بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه گیلان

پردیس بین الملل

پایان نامه کارشناسی ارشد

بررسی ارتباط ژن oipA هلیکوباکتر پیلوری با سرطان معده

از :

زینب سرداری

استادان راهنما:

دکتر مرتضی جبارپور بنیادی

دکتر فرزام عجمیان

شهریور ۱۳۹۲

پردیس بین الملل

گروه زیست شناسی

گرایش ژنتیک

بررسی ارتباط ژن oipA هلیکوباکتر پیلوری با سرطان معده

از:

زینب سرداری

استادان راهنما:

دکتر مرتضی جبارپور بنیادی

دکتر فرزام عجمیان

استادان مشاور:

دکتر رضا صفرعلیزاده

دکتر حمید رضا وزیری

شهریور ۱۳۹۲

تقدیم به خانواده ی عزیزم

تقدیر و تشکر

با سپاس ازسه وجود مقدس:

آنان که ناتوان شدند تا ما به توانایی برسیم...

موهایشان سپید شد تا ماروسفید شویم...

و عاشقانه سوختند تا گرمابخش وجود ما و روشنگر راهمان باشند...

پدرانمان

مادرانمان

استادانمان

فهرست عناوین

عنوان **صفحه**

چکیده فارسی ..... د

چکیده انگلیسی ..... ذ

فصل اول: مقدمه ۱

۱– مقدمه ۲

۱-۱ تاریخچه پیشتازان کشف هلیکوباکتر پیلوری ۲

۱-۲ معرفی باکتری و مورفولوژی ۳

۱-۳ منابع آلودگی و راه های انتقال عفونت ۴

۱-۳-۱ اپیدمیولوژی ۵

۱-۴ تحرک ۶

۱-۵ آنزیم های مهم در بیماریزایی باکتری ۷

۱-۵-۱ کلاژناز ۷

۱-۵-۲ اوره آز ۹

۱-۵-۳ سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز ۹

۱-۶ Lps و استراتژی هلیکوباکتر پیلوری برای فرار از دفاع میزبان و ایجاد عفونت مزمن ۹

۱-۷ فاکتورهای بیماریزای هلیکوباکتر پیلوری ۱۰

۱-۷-۱ جزیره بیماریزای cag PAI (Cytotoxin Associated Gene Pathogenicity island) ۱۰

۱-۷-۲ پروتئین های غشای خارجی (OMP) ۱۱

۱-۷-۲-۱ فاکتور بیماریزای *oipA* ۱۱

۱-۷-۳ Vac (vaculating cytotoxin A) ۱۲

۱-۸ تشخیص ۱۲

۱-۹ درمان ۱۳

۱-۱۰ شیوع سرطان معده ۱۳
۱-۱۱ فاکتورهای خطر در مورد سرطان معده..... ۱۴
۱-۱۲ آناتومی معده و سرطان معده..... ۱۵
۱-۱۲-۱ انواع سرطان معده ۱۶
۱-۱۲-۲ تغییرات پیش سرطانی در لایه های معده ۱۷
۱-۱۲-۳ تبدیل سلولهای نرمال به سلولهای سرطانی ۱۷
۱-۱۲-۴ مدل چند مرحله ای پیشرفت سرطان معده..... ۱۸
۱-۱۳ مکانیزم پیشرفت سرطان معده توسط عفونت هلیکوباکتر پیلوری ۱۸
۱-۱۳-۱ اثرات مستقیم و غیرمستقیم *H.pylori* بر سلولهای پوشش معده در طول روند سرطانزایی معده ۱۹
۱-۱۳-۲ اثرات غیر مستقیم *H. pylori* بر سلول‌های اپیتلیال معده در طی القای گاستریت در روند سرطانزایی معده..... ۲۰
۱-۱۳-۳ اثر مستقیم *H. pylori* بر سلول‌های پوششی معده..... ۲۲
۱-۱۳-۴ نقش *cag A* در روند سرطان‌زایی معده (Gastric carcinogenesis)..... ۲۳
۱-۱۳-۵ اثر فاکتور بیماریزای *oipA* در سرطان معده ۲۵
۱-۱۳-۶ فعال‌سازی NF-kB توسط هلیکوباکترپیلوری ۲۸
۱-۱۳-۷ القای جهش در ژن‌ها توسط هلیکوباکتر پیلوری..... ۲۸
۱-۱۳-۸ القای متیلاسیون نابجا در DNA توسط *H. pylori* ۳۰
۱-۱۳-۹ ارتباط بین اثرات مستقیم و غیر مستقیم *H. pylori* بر سلول‌های اپیتلیالی در طی پیشرفت سرطان معده ۳۰
۱-۱۴ پیشگیری از سرطان معده‌ی القا شده توسط *H. pylori* ۳۲
۱-۱۵ هدف از پایان نامه..... ۳۳
فصل دوم: مواد وروش ها..... ۳۴
۲ مواد و روش‌ها ۳۵
۲-۱ مواد و وسایل مورد استفاده..... ۳۵
۲-۱-۱ مواد و وسایل مورد استفاده جهت استخراج DNA از بافت..... ۳۵
۲-۱-۲ مواد و وسایل مورد استفاده جهت انجام PCR ۳۵

۲-۱-۳ مواد و وسایل مورد استفاده جهت الکتروفورز افقی ۳۶
۲-۲دستگاه‌های مورد استفاده ۳۶
۲-۳ محلول‌ها و بافرهای مورد استفاده ۳۷
۲-۳-۱ محلول‌ها و بافرهای مورد استفاده در استخراج DNA ۳۷
۲-۳-۲ بافر مورد استفاده جهت الکتروفورز افقی ۳۷
۲-۴ روش‌ها ۳۸
۲-۴-۱ تهیه و جمع آوری نمونه‌ها ۳۸
۲-۴-۲ استخراج DNA از بافت توسط کیت ۳۸
۲-۴-۳ ارزیابی DNA ی استخراج شده توسط روش اسپکتوفتومتری ۴۰
۲-۴-۳-۱ ارزیابی کیفیت DNA با اسپکتوفتومتری ۴۰
۲-۴-۳-۲ تعیین غلظت DNA با استفاده از اسپکتوفتومتری ۴۱
۲-۴-۴ واکنش زنجیره‌ای پلیمراز یا PCR (Polymerase Chain Reaction) ۴۱
۲-۴-۴-۱آغازگر یا پرایمر ۴۱
۲-۴-۴-۱-۱ جفت پرایمر مربوط به ژن *16S rRNA* ۴۱
۲-۴-۴-۱-۲ جفت پرایمر مربوط به لوکوس *oipA* ۴۲
۲-۴-۴-۱-۳ رقیق‌سازی پرایمرها ۴۳
۲-۴-۴-۲ میزان مواد مورد استفاده در تهیه‌ی master mix ۴۳
۲-۴-۴-۳ آماده‌سازی محلول PCR ۴۴
۲-۴-۴-۴ برنامه‌ی دستگاه PCR و چرخه‌ی حرارتی ژن *oipA* و *16S rRNA* ۴۵
۲-۴-۴-۵ پروفایل حرارتی واکنش PCR مربوط به ژن *oipA* و *16S rRNA* ۴۶
۲-۴-۵ ارزیابی محصولات PCR ۴۶
۲-۴-۵-۱ نحوه‌ی تهیه‌ی ژل آگارز ۱/۵٪ ۴۶
۲-۴-۵-۲ الکتروفورز افقی (ژل آگارز) محصولات PCR ۴۷

فصل سوم: نتایج ۴۸

۳- نتایج ۴۹

۳-۱ نتایج حاصل از استخراج DNA ی ژنومی با استفاده از کیت ۵۰

۳-۱-۱ بررسی کیفیت و غلظت DNA ی استخراج شده با استفاده ازکیت DNG-Plus ۵۰

۳-۲ نتایج حاصل از الکتروفورز محصولات PCR ۵۱

۳-۲-۱ نتایج آماری مربوط به شیوع هلیکوباکتر پیلوری ۵۲

۳-۲-۲ نتایج آماری مربوط به فراوانی ژن *oipA* در افراد مبتلا به سرطان و گاستریت ۵۲

فصل چهارم: بحث و نتیجه گیری ۵۴

۴- بحث و نتیجه گیری ۵۵

۴-۱ بحث ۵۵

۴-۲ نتیجه گیری ۶۰

۴-۳ پیشنهادات ۶۱

منابع ۶۲

ضمائم ۷۵

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱: میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری درکشورهای مختلف ۶

جدول۲-۱: مشخصات پرایمرهای ژن *16S rRNA* ۴۱

جدول۲-۲: مشخصات پرایمرهای ژن *oipA* ۴۲

جدول ۲-۳: میزان مواد مصرفی در تهیه‌ی master mix ۴۴

جدول۲-۴: برنامه زمانی – حرارتی PCR برای ژن‌های *oipA* و *16S rRNA* ۴۶

جدول ۳-۱: آمار مربوط به نمونه های بیوپسی پس از انجام تست اوره آز ۴۹

جدول ۳-۲: آمار مربوط به نمونه های بیوپسی‌پس از انجام PCR ۴۹

جدول ۳-۳: درصد آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری در میان افراد مبتلا به سرطان و گاستریت ۵۲

جدول ۳-۴: فراوانی ژن *oipA* در میان افراد مبتلا به سرطان و گاستریت ۵۳

جدول ۳-۵: مقایسه ی فراوانی ژن *oipA* در بین مردان و زنان ۵۳

جدول ۴-۱: نتایج بدست آمده، در ارتباط با شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری، در افراد سرطانی ۵۶

جدول ۴-۲: مقایسه ی درصد آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری در میان افراد مبتلا به سرطان و گاستریت ۵۷

جدول ۴-۳: مقایسه ی فراوانی ژن *oipA* در بین مردان و زنان مبتلا به سرطان معده و گاستریت ۵۹

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱: مورفولوژی هلیکوباکتر پیلوری ۳

شکل ۱-۲: واکنش آنزیم اوره آز ۸

شکل۱-۳: عمل آنزیم اوره آز ۸

شکل۱-۴: عمل آنزیمسوپراکسید دیسموتاز ۹

شکل۱-۵: نمایی از چهار قسمت اصلی معده ۱۶

شکل۱-۶: روند پیشروی سرطان معده (نوع روده ای) ۱۸

شکل ۱-۷: اثرات مستقیم و غیر مستقیم هلیکوباکتر پیلوری بر سلولهای پوششی معده ۱۹

شکل۱-۸: عملکرد Cag A ۲۴

شکل۱-۹: عملکرد OipA ۲۵

شکل۱-۱۰: عملکرد AKT ۲۶

شکل۱-۱۱: عملکرد EGFR ۲۷

شکل۱-۱۲: اثر *H. pylori* در مراحل اولیه و پیشرفته ی گاستریت ۳۱

شکل ۲-۱: پروفایل حرارتی واکنش PCR مربوط به ژن *oipA* و *16s rRNA* ۴۶

شکل ۳-۱: تصویر نمونه هایی از DNA ی استخراج شده با استفاده از کیت DNG-Plus ۵۰

شکل ۳-۲: تصویر محصولات PCR ژن های *16S rRNA* و ژن *oipA* ۵۱

چکیده

پس از کشف هلیکوباکتر پیلوری (*H. pylori*) در سال ۱۹۸۲، توسط وارن و مارشال، مطالعات اپیدمیولوژیکی زیادی، ارتباط قوی بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری با پیشرفت سرطان معده را آشکار کردند. اخیرا اثبات شده است که ریسک ابتلا به سرطان معده در افراد آلوده به عفونت هلیکوباکتر پیلوری، بیشتر از افراد غیر آلوده است. بعلاوه، اخیرا یک فاکتور بالقوه بیماریزا به نام ژن (*outer inflammatory protein*) *oipA* شناخته شده است. این ژن یک پروتئین خارج غشایی هلیکوباکتر پیلوری را کد میکند و یک ژن مرتبط با التهاب است چرا که باعث افزایش ترشح اینترلوکین-۸ (IL-8) از سلولهای اپیتلیال معده می شود. در این مطالعه، نمونه های بیوپسی از بیمارانی که برای اندوسکوپی به دو مرکز گوارش در تبریز مراجعه کرده بودند گرفته شد. ۸۶ بیمار در این مطالعه حضور داشتند که بر طبق بررسی های میکروسکوپی مخاط و مطالعات هیستولوژیک در دو دسته ی بیماران مبتلا به سرطان معده (۳۷) و التهاب (۴۹) قرار گرفتند. پس از استخراج DNA، با استفاده از دو جفت پرایمر، یکی جهت تکثیر ژن *16S rRNA* برای شناسایی هلیکوباکتر پیلوری و دیگری جهت تکثیر ژن *oipA*، واکنش PCR انجام شد.در این مطالعه، ۸۰٪ از افرد مبتلا به سرطان معده، و ۷۱٪ از افرد مبتلا به گاستریت آلوده به هلیکوباکتر پیلوری بودند. ۵۶/۶٪ از افراد مبتلا به سرطان معده و ۵۷٪ از افراد مبتلا به التهاب معده دارای دارای ژن *oipA* بودند، میزان P value بدست آمده، (P value <۰/۰۵)، برای این دو گروه نشان می دهد که تفاوتی بین فراوانی این ژن در افراد سرطانی و التهابی وجود ندارد. مطالعه ی ما نشان دهنده ی آن است که علیرغم اینکه آلودگی با هلیکوباکتر پیلوری به طور واضح در ارتباط با سرطان معده است، اما *oipA* فاکتور بیماریزای غالب در القاء سرطان معده نیست.

کلید واژه ها: هلیکوباکتر پیلوری، سرطان معده، *oipA*

Abstract

Evaluating the *oipA* gene correlation of*helicobacter pylori* with gastric cancer
Zeinab Sardari

Since the discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) by Warren and Marshall in 1982, many epidemiological studies have revealed strong association between *H. pylori* infection and gastric cancer development. Recent retrospective studies have confirmed that *H. pylori* positive patients have significantly higher risk of developing gastric cancer in comparison to those of *H. pylori*-negative cases. In addition, a novel putative virulence factor has also been identified recently; the *oipA* (*outer inflammatory protein*) gene. The *oipA* gene encodes for an outer membrane protein of *H. pylori* and is thought to be an inflammation-related gene.In this study Biopsy samples were obtained from patients referred for endoscopy at two centers of gastroenterology in Tabriz. 86 patients, were enrolled in this study. Regarding macroscopic aspect of the mucosa and histological routine results, patients were distributed into gastritis in 49 cases, and gastric cancer in 37 cases. After DNA extraction, polymerase chain reactions (PCR) were performed, using specific sets of primers to investigate the *H. pylori* and, the *oipA* gene presences in the groups, studied. *H. pylori* was detected in 80% of patient with gastric cancer, and in 71% of patient with gastritis. Surprisingly, 57% of patient with gastritis and, only 56% of patient with gastric cancer were positive for *oipA* gen. There is no difference between the two groups (P>0.05).The results of our work suggest that although *H. pylori* infection seems to be associated with developing of gastric cancer, *oipA* is not the dominant virulence factor in induction of gastric carcinogenesis.

Keywords: *Helicobacter pylori*, gastric cancer, *oipA*

فصل اول

مقدمه

۱- مقدمه

۱-۱ تاریخچه پیشتازان کشف هلیکوباکتر پیلوری

از نخستین کسانی که به وجود باکتری مرموزی در معده پی برده بود، دانشمندی به نام بیزوزرو (Bizzozero) از ایتالیا بود که در سال۱۸۹۳، به عنوان پاتولوژیست، این باکتری را در مخاط معده‌ی سگ و انسان مشاهده و ان را Spirilli نامگذاری کرد [۱]. لیبر (Lieber) که مدتی در نیویورک راجع به نقش الکل در ایجاد امراض کبدی کار می کرد، در مقاله ای از مشاهدات خود در سال ۱۹۸۵ در مورد آمونیاک شیره ی معده می گوید که بعد از درمان با تتراسایکلین، آمونیاک به طور چشمگیری تا درصد غلظت قبلی پایین می آید و به این نتیجه می رسد که آمونیاک موجود در شیره ی معده باید منشاء باکتریایی داشته باشد[۲]. پزشک دیگری به نام لیکودیس (Lykoudis) در شهر آتن به علت اینکه خود چندین بار مبتلا به خونریزی ناشی از زخم پپتیک شده بود، در سال ۱۹۸۵ به مصرف آنتی بیوتیک روی آورد و پس از آن مشاهده کرد که تمام ناراحتی های ناشی از زخم معده ی او کاملاً ناپدید شده است. او این درمان را در چند بیمار در مطب خود انجام داد و در آنها هم این بهبود را مشاهده کرد. آقای لیکودیس در مدت ۲۰ سالی که از زندگی اش باقی مانده بود، بیش از سی هزار بیمار را با این روش معالجه کرد و این در حالی بود که او خود این داروها را تهیه می کرد و بدون داشتن اجازه رسمی از وزارت بهداشت یونان به بیماران می داد[۳]. در اکسفورد، استیر(steer) رابطه ی باکتری را با مخاط معده در بررسی دقیق تصاویر به دست آمده با میکروسکوپ الکترونی مشاهده کرد و در مجله پاتولوژی در سال ۱۹۷۵ منتشر کرد [۴].

این باکتری در سال ۱۹۷۹ توسط یک پاتولوژیست استرالیایی به نام Robin warren دوباره کشف شد. او همراه با باری مارشال (Barry Marshall) از سال ۱۹۸۱ باهم تحقیقات بیشتری را در این زمینه انجام دادند. این میکروارگانیزم ها از نمونه های موکوسی معده ی انسان جدا کرده و برای اولین بار موفق به کشت این باکتری شدند [۵]. در مقاله ی اصلی ارائه شده توسط این دانشمندان [۶]، ادعا شده بود که اکثر زخم های معده و گاستریت ها بر خلاف تصور، توسط عفونت با این باکتری ایجاد می شود نه توسط استرس و غذاهای ادویه دار[۷].

در آن زمان اعضای کمیته ی پزشکی جهانی نقش این باکتری را در ایجاد زخم های معده و گاستریت نادیده گرفت، چون آنها اعتقاد داشتند که هیچ گونه ارگانیزمی نمیتواند برای مدت طولانی در محیط اسیدی معده زنده بماند ولی بعد از اینکه مطالعات بیشتری در این زمینه صورت گرفت، وجود این باکتری در معده اثبات شد، خصوصا زمانیکه مارشال برای جلب توجه اعضای کمیته، ظرف حاوی باکتری را سر کشید و دچار گاستریت شد. او سپس توانست این باکتری را دوباره از مخاط معده ی خود استخراج کند و بدین وسیله رضایت کلیه ی اعضا را بدست آورد؛ البته مارشال با استفاده از داروهای بسیموت و مترونیدازول موفق

به ریشه کن کردن آن از معده خود شد [۸]. در سال ۲۰۰۵ مارشال و وارن به پاس مطالعات گسترده و مؤثر خود بر روی *H. pylori* به طور مشترک برنده جایزه ی نوبل در رشته پزشکی شدند [۱۰،۹]. بعد از تعیین توالی و پس از پی بردن به این مطلب که RNA ی ریبوزومی 16s این باکتری مشخصه ای شبیه به RNA ریبوزوی 16s کمپیلوباکتر ندارد، کلمه ی کمپیلوباکتر به هلیکوباکتر تغییر یافت و بدین ترتیب گونه ای جدید کشف گردید [۱۱].

۱-۲ معرفی باکتری و مورفولوژی

هلیکوباکترها ارگانیسم های مارپیچی s شکل و یا به صورت باسیل های منحنی شکل گرم منفی می باشند. آنها به علت دارا بودن فلاژل های غلاف دار منفرد یا چندتایی ، تک قطبی، دو قطبی یا پیرامونی، متحرک می باشند [۱۲]. سلول های در معرض هوا ممکن است به صورت اجسام کوکوئیدی درآیند؛ هیدروژن رشد آنها را تحریک می کند و بعضی گونه ها برای رشد به آن نیاز دارند [۱۳]. هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با دیگر گونه های هلیکوباکتر درشرایط اپتیمم *in vivo* یک باکتری گرم منفی، بدون اسپور و مارپیچی شکل (s – شکل) یا خمیده بوده که حدود ۳µm طول و ۰/۵ µm قطر داشته و دارای ۶-۴ فلاژل قطبی غلافدار به صورت لوفوتریش (lophotrichous) می باشد. نوک فلاژل ها به صورت دکمه مانند بوده و به طور فعال متحرک می باشند. این مورفولوژی خاص و تحرک بالا، جهت کلونیزاسیون آن در موکوس معده و دستگاه گوارش ضروری است، (شکل ۱-۱)، [۱۴].

شکل ۱-۱: مورفولوژی هلیکوباکتر پیلوری؛ با توجه به شکل، حالتs – شکل یا خمیده و فلاژل قطبی غلافدار به صورت لوفوتریش (lophotrichous) بارز می باشد. نوک فلاژل ها به صورت دکمه مانند است [۱۴].

این باکتری میکروآنروفیلیک با متابولیسم هوازی است و اگر رطوبت بالایی وجود داشته باشد در دمای ℃37 و در گرمخانه های استاندارد CO_2 رشد می کند، این باکتری در محدوده ی pH ۷/۵ تا ۸ رشد خواهد کرد [۱۵].

فلاژلهای این باکتری تقریباً ۳۰nm قطر و دارای فیلامانی در حدود ۱۲ تا ۱۵ نانومتر می باشند. *H. pylori* یک لایه ی خارجی غنی از گلیکوکالیکس یا پلی ساکارید دارد که ظاهراً در باکتری موجود در بدن ، ضخیم تراز باکتری کشت داده شده است. این باکتری همان ساختار دیواره ی سلول باکتری های گرم منفی را دارد. این باکتری تعداد پروتئین غشای خارجی در محدوده ی ۴۸ تا ۶۷ کیلو دالتون دارد که توانایی ایجاد منافذی را دارند که هر کدام برای سوبترایی خاص اختصاصی می باشند [۱۶]. لیپوپلی ساکاریدهای این باکتری نیز ساختاری غیر معمول دارند [۱۷]. این باکتری دارای آنزیم هیدروژناز می باشد که به وسیله ی آن می تواند هیدروژن مولکولی (H_2) تولید شده توسط بقیه ی میکروارگانیزم ها در دستگاه گوارش را اکسید کرده و انرژی تولید کند. همچنین *H. pylori* دارای آنزیم های کاتالاز، اکسیداز و اوره آز می باشد که باعث مثبت شدن تست تشخیصی مربوط به آنها می گردد. این باکتری توانایی تشکیل لایه های بیوفیلم (biofilm) و نیز تبدیل از فرم مارپیچی به کوکوئیدی را دارد که هر دو قابلیتهای ذکر شده بقای آن را در محیط بیشتر کرده و به عنوان فاکتورهای مؤثر در اپیدمیولوژی محسوب می شوند. فرم کوکوئیدی بیشتر در محیط آبی و در شرایط *in vivo* درسطح سلولهای اپیتلیوم معده و در شرایط *in vitro* در کشت‌های قدیمی یافت می شود ولی قابل کشت نمی باشد [۱۸].

۱- ۳ منابع آلودگی و راه های انتقال عفونت

وجود هلیکوباکتر پیلوری در آب آشامیدنی ثابت شده است و این باکتری میتواند تا مدت چهار روز در آب زنده بماند جوشاندن آب نیز تأثیری در جلوگیری از انتقال ندارد. بنابراین آب کانون مهمی برای انتشار هلیکوباکتر پیلوری است و آب آلوده به مدفوع به خصوص در کشورهای در حال توسعه و در مناطقی که از آب آشامیدنی مناسب برخوردار نیستند .یکی از عمده ترین راه های انتقال باکتری می باشد [۱۹]. یکی از اولین گزارش هایی که آب آشامیدنی را به عنوان یکی از منابع آلودگی با *H. pylori* معرفی می کند توسط klein و همکاران در سال ۱۹۹۱ منتشر گردید [۲۰]. آنها نشان دادند که احتمال ابتلا به عفونت *H. pylori* در کودکانی که در کشور پرو زندگی می کنند و از آب غیر لوله کشی استفاده می کنند، سه برابر بیشتر از کودکانی است که از دیگر منابع آبی استفاده می کنند. مواد غذایی نیز در صورتیکه با آب آلوده تماس یابند و یا در آب غیر بهداشتی، شستشو شوند، آلوده می گردند و باکتری می تواند از راه دهان و با مصرف مواد غذایی آلوده، وارد معده گردد [۲۱, ۲۲]. در افرادی که ریفلاکس معده به

مری دارند با انتقال شیره معده به مری، باکتری از معده وارد دهان می شود. تحقیقات بسیاری در زمینه رشد هلیکوباکتر پیلوری در دهان انجام شده است. هلیکوباکتر پیلوری در پلاک دندان نیز یافت می شود [۲۳].

یک منبع بالقوه آلودگی از طریق بیمارستان می باشد. انتقال باکتری از طریق لوله های آندوسکوپ از فردی به فرد دیگر می تواند صورت بگیرد که با استفاده از تکنیک های ضدعفونی مناسب، ریسک انتقال این باکتری از راه اندوسکوپی به حداقل کاهش می یابد. پزشکان متخصص و دیگر افرادی که در مراکز مراقبت بهداشتی کار می کنند و با ترشحات قسمت فوقانی دستگاه گوارش در تماسند و از دستکش استفاده نمی کنند، در معرض خطر ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری قرار دارند [۲۴].

میزبانان این باکتری شامل انسان و حیواناتی مانند سایر پریماتها، خوک، احشام مانند گاو، سگها، گربه، پرندگان و جوندگان است و ارتباط با این حیوانات می تواند به عنوان منبع انتقال آلودگی باشد. به نظر می رسد که راه های دهانی – مدفوعی و دهانی– دهانی از عمده ترین راههای انتقال عفونت از منابع عفونت به فرد سالم باشند [۲۶، ۲۵].

۱-۳-۱ اپیدمیولوژی

هلیکوباکتر پیلوری از شایعترین پاتوژنهای انسان در جهان است که بیش از ۵۰ درصد جمعیت جهان آلوده به این باکتری هستند، خصوصاً، در کشورهای در حال توسعه که ممکن است به طور مزمن بالای ۹۰ درصد مردم این کشورها در دوران پیری آلوده به این عفونت باشند [۲۷]. شیوع عفونت *H. pylori* به طور گسترده ای توسط فاکتورهایی مثل منطقه ی جغرافیایی، سن، نژاد، وضعیت اقتصادی –اجتماعی تحت تأثیر قرار می گیرد [۲۸].

دریک مطالعه بر روی ۹۸ کودک که در یکی از روستاهای شهرستان Lingu در استان شاندونگ چین انجام گرفت، نشان داده شد که نزدیک به ۷۰ درصد بچه های ۵-۶ ساله آلوده به هلیکوباکتر پیلوری هستند [۲۹]. نرخ مشابهی نیز برای افراد بزرگسال در این منطقه گزارش شد [۳۰] که نشان می دهد بیشترین میزان ابتلا به عفونت در اوایل دوران کودکی اتفاق میافتد و به نظر میرسد که با افزایش رعایت بهداشت این میزان کاهش یابد [۲۸].

در مطالعه ای که در استرالیا در سال ۲۰۰۸ بر روی کودکان مهاجر ساکن استرالیا صورت گرفت، نشان داد که کودکان کشورهای در حال توسعه بیشتر در معرض خطر ابتلا به عفونت هستند. نتایج آنها این دیدگاه را که اوایل کودکی، دوره ی اصلی ابتلا به عفونت *H. pylori* در جمعیت‌هایی است که شیوع *H. pylori* در آنها زیاد است را حمایت میکند .(چراکه عفونت *H. pylori* در این کودکان ۸۲ درصد بوده و شانس ابتلا به عفونت به طور معنی داری با سن افزایش یافته بود اما در مقابل شیوع عفونت در کودکان استرالیایی کم بوده است، هرچند که این نرخ در کودکان استرالیایی ساکن مناطق دور افتاده زیاد بوده است که بر اثر تفاوت در

سطح طبقات اقتصادی و اجتماعی است [۳۱]. بیشتر بالغین در کشورهای در حال توسعه و توسعه نیافته، آلوده هستند و ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بزرگسالان چه در کشورهای توسعه یافته و چه در کشورهای درحال توسعه به دلیل افزایش سطح سواد، سطح زندگی و مراقبت های بهداشتی و پزشکی، نادرست [۳۲].

تخمین زده می شود شیوع این باکتری در کشورهای در حال توسعه ۷۰ درصد و در کشور آمریکا و سایر کشورهای صنعتی ۳۰ تا۴۰ درصد می باشد [۳۳]. در جدول (۱-۱) میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری در بین افراد درکشورهای مختلف آورده شده است.

جدول ۱-۱: میزان شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری درکشورهای مختلف [۳۴].

نویسندگان(سال انتشار)	کشور	میانگین سنی افراد مورد بررسی	فرکانس
Mishra et al (2008)	India	0.67-60	45.7
Mohammad et al (2008)	Egypt	6-15	72.4
Monno et al (2008)	Albania	16-64	70.7
Moujaber et al (2008)	Australia	1-59	15.4
Naito et al (2008)	Japan	4-10	5.3
Zagari et al (2008)	Italy	>32	58
Kori et al (2009)	Israel	0.25-5	24.7
Nouraie et al (2009)	Iran	18-65	68.3
Sasidharan et al (2009)	Malaysia	10-70	14.2
Acosta Garcia et al (2009)	Venezuela	4-14	74
Arslan et al (2009)	Turkey	Mean 25.5	41.5
Breckan et al (2009)	Norway	18-85	33
Cartagenes et al (2009)	Brazil	1-12	50
Chi et al (2009)	Taiwan	Mean 14.3	55
Dube et al (2009)	South Africa	0-60	87
Jackson et al (2009)	United Kingdom	18-70	26
Jafri et al (2010)	Pakistan	1-15	47
Javed et al (2010)	Pakistan	15-65	92
Mansour et al (2010)	Tunisia	25-55	63
Santos et al (2010)	Bolivia	5-8, 6-14, 4-13	74, 48, 78
Shimoyama et al (2010)	Japan	Mean 57.7	61

۱-۴ تحرک

هلیکوباکتر پیلوری می بایست به لایه ی مخاطی معده نفوذ کند، تا در سلول های اپیتلیال معده که جایگاه اصلی آن است ایجاد کلونی کند. این باکتری یک ارگانیزم متحرک فلاژل دار است که توسط حرکت مارپیچ خود و ساختمان ویژه ای که دارد به رویه ی مخاطی معده نفوذ می کند. هلیکوباکتر جهش یافته ی بدون فلاژل در مدل های حیوانی غیر بیماریزا هستند [۳۵].

باکتری به کمک فلاژل حرکت می کند .فیلامنت فلاژل از دو نوع فلاژلین تشکیل شده است: پروتئین فراوان‌تر به نام FlaA که قسمت عمده ی فیلامنت را تشکیل می دهد و پروتئین نسبتاً بزرگتری که به نظر می رسد منحصراً در ناحیه ی پروکسمیال قلاب در فیلامنت قرار داشته باشد [۳۶]. هر دوی این پروتئین ها برای تکمیل ساختار فلاژل و عملکرد آن در پیش راندن سریع باکتری از محیط نامطلوب درون معده به ناحیه ی حفاظت شده ی لایه ی مخاطی روی سلول های مخاطی معده، ضروری هستند. انواع جهش یافته ی این باکتری که دچار کمبود در پروتئین لوله ای فلاژل می باشند، بیماریزایی کمتری نسبت به روش اصلی دارند [۳۷].

۱-۵ آنزیم های مهم در بیماریزایی باکتری

۱-۵-۱ کلاژناز

هلیکوباکتر پیلوری پس از ورود به لایه ی مخاطی معده محیط اطراف خود را جهت حرکت بدون مانع بر روی سطح سلولهای اپیتلیال تغییر می دهد. این باکتری دارای آنزیم کلاژناز است. ژن کد کننده ی این آنزیم در هیلکو باکتر پیلوری Hpo169 می باشد [۳۸]. پس از تولید این آنزیم توسط باکتری به صورت فعالانه به سطح سلول های باکتریال منتقل شده و در آنجا باقی می ماند یا اینکه به درون فضای خارجی سلولی ترشح می شود و کلاژنها را هضم میکند تا اینکه باکتری حرکت آزادانه تری داشته باشد. کلاژنهای نوع I و III از اجزاء مهم ماتریکس خارج سلول سلول های اپیتلیوم معده می باشند که ترشح آنها جهت التیام مناطقی از معده که واجد زخم وگاستریت هستند، القا می گردد. کلاژناز مترشحه از *H. pylori* از طریق هضم کلاژن ممکن است مسئول تأخیر در روند بهبود زخم و گاستریت و در نتیجه ایجاد زخم ها وگاستریت مزمن باشد. علاوه براین ، برخی اجزاء پاسخ ایمنی میزبان همانند آنتی بادی های IgA ممکن است توسط کلاژناز باکتریایی تخریب شده، و به روند بیماریزایی *H. pylori* در دستگاه گوارش کمک کند [۳۹].