) مورد ژن cagT را داشتند. ارتباط معنی داری بین این ژن‌ها بصورت منفرد و یا بصورت ترکیبی، با تظاهرات بالینی از جمله گاستریت، زخم گوارشی و سرطان معده به دست نیامد. (۴۸)

در سال‌های اخیر، ژن‌های اختصاصی سویه‌ای ناحیه‌ی متغیر، مورد توجه روزافزون محققین قرارگرفته است و ارتباط ژن‌های jhp0947 , jhp0940 , jhp0945 وjhp0949 با افزایش اختلال در سیتوکین‌ها، ایجاد اختلال در مسیر پیام‌رسان Nf-kB و بروز بیماری‌های گوارشی، گزارش شده است. (۹, ۲۶, ۲۷, ۴۹, ۵۰)

فراوانی ژن jhp0940 در سویه‌های کاستاریکا، ژاپن و پرو به ترتیب ۳۰٪، ۴۰٪ و ۶۰٪ می‌باشد.(۲۷) پایین‌ترین فراوانی jhp0940 در اسپانیا (۵٪) مشاهده شده است. در مطالعه‌ی ما فراوانی این ژن برای سویه‌های ایرانی، ۳۹/۹٪ بود که مشابه فراوانی آن در ژاپن می‌باشد. در این مطالعه هیچ ارتباط معنی‌داری بین حضور مستقل jhp0940 و بیماری‌های زخم گوارشی مشاهده نشد. اگرچه مطالعه‌های دیگری نیز بودند که ارتباط معنی‌داری بین حضور jhp0940 و پیامدهای بالینی نشان ندادند (۲) و یا نشان‌دهنده‌ی ارتباط معکوس این ژن با پیامدهای بالینی بودند. برای مثال در یک مطالعه ، ارتباط معکوس معنی‌دار بین حضور jhp0940 و زخم معده یا زخم دوازدهه در سویه‌های غربی نشان داد. (۹) در مطالعه حاضر، اگرچه ژن jhp0940 بصورت مستقل ارتباطی با زخم معده و زخم دوازدهه نشان نداد ولی حضور این ژن در کنار ژن cagA، با زخم دوازدهه ارتباط معنی‌دار نشان داد.

مطالعات انجام شده در مورد jhp0945 بسیار محدود است. در این مطالعه فراوانی حضور ژن jhp0945 در بین بیماران گاستریت غیر آتروفی (۱۴٪)، بیماران مبتلا به زخم معده (۳/۴٪) و در بین بیماران مبتلا به زخم دوازدهه نیز (۶/۷٪) بود. آنالیزها هیچ ارتباط معنی‌داری بین jhp0945 و بیماری‌های گوارشی نشان نداد که بر خلاف نتیجه‌ی به دست آمده از مطالعه‌ی سوگیموتو و همکاران (۲۰۱۱) بود، زیرا آن‌ها ارتباط معنی‌دار قوی بین این ژن و سرطان معده و زخم گوارشی را در سویه‌های غربی گزارش کردند. آن‌ها ارتباط قوی بین این ژن و بیماری‌های زخم معده و زخم دوازدهه در سویه‌های غربی و زخم معده در سویه‌های آسیای شرقی مشاهده کرده بودند.(۹)

در مطالعه حاضر، فراوانی ژن jhp0947 در گروه‌های مختلف مبتلا به اختلالات گوارشی، فراوانی یکسان و مشابهی را نشان داد. بطوریکه فراوانی این آلل در سویه‌های جدا شده از بیماران مبتلا به گاستریت غیر آتروفی، زخم معده و زخم دوازدهه به ترتیب ۴۷/۴٪، ۴۱/۴٪ و ۴۳/۳٪ بود. نتایج آنالیزهای رگرسیونی بین این ژنوتیپ و ژنوتیپ‌های ترکیبی آن با بیماری‌های گوارشی ارتباط نشان نداد. یاکوب و همکاران در سال ۲۰۱۰، ژن‌های jhp0940 , jhp0947 وjhp0986 و cagA را در سویه‌های جدا شده از بیماران گوارشی مختلف و در گروه‌های سنی متفاوت با هم مقایسه کردند. از بین بیماران ۶۲٪ jhp0940+، ۵۹٪ jhp0947+ و ۱۰٪+ jhp0986 و ۶۰٪ نیز $cagA^+$ بودند آن‌ها گزارش کردند که jhp0947 به تنهایی با زخم دوازدهه و jhp0940 به تنهایی با زخم معده مرتبط بود.(۲۹)

سوگیموتو و همکاران در سال ۲۰۱۱، حضور ۴ ژن jhp0949 , jhp0947 , jhp0945 وjhp0940 را در ۲۹۶ سویه‌ی غربی و ۲۱۷ سویه‌ی آسیای شرقی را مورد مطالعه قرار دادند وارتباط آن‌ها با پیامدهای بالینی و آسیب‌های موکوسی بررسی کردند. بر اساس نتایج این بررسی فراوانی jhp0947،jhp0945 و jhp0949 تفاوت معنی‌داری بین سویه‌های غربی و آسیای شرقی داشت. درسویه‌های غربی حضور jhp0945 ارتباط معنی‌داری با زخم معده (OR=2/27, CI=1/04-4/98)، زخم دوازدهه (OR=1/86, CI=1/03-3/34) و سرطان معده (OR=1/92, CI=1/03-3/56) داشت. سویه‌های jhp0940+ غربی، ارتباط معنی‌داری با فقدان زخم معده (OR=0/21, CI=0/05-0/94) یا زخم دوازدهه (OR=0/31, CI=0/12-0/78) داشتند.

نتیجه گیری :

ژن‌های ناحیه‌ی متغیر در حالت حضور مستقل یا همزمان، نمی‌توانند به عنوان نشانگر زیستی برای بروز بیماری‌های زخم معده یا زخم گوارشی در ایران مطرح باشند. ژن cagA بصورت مستقل و نیز همراه با jhp۰۹۴۰ به عنوان بعنوان نشانگرهای زیستی مفید برای پیشگویی خطر بروز بیماری زخم دوازدهه و نه زخم معده در این مطالعه محسوب می‌گردد. ژن cagE به عنوان مارکری برای حضور جزیره‌ی بیماری‌زای cag PAI در سویه‌های ایرانی شناخته شد.

REFERENCES

1. Peek RM, Jr., Fiske C, Wilson KT. Role of innate immunity in Helicobacter pylori-induced gastric malignancy. *Physiol Rev* 2010;90:831-58.
2. Santos A, Queiroz DM, Menard A, Marais A, Rocha GA,

Oliveira CA, et al. New pathogenicity marker found in the plasticity region of the Helicobacter pylori genome. *J Clin Microbiol* 2003;41:1651-5.
3. Malekzadeh R, Sotoudeh M, Derakhshan MH, Mikaeli J, Yazdanbod A, Merat S, et al. Prevalence of gastric precancerous lesions in Ardabil, a high incidence province for gastric adenocarcinoma in the northwest of Iran. *J Clin Pathol* 2004;57:37-42.
4. 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;7:427-33.
5. Peek RM, Jr., Crabtree JE. Helicobacter infection and gastric neoplasia. *J Pathol* 2006;208:233-48.
6. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev* 2006;19:449-90.
7. Kuipers EJ, Thijs JC, Festen HP. The prevalence of Helicobacter pylori in peptic ulcer disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1995;9 Suppl 2:59-69.
8. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and the risk for duodenal and gastric ulceration. *Ann Intern Med* 1994;120:977-81.
9. Sugimoto M, Watada M, Jung SW, Graham DY, Yamaoka Y. Role of Helicobacter pylori plasticity region genes in development of gastroduodenal diseases. *J Clin Microbiol* 2012;50:441-8.
10. Alm RA, Ling LS, Moir DT, King BL, Brown ED, Doig PC, et al. Genomic-sequence comparison of two unrelated isolates of the human gastric pathogen Helicobacter pylori. *Nature* 1999;397:176-80.
11. Alm RA, Trust TJ. Analysis of the genetic diversity of Helicobacter pylori: the tale of two genomes. *J Mol Med (Berl)* 1999;77:834-46.
12. Hatakeyama M. Anthropological and clinical implications for the structural diversity of the Helicobacter pylori CagA oncoprotein. *Cancer Sci* 2011;102:36-43.
13. Nomura A, Stemmermann GN, Chyou PH, Kato I, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. *N Engl J Med* 1991;325:1132-6.
14. Wroblewski LE, Peek RM, Jr., Wilson KT. Helicobacter pylori and gastric cancer: factors that modulate disease risk. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:713-39.
15. Matsunari O, Shiota S, Suzuki R, Watada M, Kinjo N, Murakami K, et al. Association between Helicobacter pylori virulence factors and gastroduodenal diseases in Okinawa, Japan. *J Clin Microbiol* 2012;50:876-83.
16. Siavoshi F, Malekzadeh R, Daneshmand M, Ashktorab H. Helicobacter pylori endemic and gastric disease. *Dig Dis Sci* 2005;50:2075-80.
17. Jafari F, Shokrzadeh L, Dabiri H, Baghaei K, Yamaoka Y, Zojaji H, et al. vacA genotypes of Helicobacter pylori in relation to cagA status and clinical outcomes in Iranian populations. *Jpn J Infect Dis* 2008;61:290-3.
18. Sozzi M, Tomasini ML, Vindigni C, Zanussi S, Tedeschi R, Basaglia G, et al. Heterogeneity of cag genotypes and clinical outcome of Helicobacter pylori infection. *J Lab Clin Med* 2005;146:262-70.
19. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93:14648-53.
20. Ikenoue T, Maeda S, Ogura K, Akanuma M, Mitsuno Y, Imai Y, et al. Determination of Helicobacter pylori virulence by simple gene analysis of the cag pathogenicity island. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:181-6.
21. 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;12:30-6.
22. Ali M, Khan AA, Tiwari SK, Ahmed N, Rao LV, Habibullah CM. Association between cag-pathogenicity island in Helicobacter pylori isolates from peptic ulcer, gastric carcinoma, and non-ulcer dyspepsia subjects with histological changes. *World J Gastroenterol* 2005;11:6815-22.
23. Tan HJ, Rizal AM, Rosmadi MY, Goh KL. Distribution of Helicobacter pylori cagA, cagE and vacA in different ethnic groups in Kuala Lumpur, Malaysia. *J Gastroenterol Hepatol* 2005;20:589-94.
24. Douraghi M, Mohammadi M, Shirazi M, Oghalaie A, Kashani SS, Mohagheghi M, et al. Simultaneous detection of cagA and cagE of Helicobacter pylori strains recovered from Iranian patients with different gastroduodenal diseases. *Iran J Public Health* 2009;38:98-105.
25. Day AS, Jones NL, Lynett JT, Jennings HA, Fallone CA, Beech R, et al. cagE is a virulence factor associated with Helicobacter pylori-induced duodenal ulceration in children. *J Infect Dis* 2000;181:1370-5.
26. de Jonge R, Kuipers EJ, Langeveld SC, Loffeld RJ, Stoof J, van Vliet AH, Kusters JG. The Helicobacter pylori plasticity region locus jhp0947-jhp0949 is associated with duodenal ulcer disease and interleukin-12 production in monocyte cells. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004;41:161-7.
27. Rizwan M, Alvi A, Ahmed N. Novel protein antigen (JHP940) from the genomic plasticity region of Helicobacter pylori induces tumor necrosis factor alpha and interleukin-8 secretion by human macrophages. *J Bacteriol* 2008;190:1146-51.
28. Lehours P, Dupouy S, Bergey B, Ruskone-Foumestraux A, Delchier JC, Rad R, et al. Identification of a genetic marker of Helicobacter pylori strains involved in gastric extranodal marginal zone B cell lymphoma of the MALT-type. *Gut* 2004;53:931-7.
29. Yakoob J, Abbas Z, Naz S, Islam M, Abid S, Jafri W. Associations between the plasticity region genes of Helicobacter pylori and gastroduodenal diseases in a high-prevalence area. *Gut Liver* 2010;4:345-50.
30. Siavoshi F, Asgharzadeh A, Ghadiri H, Massarrat S, Latifi-Navid S, Zamani M. Helicobacter pylori genotypes and types of gastritis in first-degree relatives of gastric cancer patients. *Int J Med Microbiol* 2011;301:506-12.

31. Bakhti SZ, Latifi-Navid S, Mohammadi S, Zahri S, Bakhti FS, Feizi F, et al. Relevance of Helicobacter pylori vacA 3'-end Region Polymorphism to Gastric Cancer. *Helicobacter* 2015.
32. Latifi-Navid S, Mohammadi S, Maleki P, Zahri S, Yazdanbod A, Siavoshi F, et al. Helicobacter pylori vacA d1/-i1 genotypes and geographic differentiation between high and low incidence areas of gastric cancer in Iran. *Arch Iran Med* 2013;16:330-7.
33. Kamali-Sarvestani E, Bazargani A, Masoudian M, Lankarani K, Taghavi AR, Saberifiroozi M. Association of H pylori cagA and vacA genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2006;12:5205-10.
34. van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, de Boer W, Quint W. Clinical relevance of the cagA, vacA, and iceA status of Helicobacter pylori. *Gastroenterology* 1998;115:58-66.
35. Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, Ogura K, Kanai F, Kato N, et al. Structure of cag pathogenicity island in Japanese Helicobacter pylori isolates. *Gut* 1999;44:336-41.
36. Oleastro M, Gerhard M, Lopes AI, Ramalho P, Cabral J, Sousa Guerreiro A, et al. Helicobacter pylori virulence genotypes in Portuguese children and adults with gastroduodenal pathology. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2003;22:85-91.
37. Wotherspoon AC. Helicobacter pylori infection and gastric lymphoma. *Br Med Bull* 1998;54:79-85.
38. Saribasak H, Salih BA, Yamaoka Y, Sander E. Analysis of *Helicobacter pylori* genotypes and correlation with clinical outcome in Turkey. *J Clin Microbiol* 2004;42:1648-51.
39. Ogiwara H, Sugimoto M, Ohno T, Vilaichone RK, Mahachai V, Graham DY, et al. Role of deletion located between the intermediate and middle regions of the Helicobacter pylori vacA gene in cases of gastroduodenal diseases. *J Clin Microbiol* 2009;47:3493-500.
40. Safaei H, Tavakkoli H, Mojtahedi A, Salehei R, Soleimani B, Pishva E. Correlation of cagA positive Helicobacter pylori Infection with clinical outcomes in Alzahra hospital, Isfahan, Iran. *JRMS* 2008;13:196-201.
41. Salehi Z, Jelodar MH, Rassa M, Ahaki M, Mollasalehi H, Mashayekhi F. Helicobacter pylori cagA status and peptic ulcer disease in Iran. *Dig Dis Sci* 2009;54:608-13.
42. Memon AA, Hussein NR, Miendje Deyi VY, Burette A, Atherton JC. Vacuolating cytotoxin genotypes are strong markers of gastric cancer and duodenal ulcer-associated Helicobacter pylori strains: a matched case-control study. *J Clin Microbiol* 2014;52:2984-9.
43. Yadegar A, Mobarez AM, Alebouyeh M, Mirzaei T, Kwok T, Zali MR. Clinical relevance of cagL gene and virulence genotypes with disease outcomes in a Helicobacter pylori infected population from Iran. *World J Microbiol Biotechnol* 2014;30:2481-90.
44. Tiwari SK, Khan AA, Manoj G, Ahmed S, Abid Z, Habeeb A, et al. A simple multiplex PCR assay for diagnosing virulent Helicobacter pylori infection in human gastric biopsy specimens from subjects with gastric carcinoma and other gastroduodenal diseases. *J Appl Microbiol* 2007;103:2353-60.
45. Erzin Y, Koksal V, Altun S, Dobrucali A, Aslan M, Erdamar S, et al. Prevalence of Helicobacter pylori vacA, cagA, cagE, iceA, babA2 genotypes and correlation with clinical outcome in Turkish patients with dyspepsia. *Helicobacter* 2006;11:574-80.
46. Ribeiro ML, Godoy AP, Benvengo YH, Mendonca S, Pedrazzoli J, Jr. Clinical relevance of the cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori in Brazilian clinical isolates. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2003;36:181-5.
47. Audibert C, Burucoa C, Janvier B, Fauchere JL. implication of the structure of the Helicobacter pylori cag pathogenicity island in induction of interleukin-8 secretion. *Infect Immun* 2001;69:1625-9.
48. Baghaei K, Shokrzadeh L, Jafari F, Dabiri H, Yamaoka Y, Bolfion M, et al. Determination of Helicobacter pylori virulence by analysis of the cag pathogenicity island isolated from Iranian patients. *Dig Liver Dis* 2009;41:634-8.
49. Proenca Modena JL, Lopes Sales AI, Olszanski Acrani G, Russo R, Vilela Ribeiro MA, Fukuhara Y, et al. Association between Helicobacter pylori genotypes and gastric disorders in relation to the cag pathogenicity island. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;59:7-16.
50. Romo-Gonzalez C, Salama NR, Burgeno-Ferreira J, Ponce-Castaneda V, Lazcano-Ponce E, Camorlinga-Ponce M, et al. Differences in genome content among Helicobacter pylori isolates from patients with gastritis, duodenal ulcer, or gastric cancer reveal novel disease-associated genes. *Infect Immun* 2009;77:2201-11.

Original Article

Relevance of *Helicobacter Pylori* Plasticity and cagPAI Regions Known Genes to Gastric and Duedenal Ulcers in Iran

Seyedeh Zahra Bakhti [1], Shokofeh Gholizadeh [1], Saeid Latifi-Navid [1,2*], Saber Zahri [1], Farideh Feizi [3], Abbas Yazdanbod [4]

[1] Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran
[2] Biosciences and Biotechnology Research Center (BBRC), Sabalan University of Advanced Technologies, Namin, Iran
[3] Aras Clinics, Imam Khomeini Hospital, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, ran
[4] Gastrointestinal Cancer Research Center, Ardabil University of Medical Sciences, Ardabil, Iran

ABSTRACT

Background:
Helicobacter pylori (H. pylori) is the main cause of gastroduodenal diseases, such as chronic atrophic gastritis, gastric ulcer (GU), and duodenal ulcer (DU). There is a close relationship between *H. pylori*-specific factors and different gastroduodenal diseases. The aim of the present study was to clarify the roles of the plasticity region genes (jhp0940, jhp0945, and jhp0947) and the known genes of cagPAI (cagA and cagE) in relation to GU and DU diseases.

Materials and Methods:
A total of 173 strains that were isolated from 114 patients with non-atrophic gastritis (NAG), 30 patients with DU, and 29 patients with GU were genotyped. Data were collected and analyzed using SPSS software version 19.

Results:
The cagE gene had the highest frequency (69.4%) and jhp0945 had the least frequency (11.0%) among the genes. When GU was considered as a dependant factor in simple logistic regression analysis, no genotype correlation was found with risk for GU in Iran (p>0.05). Statistical analysis showed that cagA$^+$ and cagA$^+$/ jhp0940$^+$ genotypes were significantly associated with an increased risk of DU but not GU. The Odds ratios (95% CI) were 3.143 (1.120-8.817), and 7.250 (1.493-38.199), respectively.

Conclusion:
Given the high frequency of cagE, this gene could be a suitable marker for the presence of cagPAI in Iranian strains. cagA$^+$ and cagA$^+$/ jhp0940$^+$ genotypes can be beneficial biomarkers for risk prediction of DU in Iran.

Keywords: *Helicobacter pylori*, Plasticity region genes, cagPAI, GU, DU, Iran

please cite this paper as:
Bakhti SZ, Gholizadeh S, Latifi-Navid S, Zahri S, Feizi F, Yazdanbod A. Relevance of *Helicobacter Pylori* Plasticity and cagPAI Regions Known Genes to Gastric and Duedenal Ulcers in Iran. *Govaresh* 2016;21:176-184.

Corresponding author:
Saeid Latifi Navid, Ph.D.
Division of Cellular and Molecular Biology, Department of Biology,
University of Mohaghegh Ardabili,
Ardabil, Iran
Post code: 56199-11367
Telefax: +98 45 33514701
Email: slatifin@yahoo.com

Received: 07 May 2016
Edited: 23 Jul. 2016
Accepted: 24 Jul. 2016