بسم الله الرحمن الرحيم

١٤١٦٩٥

دانشگاه کیلان

دانشکده‌ی علوم پایه

گروه زیست شناسی

گرایش بیوشیمی

عنوان:

بررسی ارتباط آلودگی هلیکوباکترپیلوری با سرطان کولون

نگارش:

محمّدامین میری

استاد راهنما:

دکتر زیور صالحی

اساتید مشاور:

دکتر فریبرز منصورقناعی و دکتر کیوان امینیان

۱۳۸۹/۷/۳

بهمن ۱۳۸۸

۱۴۱۶۹۵

تقدیم به:

پدر و مادر مهربان و همسر عزیزم

با عشق و احترام...

خداوند قادر و متعال را شاکرم که این حقیر را در به سرانجام رساندن رساله‌ی حاضر یاری نمود.

وظیفه‌ی خود می‌دانم از زحمات تمام کسانی که در انجام این پروژه به من یاری رسانده‌اند تشکّر و قدردانی به عمل آورم.

در ابتدای امر از درگاه الهی به سبب داشتن خانواده‌ای مذهبی،مهربان و فهیم مسرور و قدردانم. از همسر عزیزم به خاطر سختی‌هایی که در طول این مدّت از جانب من متحمّل شد و جز صبوری و مهربانی از خود واکنشی نشان نداد، از صمیم قلب ممنون و شکرگزارم. از برادر گران‌قدر و با ذکاوتم، محمّدمهدی نیز تشکّر می‌کنم.

از زحمات بی‌دریغ استاد راهنمای گران‌قدرم سرکار خانم دکتر صالحی که این پروژه نتیجه دانش و زحمات ایشان است، بی‌نهایت سپاسگزارم.

از آقایان دکتر امینیان و دکتر منصورقناعی که در امر مشاوره‌ی این پروژه (تهیّه‌ی نمونه‌های کولونوسکوپی) به بنده بسیار کمک کردند، صمیمانه تشکّر می‌کنم.

از اساتید و کارشناسان محترم گرو ه زیست‌شناسی خصوصاً خانم‌ها شایگان، هادوی و نیز دوستان گرامی‌ام آقایان مسعود کاظمی، صلاح‌الدّین واژی،محمد حلیمی جلودار، محمّدامین کریمی و خانم‌ها گلعلی‌زاده و امامی‌فر که در مراحل انجام این پروژه به بنده بسیار کمک کردند سپاسگزارم.

از تمام دوستان و عزیزانی که ممکن است نامشان از قلم افتاده باشد سپاسگزارم و همیشه قدردان زحمات و بزرگواری-های این عزیزان خواهم بود.

محمّدامین میری

بهمن ۱۳۸۸

فهرست مطالب

عنوان صفحه

چکیده‌ی فارسی ..... ج

چکیده‌ی انگلیسی ..... خ

فصل اوّل: مقدّمه ۱

۱-۱- تاریخچه ۲

۱-۲- ویژگی‌های میکروب‌شناسی ٤

۱-۳- همه‌گیر شناسی (اپیدمیولوژی) ٥

۱-۳-۱- میزان شیوع عفونت ٥

۱-۳-۱- ۱ عوامل خطر آلودگی با هلیکوباکترپیلوری ٦

۱-۳-۱-۲- منابع آلودگی ۸

۱-۳-۲- راه‌های انتقال ۹

۱-٤- بیماری‌زایی هلیکوباکترپیلوری ۱۰

۱-٤-۱- تحرّک هلیکوباکترپیلوری ۱۱

۱-٤-۲- اتّصال ۱۲

۱-٤-۳- آنزیم‌های هلیکوباکترپیلوری ۱۲

۱-٤-۳-۱- اوره‌آز ۱۲

۱-٤-۳-۲- کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز ۱٤

۱-٤-۳-۳- لیپاز و پروتئاز ١٤

۱-٤-٤- لیپوپلی‌ساکارید (LPS) و جذب و فعّال کردن لکوسیت‌ها ١٤

۱-٤-٥- VacA و CagA ١٥

۱-٤-٦- پروتئین‌های شوک حرارتی ١٥

۱-٥- تغییرات فیزیولوژی معده و روده‌ی بزرگ در اثر عفونت هلیکوباکترپیلوری ١٥

۱-٦- ژنوم هلیکوباکترپیلوری ١٧

۱-٦-۱- *glmM* ١٨

۱-٦-۲- ژن‌های ویرولانس (بیماری‌زای) هلیکوباکترپیلوری ١٩

۱-٦-۲-۱- *vacA* ٢٠

۱-٦-۲-۲- *cagA* ٢١

۱-۷- سرطان روده‌ی بزرگ ٢٥

۱-۷-۱- اپیدمیولوژی ٢٥

۱-۷-۲- عوامل خطرساز ٢٦

۱-۷-۳- ریخت‌شناسی (مورفولوژی) ٢٨

۱-۷-٤- سرطان‌زایی کولورکتال (مکانیسم‌های ملکولی) ٢٩

۱-۷-٥- نقش احتمالی هلیکوباکترپیلوری در سرطان کولورکتال ٣١

۱-۷-٦- علایم و نشانه‌های سرطان روده‌ی بزرگ (تظاهرات بالینی) ٣٣

۱-۷-۷- تشخیص سرطان روده‌ی بزرگ ۳٤

۱-۷-۸- درمان ۳٤

۱-۸- اهداف پایان نامه ۳٦

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- دستگاه‌ها و مواد مورد استفاده ۳۸

۲-۲- شرایط استریل نمودن محلول‌ها ٤۲

۲-۳- تهیه و انتقال نمونه ٤۲

۲-٤- استخراج DNA ٤۳

۲-٤-۱- استخراج DNA به روش فنل- کلروفرم (روش دستی) ٤۳

۲-٤-۲- استخراج DNA با استفاده از kit استخراج DNA (#K0513) شرکت Fermentas ٤٤

۲-۵- بررسی کیفیت DNA استخراج شده ٤۵

۲-۵-۱- ژل آگارز ٤٦

۲-۵-۲- روش اسپکتروفتومتری ٤٦

۲-٦- PCR ٤۷

۲-٦-۱- جفت پرایمر مربوط به لوکوس *glmM* ٤۷

۲-٦-۲- جفت پرایمر مربوط به لوکوس *cagA* ٤۸

۲-٦-۳- پرایمرهای مربوط به لوکوس *vacA* ٤۹

۲-٦-٤- نحوه انجام PCR ٤٩

۲-٦-٥- چرخه حرارتی PCR ٥٠

۲-۷- ارزیابی محصولات PCR ٥١

۲-۷-۱- ژل آگارز ۲ درصد ٥١

۲-۷-۲- ژل عمودی یا پلی‌آکریل‌آمید ٦ درصد ٥١

۲-۸- بررسی‌های آماری ٥٢

فصل سوم: نتایج ٥٣

۳-۱- نمونه‌گیری ٥٤

۳-۳- نتایج بررسی کمیت و کیفیت DNA استخراج شده ٥٤

۳-٤- نتایج بررسی شیوع هلیکوباکترپیلوری در نمونه‌های بیوپسی ٥٥

۳-٤-۱- نتایج مربوط به بررسی ژن *glmM* ٥٥

۳-٤-۲- نتایج مربوط به بررسی ژن *cagA* ٥٦

۳-٤-۳- نتایج مربوط به بررسی ژن *vacA* ٥٨

نتیجه‌گیری کلّی ٦١

فصل چهارم: بحث و پیشنهادات ٦٣

پیوست‌ها ٧١

منابع مورد استفاده ٧٤

فهرست شکل‌ها

عنوان	موضوع	صفحه
شکل ۱-۱	ساختار s شکل هلیکوباکترپیلوری	۴
شکل ۱-۲	شیوع *H. pylori* در سنین گوناگون	۷
شکل ۱-۳	مدل مولکولی آنزیم اوره‌آز هلیکوباکترپیلوری	۱۳
شکل ۱-۴	تنوع ژن *vacA*	۲۱
شکل ۱-۵	شمایی از ژنوم *H. pylori* سوش شماره‌ی ۲۶۶۹	۲۲
شکل ۱-۶	الگوی ژنتیکی برای نحوه‌ی پیدایش سرطان ردوه‌ی بزرگ	۳۱
شکل ۱-۷	مدل ارتباط بین التهاب سلّول‌های اپی‌تلیالی و آغاز تشکیل تومور در دستگاه گوارش	۳۲
شکل۲-۱	ناحیه‌ای از ژن *glmM*	۴۸
شکل۲-۲	ناحیه‌ای از ژن *cagA*	۴۸
شکل۳-۱	نتایج حاصل از استخراج DNA	۵۴
شکل۳-۲ و شکل۳-۳	شناسایی هلیکوباکترپیلوری در نمونه‌های بیوپسی کولون	۵۵ و ۵۶
شکل ۳-۴ و شکل ۳-۵	آنالیز ژن *cagA*	۵۷
شکل ۳-۶ و ۳-۷	آنالیز ژن *vacA*	۵۸

فهرست جدول‌ها

جدول ۱-۱	سیندروم‌های ارثی دستگاه گوارش	۲۷
جدول ۱-۲	میزان بقای بیماران و مقایسه‌ی مرحله‌بندی Dukes و TNM	۳۵
جدول ۲-۱	دستگاه‌های مورد استفاده	۳۸
جدول ۲-۲	مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *glmM*	۴۷
جدول۲-۳	مشخصات پرایمرهای مربوط به ژن *cagA*	۴۸
جدول ۲-۴	برنامه زمان حرارتی PCR	۵۱
جدول ۳-۱	درصد فراوانی *H. pylori* در مبتلایان به سرطان کولون	۵۹
جدول ۳-۲	نتایج بررسی آلودگی *H. pylori*	۶۰

بررسی ارتباط بین عفونت هلیکوباکترپیلوری و سرطان کولون

محمّدامین میری

یکی از متداول‌ترین عفونت‌های معدی- روده‌ای در سراسر جهان و عامل عمده‌ی التهاب معده، تحلیل مخاط معدی، زخم پپتیک و برخی شکل‌های سرطان معده، عفونت هلیکوباکترپیلوری است. ولی با این حال، تعداد کمی از افراد آلوده به این باکتری به عواقب شدید آن یعنی زخم پپتیک (خونریزی دهنده) و سرطان معده دچار می‌شوند. دو فاکتور مهم بیماری‌زایی هلیکوباکترپیلوری که بیش از همه توصیف شده‌اند، عبارتند از: محصول ژن وابسته به سایتوتوکسین (CagA) و سمّ واکوئله-کننده (VacA). CagA نقش مهمّی در هدایت پیام‌های سلولی، تغییرات ریخت‌شناسی قابل ملاحظه، تکثیر سلولی و آپوپتوزیس ایفا می‌کند. VacA نیز القای شکل‌گیری واکوئل‌ها در سلول‌های اپی‌تلیالی را سبب می‌شود. مطالعات اخیر، ارتباط بین عفونت (آلودگی) هلیکوباکترپیلوری و خطر ابتلا به سرطان کولون را نشان داده‌اند. با این حال، نتایج این مطالعات مورد بحث و اختلاف می‌باشد. هدف این مطالعه، ارزیابی ارتباط بین عفونت هلیکوباکترپیلوری و میزان خطر ابتلا به سرطان کولون در ایران است. نمونه‌های مورد استفاده در این بررسی که شامل ٤١ بیمار (٢٤ مرد، ١٧ زن) و ٤١ نمونه‌ی کنترل (٢٤ مرد، ١٧ زن) با سرطان کولون بودند، از آبان ماه ١٣٨٧ تا مرداد ١٣٨٨ خورشیدی جمع‌آوری شدند. نمونه‌های بیوپسی (بافت‌برداری) از مخاط کولون در حین اندوسکوپی جمع‌آوری گردیدند. تحلیل‌های آسیب‌شناسی، آدنوکارسینوم بودن همه‌ی نمونه‌های مبتلایان به سرطان کولون را تأیید نمودند. وجود مواد ژنتیکی هلیکوباکترپیلوری با شناسایی ژن *glmM* (*ureC*) با PCR تعیین شد. ما هم‌چنین تلاش خود را بر تعیین شیوع (فراوانی) وضعیت *cagA* و *vacA* در نمونه‌های *H. pylori* مثبت با استفاده از پرایمرهای اختصاصی معطوف نمودیم. *H. pylori* در ١٤ مورد (٣٤/١٪) از مبتلایان به سرطان کولون شناسایی گردید. *cagA* در ٤ مورد از ١٤ بیماری که هلیکوباکترپیلوری مثبت بودند، حضور داشت. از ١٤ نمونه‌ی کولون *glmM* مثبت، ٨ نمونه (٧٢/٥٪) ژنوتیپ توالی نشانه از *vacA* (s_1) را دارا بودند و ٦ نمونه (٢٧/٥٪) نیز زیرگونه‌ی s_2 را داشتند. آنالیزهای ناحیه‌ی میانی *vacA* نشان دادند که ٩ نمونه (٦٥٪) حاوی آلل m_1 و ٥ نمونه (٣٥٪) حاوی آلل m_2 بودند. از لحاظ آماری ارتباط معناداری بین عفونت *H. pylori* و سرطان کولون در این مطالعه وجود دارد (p: 0.0127). حضور *cagA* نیز با افزایش خطر ابتلا به سرطان کولون ارتباطی معنی‌دار داشت (p:0.04).

بنابراین، به نظر می‌رسد که عفونت (آلودگی) با هلیکوباکترپیلوری فاکتور مهمّی در پیشرفت سرطان کولون ایفا می‌کند. مطالعه‌ی بالینی بزرگتری با نمونه‌ی جمعیتی بزرگ‌تر به منظور بررسی ارتباط حقیقی عفونت هلیکوباکترپیلوری با سرطان کولون برای حمایت از شواهدی که *H. pylori* را به عنوان فاکتوری برای خطر ابتلا به سرطان کولون مطرح می‌کنند، الزامیست.

Abstract

Relationship between *Helicobacter pylori* and Colon Cancer

Mohammadamin Miri

Helicobacter pylori (*H. pylori*) infection is one of the most common gastrointestinal infections worldwide, and the main cause of chronic gastritis, gastric mucosal atrophy, peptic ulcer and some forms of gastric cancer. However, only a small number of infected individuals ever develop the more severe sequelae of peptic ulcer disease and gastric cancer. Two major virulence factors of *H. pylori* have been described: the cytotoxin-associated gene product (CagA) and the vacuolating toxin (VacA). CagA plays an important role in the induction of cellular signaling and elicits multiple significant morphological changes, proliferation and apoptosis. VacA induces the formation of intracellular vacuoles in epithelial cell lines. Recent studies have demonstrated the relationship between Helicobacter pylori infection and the risk of colon cancer. However, the results of these studies remain controversial. The aim of this study was to evaluate the relationship between colon cancer and Helicobacter pylori infection. From February 2009 to November 2009, 41 patients with colon cancer (24 male, 17 female) and 41 controls (24 male, 17 female) entered the study. The biopsy samples of colon mucosa were taken during colonoscopy. Pathology analysis confirmes adenocarcinoma in all colon cancer patients. The existence of genetic material of *H. pylori* was determined by detection of the *ureC* (*glmM*) gene by PCR. We also attempted to determine the prevalence of the *cagA* and *vacA* status among *H. pylori* positive specimens, using specific primers. *H. pylori* infection was noted 14 (34.1%) colon cancer patients. *cagA* was present in 4 (28%) of 14 *H. pylori* from colon cancer specimens. Of the 14 *glmM*-PCR positive Colonic specimens, 8 (72.5%) had the *vacA* signal sequence genotype s_1, and 6 (27.5%) had subtype s_2. vacA mid-region analysis revealed that 9 (65%) were *vacA* m_1 and 5 (35%) were m_2. There is a significant statistical correlation between *H. pylori* infection and colon cancer (*p*: 0.0127). The presence of *cagA* significantly associated with the increased risk of colon cancer too.

In conclusion, Helicobacter pylori infection appears to be an important factor in the development of colon cancer. A larger clinical study should be undertaken with a larger population sample to investigate the real meaning of correlations between *H. pylori* infection and colon cancer, supporting evidence for *H. pylori* as a factor on colon cancer risk.

فصل اوّل

مقدّمه

هلیکوباکترپیلوری (Helicobacter pylori)

۱-۱- تاریخچه

کشف هلیکوباکترپیلوری به عنوان عامل اصلی چندین بیماری گوارشی (معده و روده) که تصوّر می‌شد درباره‌ی آن‌ها اطّلاعات کاملی وجود دارد، بسیار تعجّب‌آور بود. هلیکوباکترپیلوری از شایع‌ترین عفونت‌های میکروبی است و گستره‌ای جهانی دارد. این باکتری را امروزه، عامل بسیاری از بیماری‌های گوارشی از جمله زخم گوارشی (Peptic Ulcer)، گاستریت، سرطان معده و لنفوم MALT[1] (لنفوم بافت لنفوئید وابسته به مخاط) به شمار می‌آورند. قریب به ۲۲٦ سال پیش در سال ۱۷۸٤ میلادی، بوچر (Bottcher) و بعد بیزوزرو (Bizzozero) در سال ۱۸۹۳ وجود ارگانیزم‌های مارپیچی را در معده‌ی پستانداران گزارش کردند. تا سال ۱۹۰۰ این مطلب توسّط دیگران نیز ثابت شد و سلومون (Salomon) نشان داد که باکتری-های مارپیچی که سگ‌ها و گربه‌ها را آلوده می‌کنند، می‌توانند به موش‌ها نیز منتقل شوند. این موضوع اخیراً در تکامل ایمنی-سازی در برابر هلیکوباکترها مورد توجّه واقع شده است. در سال ۱۹۰٦ برای نخستین بار این باکتری‌های مارپیچی توسّط کری‌نیتز (Kreinitz) در معده‌ی انسان دیده شد. در سال ۱۹۲٤ لوک و ست (Luck & Seth) دریافتند در معده‌ی انسان اوره‌آز به مقدار فراوان وجود دارد. در سال ۱۹۵۹ مشخّص گردید که با تجویز آنتی‌بیوتیک، فعّالیّت اوره‌آزی از بین می‌رود و در نتیجه منشأ این آنزیم، باکتری می‌باشد. به مدّت ٦۰ سال و تا قبل از زمانی که استیر (Steer, 1975) وجود باکتری را در سطح سلول‌های پوششی (اپی‌تلیال) مبتلایان به زخم معده توصیف نماید، توجّه کمتری به ارگانیسم‌های مارپیچی معده معطوف شده بود.

هلیکوباکترپیلوری (*H. pylori*) برای اوّلین بار در مرکز تحقیقات استرالیای غربی کشت داده شد. نخستین گزارش‌های این مرکز چندان امیدوارکننده نبود. فانگ (Fung) با استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی مشاهده کرده بود که باکتری‌ها به سلول‌های پوششی حمله نمی‌کنند و چنین نتیجه گرفت که این باکتری‌ها بیماری زا نیستند. به رغم این ریچارد وارن (Warren) روی این مسئله پافشاری می‌کرد و مشاهدات جالبی مبنی بر اینکه بسیاری از بیمارانی که التهاب یا زخم معده داشتند با ارگانیزم‌های مارپیچی شکل یا شبیه کامپیلوباکتر آلوده شده بودند، داشت. بنابراین مارشال (Mrashall) را ترغیب نمود تا از طریق آندوسکوپی، از بافت نمونه‌برداری کرده و با استفاده از تکنیک‌های مخصوص کشت کامپیلوباکتر که در آن

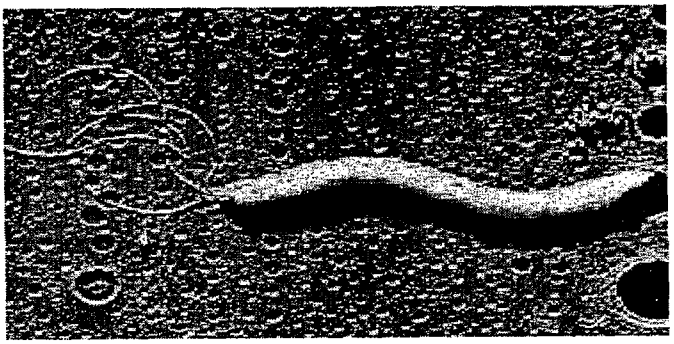
[1] Mocusal associate liymphoid tissue

زمان در دسترس بود، آن را کشت دهد. این کشت در مدّت معمولی ٤٨ ساعت منفی بود. نخستین کشت مثبت هنگامی رخ داد که محیط کشت باکتری که از سی‌وپنجمین نمونه‌ی بافت تهیّه شده بود، به علّت تعطیلات آوریل ۱۹۸۲، به مدّت پنج روز در گرمخانه (انکوباتور) مانده بود؛ که نشان می‌داد برای کشت این باکتری زمان زیادتری لازم است. آن‌ها از آن باکتری میکروگراف تهیّه نمودند که معلوم شد باکتری مجهّز به تاژک است که بیشتر در نوع فعّال گاستریت و به ویژه در بیماران مبتلا به زخم دوازدهه دیده می‌شود. مارشال، وارن و همسرش همگام با آقای موریس (Morris) در نیوزیلند نخستین افرادی بودند که برای دانستن اینکه آیا این باکتری واقعاً در انسان التهاب ایجاد می‌کند یا نه، باکتری را به شکل سوسپانسیون خوردند و مدّتی بعد چند نفرشان ناراحتی گوارشی پیدا کردند که با تجویز داروهای ضدّ باکتری بهبود یافتند. کشت باکتری از نمونه‌های برداشتی از معده‌ی این‌ها مثبت گزارش شد و این جوابی روشن به سؤالات مجهول آنان در رابطه با بیماری‌زایی این باکتری را فراهم آورد. در سال ۱۹۸٤ ستون (Stone)، رولاسون (Rollason) و رادز (Rhooes) از یک بیمارستان در بیرمنگام و استیر ار بیمارستان ساوتمپون نیز گزارش کردند که بیماران مبتلا به التهاب و یا زخم معده، بیشتر از گروه کنترل سالم، به باکتری مارپیچی آلوده بودند. بنابراین این سه گروه مطالعه بدون هیچ‌گونه ارتباطی با یکدیگر، رابطه‌ی این باکتری با این بیماری را ثابت کردند. مارشال تصوّر می‌کرد که باکتری جدید یک کامپیلوباکتر است که در ناحیه‌ی دهانه‌ی معده دیده می‌شود و به همین سبب آن را " کامپیلوباکتر پیلوریدیس" نامید (Marshall *et al*, 1984). سپس با توجّه به دستور زبان، پیلوریدیس به پیلوری اصلاح (Marshall and Goodwin, 1987) و زمانی که فهمیدند RNA ریبوزومی 16S این باکتری مشخّصه‌ای شبیه به RNA ریبوزومی 16S کامپیلوباکتر ندارد، کلمه‌ی کامپیلوباکتر به " هلیکوباکتر " تغییر نام یافت و بدین‌ترتیب گونه‌ای جدید کشف گردید (Goodwin *et al*, 1989).

مارشال و وارن در سال ۲۰۰۲ با چاپ کتابی که در کنگره‌ی جهانی گاستروانترولوژی بانکوک به مدعوین هدیه می‌شد، سرگذشت فعّالیت‌های دانشمندان مختلف از قرن ۱۹ تا سالی که خود موفّق به اثبات رابطه‌ی این باکتری با زخم پپتیک شدند را بازگو کرده‌اند.

۱-۲- ویژگی‌های میکروب‌شناسی

H. pylori یک باسیل گرم منفی کم‌هوازی (میکروآئروفیلیک[۲]) حلقوی یا مارپیچی است. این باکتری پر توجّه، در بافت خمیده (S شکل) و در محیط کشت ترجیحاً میله ای می باشد. این ارگانیسم میکروآئروفیلیک با متابولیسم هوازی است و اگر رطوبت بالایی وجود داشته باشد در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد و در گرمخانه های استاندارد CO_2 رشد می کند؛ بسته به نوع محیط کشت، این باکتری در محدوده‌ی pH ۵/۵ تا ۸/۵ و به‌طور بهتر در pH ٦/۹ و ۸ رشد خواهد کرد (Goodwin *et al*, 1989). ۲ تا ٤ میکرون طول و ۵/. تا ۹/. میکرون پهنا دارد (شکل ۱-۱). این باکتری متحرک و دارای ٦-٤ تاژک در یک قطب بوده (Lophotrichate) و نوک تاژک ها دگمه مانند است: فیلامنت‌های محوری وجود ندارند.



شکل ۱-۱- هلیکوباکترپیلوری با ساختار S شکل به همراه فلاژل های غلاف دار (گرفته شده از www.ncbi.com).

این باکتری به طور فعّال متحرک (با ماهیت پیچ متّه ای[۳]) می باشد، بدون اسپور است و در معرض هوا به صورت اجسام کوکسوئید[٤] در می‌آید. بعضی از محقّقین تصوّر می‌کنند که فرم کوکوئیدی، شکل مرده‌ی باکتریست در حالی که برخی دیگر بر این باورند که این شکل غیرفعّال باکتری مثلاً در مدفوع بوده و می‌تواند مسئول انتقال دهانی- مدفوعی در بین انسان‌ها باشند. سوش های هلیکوباکترپیلوری ویژگی هایی دارند که آن ها را از گونه های کمپیلوباکتر متمایز می سازد. ارگانیسم‌های جنس کمپیلوباکتر، یک فلاژله‌ی قطبی دارند. دیواره‌ی سلولی کمپیلوباکتر ژوژونی ظاهری چروکیده دارد امّا در هلیکوباکترپیلوری، صاف بوده و حاوی اسیدهای چرب غیر متعارف (شامل: تترادکانوئیک اسید، ۱۹- کربن سیکلوپروپان و هگزا و اکتادکانوئیک اسید) می‌باشد. سایر خصوصیّات این ارگانیسم که آن را از گونه های کمپیلوباکتر متمایز می‌سازد، داشتن فعّالیت بالای آنزیمی اوره‌آز و کاتالاز و فقدان کوئینون تنفّسی یا مناکوئینون -٦- متیله[۵] می‌باشد. کلونی‌های هلیکوباکترپیلوری

---

[۲] نیازمند ۵ درصد اکسیژن

[۳] Corkscrew

[٤] Coccoid bodies

[۵] Termoplasma quinines

از کشت نخستین در آگار خون‌دار در درجه حرارت c ۳۷°، معمولاً پس از ۳ تا ۵ روز هویدا می‌شوند و از لحاظ ظاهری گرد، محدّب و شفّاف هستند. مطالعات تاژک باکتری توسّط میکروسکوپ الکترونی نشان می‌دهد که این تاژک‌ها به‌وسیله‌ی لایه‌ای پیوسته به اجزای غشای خارجی دیواره‌ی سلولی پوشیده می‌شود (Jones *et al*,1985). تاژک‌ها تقریباً ۳۰nm قطر و دارای فیلامانی در حدود ۱۲ تا ۱۵ نانومتر می‌باشند. *H. pylori* یک لایه‌ی خارجی غنی از گلیکوکالیکس یا پلی‌ساکارید دارد که ظاهراً در باکتری موجود در بدن، ضخیم‌تر از باکتری کشت داده شده است. این باکتری همان ساختار دیواره‌ی سلّولی باکتری‌های gr⁻ را دارند. هلیکوباکترپیلوری، حدّاقل ٤ پروتئین غشای خارجی در محدوده‌ی ٤٨ تا ٦٧ کیلودالتونی دارد که توانایی ایجاد منافذی را دارند که هر کدام برای سوبسترایی خاص اختصاصی می‌باشند (Exner *et al*, 1995). لیپوپلی-ساکاریدهای این باکتری نیز ساختاری غیرمعمول دارند که به سبب ترکیب اسیدهای چرب است که قسمت آبگریز لیپید A را با حضور ۳- هیدروکسی اکتادکانوئیک اسید تشکیل می‌دهند. لیپید A هلیکوباکترپیلوری به نظر می‌رسد فعّالیّت زیستی کمتری نسبت به لیپوپلی‌ساکاریدهای سایر باکتری‌های روده‌ای دیگر داشته باشد (Moran et al, 1995).

۱-۳- همه‌گیر شناسی (اپیدمیولوژی)

۱-۳-۱- میزان شیوع عفونت

با توجّه به اینکه عفونت هلیکوباکترپیلوری شایع‌ترین بیماری باکتریال معدی- روده‌ای در سرتاسر جهان می‌باشد به نظر می‌رسد که تمام جوامع را کم‌وبیش آلوده کرده است (Heatley, 2002). این عفونت در ۹۵٪ از مبتلایان به زخم دوازدهه و در ۷۰- ۸۰٪ از بیماران مبتلا به زخم معده دیده شده است. تقریباً ۱۷٪ از افراد هلیکوباکترپیلوری مثبت به زخم معده مبتلا می‌شوند و هر ساله ۱ الی ۲ درصد از این افراد دچار خونریزی، سوراخ‌شدگی و یا انسداد خروجی معده می‌شوند. در سوءهاضمه بدون زخم (NUD)[٦] حدود ۵۰٪ از بیماران به *H. Pylori* آلوده‌اند. افراد آلوده به هلیکوباکترپیلوری حدّاقل ٤ برابر بیشتر از دیگر افراد در معرض زخم‌های گوارشی‌اند (Mauch F *et al*, 1993). خطر سرطان معده‌ی مرتبط با این باکتری در کشورهای صنعتی (توسعه یافته)، ۷۰٪ و در کشورهای در حال توسعه، ۸۰٪ تخمین زده شده است. اخیراً بیان شده است که بین

[٦] Non- Ulcer Dyspepcia

هلیکوباکترپیلوری و بیماری کرونر قلب (Coronary Artery Disease) ارتباطی وجود دارد ولی مطالعات آینده‌نگر نیز باید آن را تأیید نمایند (Mendall MA *et al*, 1994).

در افراد مبتلا به *H. pylori* زمان رویارویی و منبع آلودگی معمولاً مشخّص نمی‌باشد. این عفونت در اغلب افراد آلوده، خاموش و بی‌صدا بوده که سبب گاستریت سطحی می‌شود و برای سال‌ها تداوم یافته و منجر به التهاب مزمن می‌گردد. در کشورهای در حال توسعه، باکتری در اوایل کودکی فرد را آلوده می‌سازد به‌طوری که میزان آن تا ۱۰ سالگی ۵۰- ۶۰٪ و در بزرگسالی تا ۹۰٪ هم می‌رسد. بر خلاف این روند در کشورهای توسعه یافته، میزان عفونت نزد کودکان بسیار کم است ولی با افزایش سن شیوع تدریجی دارد به‌طوری که میزان آن تا ۲۰ سالگی به ۲۰- ۳۰٪ و تا ۶۰ سالگی به ۵۰٪ می‌رسد.

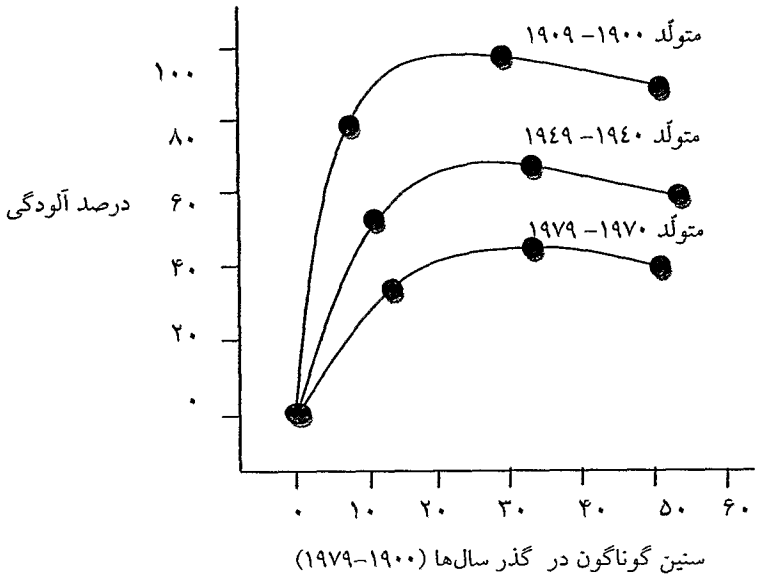
۱-۳-۱- ۱ عوامل خطر (Risk Factors) آلودگی با هلیکوباکترپیلوری

سن: بسیاری از تحقیقات بر کسب عفونت در دوران کودکی دلالت دارند. این اطّلاعات از مطالعه‌ی افراد در طول مدّت زمان طولانی به‌دست می‌آیند. نتایج حاصل از این نوع مطالعات که اغلب تحت اثر کوهورت (Cohort effect) توصیف می‌شوند، در تفسیر مطالعات مقطعی مورد استفاده قرار می‌گیرند که بدین‌ترتیب نمایانگر افزایش شیوع میزان مثبت بودن سرمی با افزایش سن می‌باشد. اثر کوهورت بیان می‌دارد که شیوع عفونت *H. pylori* همراه با سن افزایش می‌یابد. در جوامع غربی، سالانه ۱٪ جمعیّت به این عفونت مبتلا می‌شوند. مطالعات کوهورت در بالغین نشان می‌دهد که کسب عفونت در آن‌ها در دهه‌های اخیر، تقریباً ۳٪ تا ۵٪ در هر ۱۰۰ نفر در سال است. علّت وجود این اختلاف در این است که شیوع عفونت به این باکتری در غرب رو به کاهش است. در تمام گروه‌های سنّی درصد ابتلای جمعیّت نسبت به ۲۰ سال قبل کاهش داشته است (شکل ۱-۲).

با دقّت در منحنی‌های صفحه‌ی بعد (شکل ۱-۲)، درمی‌یابیم که میزان شیوع در سن ۵۰ سالگی به بعد معمولاً ثابت بوده و تقریباً به صورت خطّی (افقی) درمی‌آید. دلیل احتمالی آن، شاید گسترش آتروفی معده و متعاقباً متاپلازی بافت روده‌ای در قسمتی از مخاط باشد که قبلاً ملتهب بوده است (Heatley V. *et al*, 2000).

پارسونت (Parsonnet) و همکاران (۱۹۹۲)، دریافتند که عفونت هلیکوباکترپیلوری در سنین بالای ۳۰ سال از ۴۳٪ در سال‌های ۱۹۶۹ تا ۱۹۷۱ به ۲۱٪ در سال‌های کنونی کاهش یافته است. بنابراین شیوع بیشتر آلودگی در افراد پیرتر ناشی از

اثر کوهورت می‌باشد. به بیان دیگر، بالاتر بودن آلودگی در افراد مسن‌تر به این علّت است که آن‌ها در زمانی می‌زیستند که این باکتری شایع‌تر از زمان کنونی بوده است. این افراد ظاهراً در زمان کودکی به این عفونت آلوده شده‌اند؛ وضعیتی که هم‌اکنون در کشورهای در حال توسعه دیده می‌شود.



شکل۱–۲– شیوع *H. pylori* در سنین گوناگون در کشورهای غربی در گذشته و حال، گرفته شده از Calam, 1998.

میزان تحصیلات، درآمد و وضعیت زندگی: مطالعات گوناگون نشان می‌دهند که آلودگی به *H. pylori* در بین گروه‌هایی که میزان تحصیلات و سطح درآمد پایین‌تری دارند، فراگیرتر است. کالام و همکاران نشان دادند که آلودگی به این باکتری عمدتاً به چگونگی وضع زندگی فرد در کودکی دارد تا وضعیّت اقتصادی و اجتماعی کنونی‌اش. افرادی که در بستر مشترک می‌خوابیدند، با اینکه وضع زندگیشان را اصلاح کردند و در حین بررسی درآمد خوبی داشتند دو برابر افرادی که در رختخواب شخصی می‌خوابیدند به این باکتری آلوده شده بودند (Calam *et al*, 2000).

گروه خونی: از جمله گیرنده‌های بافت پوششی، آنتی‌ژن‌های گروه خونی O هستند که هلیکوباکترپیلوری به واسطه این گیرنده‌ها به سطح سلول‌های اپیتلیال متصل می‌گردد. بیشتر بودن شیوع زخم‌های گوارشی در افراد دارای گروه خونی O نسبت به سایر افراد ممکن است به علت وجود آنتی‌ژن‌های گروه خونی O در سطح سلول های اپیتلیال این افراد و اتصال بهتر هلیکوباکترپیلوری به بافت پوششی معده در این افراد باشد و لذا آسیب سلول‌های اپیتلیال در این افراد شدیدتر است

(Segal et al, 1996). گرچه برخی مطالعات به عدم چنین ارتباطی اشاره نموده‌اند (Hook and Nikdanne, 1990 و Loffeld and Stobberingh, 1991).

نژاد: در ایالات متّحده، افراد بالغ سالم نژاد Hispanic و افراد سیاه‌پوست، شاخص‌های مثبت سرمی چند برابر افراد سفیدپوست غیر Hispanic داشتند (Graham *et al*, 1991). در مطالعه‌ای مشابهی که توسّط Smoak و همکاران در سال ۱۹۹٤ انجام گرفت پس از تعدیل درآمد، نژاد هم‌چنان به عنوان یک عامل خطر باقی ماند؛ با این حال، عوامل اقتصادی-اجتماعی و یا تحصیلات در طیّ دوران کودکی، ممکن است بیش از خصوصیّات نژادی از متغیّرهای زمینه‌ای باشد.

جنس (Gender): بر اساس مطالعات انجام شده، در خصوص افزایش آلودگی در یک جنس خاص اتّفاق نظر وجود ندارد. در برخی مطالعات میزان شیوع آلودگی در هر دو جنس یکسان (Eurogast group, 1993) و در برخی دیگر میزان آلودگی در زنان بیشتر از مردان گزارش شده است (Smoak *et al*, 1996).

شغل: در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۲ صورت گرفته، مثبت بودن سرمی هلیکوباکترپیلوری در کارکنان نیروی زیردریایی از سایر گروه‌های نظامی بیشتر بود (Hammermeister et al, 1992). هم‌چنین در افرادی که در بخش‌های گوارش کار می-کنند، افزایش مثبت بودن سرمی از لحاظ *H. pylori* مشاهده شده است (Mitchell *et al*, 1989).

۱-۳-۱-۲- منابع آلودگی

منابع انسانی:

در دستگاه گوارش، لایه‌ی مخاطی پوششی معده‌ی انسان، به‌ویژه آنتروم محلّ استقرار اصلی *H. pylori* می‌باشد. در حفره‌ی دهانی، *H. pylori* از بزاق و گاهی اوقات از پلاک دندان نیز جدا شده است (Krajden *et al*, 1988). با این‌حال جستجوی این باکتری در حفره‌ی دهان مشکل است. مدفوع که یکی دیگر از منابع بالقوه‌ی باکتری می‌باشد؛ در سال ۱۹۹۲ توماس و همکارانش هلیکوباکترپیلوری را با موفّقیّت از مدفوع کودکان گامبین[۷] جدا نمودند. با این وجود برخی محقّقین نتیجه‌گیری کردند که *H. pylori* دفع[۸] اساسی در مدفوع ندارد (Vanzwet *et al*, 1994). منبع دیگر انسانی خون می‌باشد. در سال

---

۷ Gambian children
۸ Shedding