بررسی ارتباط حضور ژن glmM هلیکوباکتر پیلوری و نوسانات سرمی آنتی بادی‌های IgA و IgG در افراد مبتلا به عفونت

آیت مرادی پور[۱]، عبدالرزاق مرزبان[۲]، مریم کارخانه[۳]، حامد اسمعیل لشگریان[۴*]

۱- باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد اهر، دانشگاه آزاد اسلامی، اهر، ایران

۲- استادیار، مرکز تحقیقات داروهای گیاهی رازی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۳- گروه آموزشی بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

۴- استادیار، گروه آموزشی بیوتکنولوژی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی لرستان، خرم آباد، ایران

یافته / دوره ۲۲ / شماره ۴ / زمستان ۹۹ / مسلسل ۸۶

چکیده

دریافت مقاله: ۹۹/۸/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۹/۹/۲۴

مقدمه: شیوع بالای عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در جهان به خصوص در کشورهای جهان سوم و نقش آن در بدخیمی‌های معده و پیدایش مقاومت آنتی بیوتیک باعث شده است که روش‌های درمانی و پیشگیری مختلفی علیه عفونت پیشنهاد گردد. glmM ژن کدکننده فسفوگلوکز آمین موتاز است که می‌توان در شناسایی مولکولی *هلیکوباکتر پیلوری* استفاده نمود . هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط بین حضور *هلیکو باکتری* در مدفوع و تیتر آنتی بادی های سرمی IgA و IgG می باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه که به صورت مورد - شاهدی انجام گرفت ۴۲ نفر بیمار به عنوان گروه مورد و ۴۲ از افراد سالم در گروه شاهد مورد بررسی قرار گرفتند. از تمام افراد هر دو گروه سالم و بیمار، نمونه‌های خون و مدفوع دریافت و از سرم نمونه‌های خون به کمک کیت‌های الایزا تیتراسیون آنتی بادی‌های IgA و IgG اندازه‌گیری گردید. از نمونه‌های مدفوع DNA استخراج و از تکنیک PCR برای بررسی حضور ژن *glmM* استفاده شد و نتایج حاصله با کمک نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ تحلیل گردید.

یافته‌ها: در بررسی اولیه از نظر میزان آنتی بادی‌ها در سرم خون افراد تقریباً در خون ۸۶٪ از افراد گروه مورد IgA و IgG ضد میکروبی به صورت هم زمان مشاهده شد و این در حالی بود که در گروه شاهد میزان آنتی بادی ها در سرم به ۵۹/۹٪ رسید. نتایج حاصل از PCR نیز نشان داد که در گروه مورد از ۴۲ نفر ۲۰ نفر دارای ژن *glmM* بودند و در گروه شاهد هیچ نمونه مثبتی از نظر این ژن وجود نداشت.

بحث و نتیجه‌گیری: در این تحقیق سعی شد که ارتباط بین تیتر آنتی بادی های IgA و IgG سرمی با وجود هلیکوباکتر در مدفوع بررسی شود. اگرچه نیمی از افراد گروه مورد از نظر وجود ژن glmM هلیکوباکتر مثبت بودند ولی آنالیز آماری ارتباط بین تیتر آنتی بادی های فوق با وجود هلیکوباکتر در مدفوع را تایید نکرد. به طور کلی می توان پیشنهاد نمود که با مطالعه بیشتر و افزایش حجم نمونه، همچنین روش های تشخیصی مکمل ارتباط بین تیتر آنتی بادی های فوق و وجود هلیکوباکتر پیلوری در مدفوع مورد بررسی قرار داد.

واژه‌های کلیدی: IgA، IgG، glmM، هلیکوباکتر پیلوری، عفونت

*آدرس مکاتبه: خرم آباد، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده پزشکی.

پست الکترونیک: hamedesmaiili@gmail.com

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری، باسیل گرم منفی، مارپیچ و متحرک است که عامل اصلی گاستریت، زخم‌های پپتیک و سرطان معده و لنف‌های سلول‌های نوع B مرتبط با مخاط معده (Mucosal associated lymphoid tissue:MALT) محسوب می‌شود (۲،۱). امروزه کنترل عفونت ناشی از این باکتری نظر محققین زیادی را به خود جلب کرده است. شیوع بالای عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در جهان و به خصوص در کشورهای جهان سوم و نقش آن در بدخیمی‌های معده و پیدایش مقاومت آنتی بیوتیک باعث شده است که روش‌های درمانی و پیشگیری مختلفی علیه عفونت پیشنهاد گردد (۳،۴).

با توجه به نتایج حاصل از مطالعات قبلی در مورد شناسایی و بررسی انواع بیماری‌های ذکر شده در رابطه با عفونت هلیکوباکتر پیلوری، بررسی میزان شیوع این باکتری در یک منطقه جغرافیایی خاص از اهمیت بالایی برخوردار است و کمک زیادی به کنترل و پیشگیری از عفونت خواهد نمود (۵). تا کنون تکنیک‌های مختلفی برای شناسایی و غربالگری افراد آلوده به *هلیکوباکتر پیلوری* از قبیل تکنیک‌های تهاجمی و غیر تهاجمی ارائه شده است و در این بین تکنیک‌های مبتنی بر PCR و تیتراسیون آنتی بادی‌های اختصاصی ضد *هلیکوباکتر پیلوری* در خون افراد دارای حساسیت و دقت بالایی نسبت به سایر روش‌های موجود در تشخیص عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* می‌باشند (۶-۸).

در جریان مکانیسم‌های دفاعی توسط سیستم ایمنی هومورال، مجریان اصلی در این دفاع، آنتی بادی‌های موضعی و سپس سیستمیک هستند که همان آنتی بادی‌های IgM، IgA و IgG می‌باشند (۷،۹). بررسی‌های آسیب شناسی بافتی از نمونه‌های بیوپسی معده مبتلایان به عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* که بهبود یافته‌اند، وجود تعداد اندکی از سلول‌های تک هسته‌ای لنفوسیتی را نشان می‌دهد که با حضور IgA ترشحی در محتویات معده همخوانی دارد و دلیلی بر نقش حفاظتی ایمنی هومورال است (۹).

IgM سرمی، اولین آنتی بادی است که در گردش خون بیانگر بروز عفونت حاد اولیه و جدی است و حضور اشکال سیستمیک و ترشحی IgG نیز دال بر نفوذ ارگانیسم در سطوح زیرین اپی تلیال است. این آنتی بادی-های ذکر شده به وسیله آزمایش‌های سرولوژیک از جمله تکنیک الایزا قابل اندازه‌گیری و شناسایی هستند (۱۰). یکی از ژن‌های مهم در *هلیکوباکتر پیلوری* ژن glmM می باشد که کدکننده فسفوگلوکوآمین موتاز است. آنزیم فسفوگلوآمین موتاز باعث تبدیل ایزوفرم گلوکز آمین ۶-فسفات به گلوکز آمین ۱-فسفات می‌شود.

این آنزیم در مسیر سنتز لیپوپلی ساکارید و پپتیدوگلیکان باکتری ضروری است. مطالعات نشان داده‌اند که این آنزیم برای رشد و بقای *هلیکوباکتر پیلوری* نقش اصلی را ایفا می‌کند. نام دیگر این ژن، ureC است و در باکس اوره قرار دارد اما نام glmM برای این ژن رایج‌تر است چرا که فسفوگلوکوموتاز ارتباطی به تولید اوره آز ندارد (۱۱).

حال با توجه به اهمیت شیوع آلودگی *هلیکوباکتر پیلوری*، ما برآن شدیم تا با طراحی این مطالعه به بررسی میزان حضور آنتی بادی‌های IgG و IgA سرمی در افراد مبتلا به عفونت و ارتباط آن با وجود *هلیکوباکتر پیلوری* در مدفوع از طریق شناسایی آن با ژن glmM به روش مولکولی در افراد مراجعه‌کننده به آزمایشگاه ابن سینا واقع در شهر ایلام بپردازیم تا شاید نتایج حاصل از این پژوهش نقشی در تخمین میزان شیوع عفونت و مدیریت کنترل عفونت ناشی از *هلیکوباکتر پیلوری* در سطح شهرستان داشته باشد.

مواد و روش‌ها

جمعیت مورد مطالعه

در این مطالعه که به صورت مورد - شاهدی انجام گرفت، گروه مورد ۴۲ نفر و گروه شاهد نیز ۴۲ نفر را

شامل می‌شوند که از هر دو گروه نمونه‌های خون و مدفوع دریافت شد. فرم رضایت‌نامه مشارکت داوطلبانه در طرح تحقیقاتی نیز توسط بیماران و افراد سالم تکمیل شد.

آزمایش تأیید وجود عفونت در این مطالعه، بررسی حضور ژن ۱۶srRNA به کمک PCR و آزمایش HPSA یا آنتی ژن مدفوعی *هلیکوباکتر پیلوری* مثبت بود. قبل از جمع‌آوری نمونه‌های خون و مدفوع، پرسش‌نامه تنظیم شده که حاوی سؤالاتی در خصوص میزان تحصیلات فردی و جنسیتی و دلایل مراجعه به آزمایشگاه بود که به افراد مورد مطالعه در هر دو گروه مورد و شاهد داده شد و پس از تکمیل آن از نمونه‌های دریافتی در مطالعه استفاده شد.

سنجش میزان آنتی بادی‌های سرمی

پس از انتقال نمونه‌های خون مورد مطالعه به آزمایشگاه از نمونه‌های خون، سرم به کمک سانتریفیوژ در دور rpm ۴۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه جدا شد و به روش ELISA غیر مستقیم به کمک کیت‌های الایزا شرکت Euroimmuno تیتراسیون آنتی بادی‌های IgA و IgG ضد *هلیکوباکتر* اندازه‌گیری گردید.

بعد از آماده‌سازی محلول‌های استاندارد و رقیق‌سازی نمونه‌های سرم به کمک محلول رقیق‌کننده کیت به نسبت ۱:۱۰۱ دو چاهک را به عنوان نمونه استاندارد و چاهک کنترل مثبت انتخاب کردیم و درون سایر چاهک‌ها به میزان ۱۰۰ میکرولیتر سرم خون افراد مورد مطالعه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون انجام گرفت. پس از این مرحله محتویات چاهک‌ها خالی و ۵ مرتبه به کمک بافر PBS چاهک‌ها شستشو داده شد. در ادامه به میزان ۱۰۰ میکرولیتر آنزیم کانژوگه به درون هر چاهک اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوباسیون انجام گرفت. مانند مرحله قبل بعد از انجام انکوباسیون محتویات چاهک‌ها دوباره خالی شد و پنج مرتبه با بافر PBS شستشو انجام گرفت. پس از این مراحل ۱۰۰ میکرولیتر محلول رنگزا TMB به درون هر چاهک اضافه شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق در شرایط تاریکی انکوباسیون انجام گرفت و در آخر برای متوقف-سازی واکنش‌های شیمیایی محلول متوقف‌کننده کیت به درون هر چاهک اضافه گردید سپس به کمک دستگاه خوانش جذب نوری هر چاهک در طول موج ۴۵۰ نانومتر بررسی شد.

روش استخراج DNA

در این مطالعه از تمام نمونه‌های مدفوع، استخراج DNA به کمک کیت استخراج DNA خریداری شده از شرکت سینا ژن انجام گرفت. مراحل استخراج DNA مطابق با پروتکل کیت و به شرح زیر بود:

۱- مقدار ۱گرم از نمونه مدفوع به همراه ۴۰۰ میکرولیتر از محلول کیت سیناکلون به همراه ۳۰۰ میکرولیتر الکل ایزوپروپانول در میکروتیوپ ۱/۵ وارد و پس از ۲۰ ثانیه ورتکس در دمای ۲۰- به مدت ۲۰ دقیقه انکوبه شد. ۲- تیوپ به مدت ۵ دقیقه در دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی بدون خروج نمونه ته‌نشین شده خارج گردید. ۳-۱ میلی لیتر الکل ۷۵٪ وارد تیوپ و سپس سانتریفیوژ در دور rpm ۱۲۰۰۰ به مدت ۵ دقیقه انجام شد. مایع رویی خارج گردید. این مرحله به صورت ۲ بار تکرار انجام گردید. ۴- پس از خروج مایع الکلی، تیوپ ۲ دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتی گراد نگهداری شد و به میزان ۶۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی اضافه و به مدت ۳۵ ثانیه در دور rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس کیفیت و کمیت نمونه استخراج شده با دستگاه نانودراپ (Thermoscientific, USA) بررسی گردید.

روش انجام PCR

در انجام واکنش زنجیره پلیمراز برای بررسی حضور یا نبود ژن glmM *هلیکوباکتر پیلوری*، پرایمر اختصاصی برای این ژن به کمک نرم افزار IDALLEL طراحی و بلست گردید (جدول۲). مجموعه ای از آزمایشات اولیه جهت

طراحی برنامه دمایی PCR انجام شد (جدول۳). انجام تکنیک PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت اپندورف آلمان با شرایط دمایی مشخص تکثیر و DNA هدف در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر، شامل ۱۲ میکرولیتر از مسترمیکس آماده شرکت Ampliqone کشور فنلاند، ۷ میکرولیتر آب دو بار تقطیر استریل، ۱/۵ میکرولیتر از هر کدام از پرایمرهای مستقیم و معکوس و در پایان ۳ میکرولیتر از DNA الگو یا همان DNA استخراج شده از نمونه‌های مدفوع بود که در میکروتیوپ-هایی با حجم ۰/۲ میلی لیتر ریخته شد و پس از مخلوط کردن کوتاهی در ورتکس، درون دستگاه ترموسایکلر قرار گرفت.

جدول ۱. توالی یک جفت پرایمر مورد استفاده برای ژن glmM

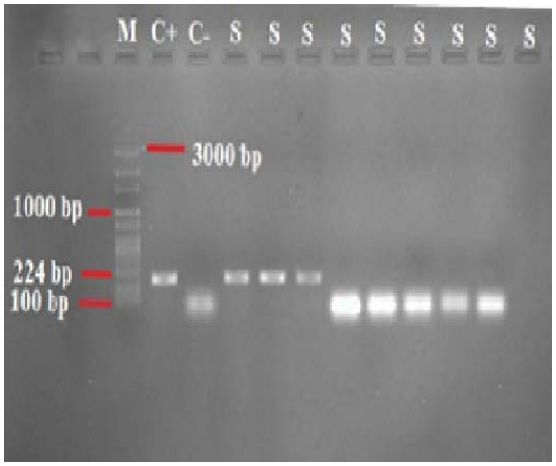
توالی پرایمر رشته Forward	۵′- AACAGGACAAGTAGCTAGCC-۳′
توالی پرایمر رشته Reverse	۵′- TATTAATGCGTGTGTGGCTG-۳′
طول باند محصول PCR	۲۲٤ bp

جدول ۲. برنامه دستگاه ترموسایکلر برای انجام PCR ژن glmM

Thermocycler program	دما	زمان	سیکل
Hot start	۹٤°c	۵ دقیقه	۱
Denaturation	۹٤°c	۱ دقیقه	۳۰
Annealing	۵۱°c	۱ دقیقه	
Extension	۷۲°c	۱ دقیقه	
Final Extension	۷۲°c	۱۰ دقیقه	۱

الکتروفورز

پس از انجام تکنیک PCR برای تأیید حضور ژن در محصول PCR از دستگاه الکتروفورز استفاده گردید به این ترتیب که ۴ میکرولیتر از محصول نهایی PCR درون چاهک‌های ایجاد شده در ژل آگارز ۱٪ حاوی رنگ ایمن که قبلاً در تانک الکتروفورز حاوی بافر TAE-1X غوطه‌ور شده بود قرار گرفت و به مدت ۵۰ دقیقه جریان الکتریسیته با ولتاژ ۹۰ از ژل حاوی محصول PCR عبور داده شد و در نهایت با کمک دستگاه ژل داک، ژل آگارز از نظر حضور ژن مورد نظر با طول باند ۲۲۴ جفت باز بررسی گردید (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر ژل آگارز حاوی باندهای ۲۲۴ جفت بازی حاصل از PCR ژن glmM از نمونه‌های DNA مدفوعی. M (مارکر)، C+ (کنترل مثبت)، C- (کنترل منفی)، S (نمونه‌ها).

تحلیل داده‌ها

نتایج حاصله با کمک نرم افزار آماری SPSS و آزمون ANOVA و کلوموگروف اسمیرنوف تحلیل شدند و برای بررسی ارتباط حضور ژن با میزان تیتر آنتی بادی‌ها از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده شد. در طول مقایسه داده‌ها ارزش p کمتر از ۰/۰۵ از لحاظ آماری معنی‌دار بود.

یافته‌ها

در این تحقیق حدود ۸۴ زن و مرد مطالعه گردیدند که به صورت خلاصه اطلاعات جنسی و سنی جامعه مورد مطالعه در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. توصیف جامعه مورد مطالعه از نظر سن و جنس

متغیرها	گروه شاهد		گروه مورد	
جنس	مرد	زن	مرد	زن
تعداد	۱۶	۲۶	۲۰	۲۲
میانگین سنی	۵۵	۴۷	۴۴	۴۲
میانگین سنی کلی گروه‌ها	۵۱		۴۳	

از لحاظ آماری پس از انجام آزمون ANOVA هیچ ارتباط معنی‌داری بین سن و جنس افراد مورد مطالعه با شیوع عفونت و تیتراسیون آنتی بادی‌های IgA و IgG و حضور ژن glmM در مدفوع مشاهده نشد (sig. >۰/۰۵).

بررسی فراوانی و میانگین آنتی بادی‌های سرمی

فراوانی افراد با نتایج مثبت برای آزمایش IgA و IgG، نشان می‌دهد که ۴۷/۵ درصد از افراد گروه مورد و ۲۵

درصد از افراد گروه شاهد دارای IgG بالاتر از میزان طبیعی بودند. در گروه مورد یا بیمار ۴۷/۵ درصد نیز دارای IgA و IgG توأم بالاتر از حد طبیعی بودند. در خصوص گروه شاهد ۱۲/۵ درصد دارای IgA بیش از حد طبیعی و ۳۵ درصد هم IgA و IgG توأم بالاتر از حد طبیعی داشتند (جدول ۴).

جدول ۴. فراوانی افراد با نتایج مثبت برای آزمایش IgA و IgG در افراد گروه مورد و شاهد

گروه های مورد مطالعه	شاهد		بیمار	
متغیر های مورد مطالعه	درصد	تعداد	درصد	تعداد
فقط IgA	۱۲/۵	۵	۰	۰
فقط IgG	۲۵	۱۰	۴۷/۵	۱۹
حضور همزمان IgA و IgG	۳۵	۱۴	۴۷/۵	۱۹

بررسی‌ها برای تعیین حضور ژن glmM *هلیکوباکترپیلوری* در DNA استخراج شده به کمک PCR نشان داد که در گروه بیماران از ۴۲ نفر ۲۰ نفر دارای ژن glmM بودند و در گروه شاهد هیچ نمونه مثبتی از نظر این ژن وجود نداشت.

آزمون واریانس یک طرفه و آزمون کروسکال والیس برای مقایسه داده‌های حاصل از آزمون‌های PCR و ELISA استفاده گردید و نشان داده شد که در میان متغیرهایی که در مطالعه وجود داشتند هیچ کدام با گروه PCR رابطه معنی‌داری نداشتند. در این آزمون به بررسی ارتباط میان متغیر وابسته یعنی ژن glmM با متغیرهای کمی اندازه‌گیری شده در تحقیق (IgG و IgA) پرداخته شد. با فرض معنی-داری $p < ۰/۰۵$ باتوجه به نتایج آزمون کروسکال والیس و رگرسیون لجستیک هیچ متغیری دارای رابطه معنی‌دار با ژن glmM نبود (جدول ۵ و جدول ۶).

جدول ۵ رابطه و میزان همبستگی ژن glmM با متغیرهای IgA و IgG

Group		IgA	IgG
ارتباط میزان سطح آنتی بادی‌های گروه مورد با حضور ژن glmM	تست کا-اسکوور	۵/۳۷۸	۰/۹۲۹
	درجه آزادی	۲	۲
	سطح معنی داری	۰/۰۶۸	۶

جدول ۶. رابطه و میزان همبستگی ژن glmM با متغیرهای IgA و IgG

متغیر	خطای استاندارد	درجه آزادی	سطح معنی داری
IgA	۰/۰۰۴	۱	۰/۰۲۵*
IgG	۰/۰۲۷	۱	۰/۱۸۹*
constant	۱/۲۲۸	۱	۰/۰۰۰*

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ۸۵/۷٪ از افراد گروه مورد و ۵۹/۵٪ از افراد گروه شاهد تیتر مثبت IgA و IgG را به صورت هم زمان داشتند و این در حالی بود که با وجود تفاوت در میان اندازه تیتراسیون‌های آنتی بادی در بین زنان و مردان هیچ رابطه معنی‌داری وجود نداشت. مقایسه میزان سطح سرمی آنتی بادی IgA و IgG در بین گروه‌های مطالعه شده در پژوهش از نظر تحصیلی نشان داد که تیتر آنتی بادی در گروه‌هایی با سطح تحصیلی پایین‌تر، بیشتر از گروه‌های دیگر با سطح تحصیلی بالاتر بود و این نتیجه در بسیاری از گزارشات حاصل از مطالعات قبلی به همین صورت تکرار شده و نشان‌دهنده این امر مهم است که سطح تحصیلات فردی و آگاهی افراد به مسائل بهداشت فردی و سبک زندگی به عنوان عامل مهمی در میزان شیوع عفونت است (۱۳،۱۲). موریرا و همکاران در سال ۲۰۰۴ در مطالعه‌ای نشان دادند که آموزش نقش مهمی در پیشگیری از عفونت *هلیکوباکتر پیلوری* در کودکان دارد (۱۴). هم راستا با این مطالعه، رابطه معکوس چشمگیری بین سطح تحصیلات و شیوع عفونت *هیکلوباکتر پیلوری* در مطالعه‌ای که توسط گراهام و همکاران انجام شد نیز مشاهده شد (۱۵).

یکی از متداول‌ترین راه‌های تشخیص عفونت *هلیکوباکترپیلوری* اندازه‌گیری سطح آنتی بادی‌های IgG و IgA ضد *هلیکوباکترپیلوری* در سرم بیماران مبتلا می‌باشد (۱۶) شیوع عفونت در کشورهای در حال توسعه بالا است و میزان مبتلایان به بیماری‌های حاد با منشأ *هلیکوباکتر پیلوری* مانند سرطان معده و زخم معده که دارای ژن های

ویـرولانس بـاکتری هسـتند حـدود ۱ تـا ۲ برابـر اسـت (۱۸،۱۷).

بر همین اساس ما بر آن شدیم که بـا بررسـی ارتبـاط بین میزان تیتراسیون آنتی بادی‌ها و حضور ژن ویـرولانس *هلیکوباکتر پیلوری* موجود در مدفوع در واقع یـک پـیش-آگهی از احتمال بروز بیماری‌های حاد و خطرناک در افـراد مبتلا به عفونت را بررسی کنیم که در نتیجه با انجام PCR و اندازه‌گیری تیتر آنتی بادی‌ها و تحلیل داده‌هـای حاصـل هیچ رابطه معنی‌داری بین سـطح آنتـی بـادی‌هـای IgA و IgG در خون و حضـور ژن glmM در مـدفوع دیـده نشـد. یکی از دلایل فقدان ارتباط ممکن اسـت بـه دلیـل تعـداد ناکافی از باکتری *هیلکوباکترپیلوری* در مدفوع و بـه دلیـل نوع نمونه باشد. هم جهت با نتایج حاصـل از ایـن مطالعـه، در مطالعه دیگری که از ژن glmM برای تشخیص بـاکتری در شیر گاو و گوشت خام بز استفاده شـد ارتبـاط معنـی-داری از نظر بررسی مولکـولی ژن glmM مشـاهده نشـد و یکی از دلایل تعداد باکتری ناکافی در ایـن نمونـه‌هـا بـود (۱۹). در مطالعه دیگری عامل تأثیرگذار دیگر ممکن است سیستم ایمنی میزبان باشد، با توجه به این که در برخی از افـراد عفونـت *هلیکوبـاکتر* منجـر بـه تیتـر پـایینی از ایمنوگلوبین می‌شود. حتی محتوای ژنتیکی و نوع سازوکار سیستم ایمنی افراد ممکن است باعث شـود کـه برخـی از افراد به سمت عفونت حاد و یا مزمن سوق پیدا کننـد. امـا قابل ذکر است که این امر نیاز به مطالعه بیشتر در سـطوح وسیع‌تر بـا حجـم نمونـه بـالا و بررسـی در موقعیـت‌هـای جغرافیایی مختلـف و نژادهـای مختلـف دارد تـا نتیجـه‌ای محکم‌تر و مستندتر حاصل شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از تمام همکاران و افرادی که در انجام این پژوهش ما را یاری رساندند کمال تشکر و سپاس را داریم.

References

1. Miftahussurur M, Yamaoka Y. Diagnostic methods of Helicobacter pylori infection for epidemiological studies: critical importance of indirect test validation. BioMed Res Int. 2016;2016:1-14.
2. Gomes CC, Gomez RS, Zina LG, Amaral FR. Recurrent aphthous stomatitis and Helicobacter pylori. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2016;21(2):e187-e191.
3. Moradipour A, Khosravi A, Piri F. Fecal Helicobacter pylori glmM and 16S rRNA genes correlate with serum TNF-α and IL-1β cytokine fluctuations. Acta Microbiol Imm H. 2018;65(4):489-499.
4. Alba C, Blanco A, Alarcón T. Antibiotic resistance in Helicobacter pylori. Curr opin infect dis. 2017;30(5):489-497.
5. Lu C, Yu Y, Li L, Yu C, Xu P. Systematic review of the relationship of Helicobacter pylori infection with geographical latitude, average annual temperature and average daily sunshine. BMC Gastroenterol. 2018;18(1):1-9.
6. Brennan DE, Omorogbe J, Hussey M, Tighe D, Holleran G, O'Morain C, et al. Molecular detection of Helicobacter pylori antibiotic resistance in stool vs biopsy samples. World J Gastroenterol. 2016;22(41):9214-9221.
7. Kamarehei F, Khabiri A, Saidijam M, Soleimani M, Alikhani MY. Designing a novel ELISA method based on CagA, NapA recombinant antigens to increase sensitivity and specificity of Helicobacter pylori whole cell antigen detection. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2018;11(4):333-342.
8. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SS, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection: Current options and developments. World J Gastroenterol. 2015;21(40):11221-11235.
9. Shams S, Vesali Jamshid Z, Shahbazi T, Hasani M, Shams E, Ragolia S. Comparison of serum IgG and IgA levels against Helicobacter Pylori in patients with gastrointestinal symptoms. Infect Epidemiol Microbiol. 2018;4(3):105-108.
10. Cherif MK, Ouédraogo O, Sanou GS, Diarra A, Ouédraogo A, Tiono A, et al. Antibody responses to P. falciparum blood stage antigens and incidence of clinical malaria in children living in endemic area in Burkina Faso. BMC Res Notes. 2017;10(1):1-10.
11. Quaglia N, Dambrosio A, Normanno G, Celano G. Evaluation of a Nested-PCR assay based on the phosphoglucosamine mutase gene (glmM) for the detection of Helicobacter pylori from raw milk. Food Control. 2009;20(2):119-123.
12. Talebi Bezmin Abadi A. Diagnosis of Helicobacter pylori using invasive and noninvasive approaches. J Pathog. 2018;9064952.
13. Moradipour A, Khosravi A, Mehrabi M, Faryadian S. Correlation of 16s rRNA with serum levels of the cytokines, TNF-α and IL-1β, in subjects with a positive Helicobacter pylori Stool Antigen test (HPSA). JBRMS. 2016;3(2):35-40.

14. Moreira E, Santos R, Nassri V, Reis A, Guerra A, Alcântara A, et al. Risk factors for Helicobacter pylori infection in children: is education a main determinant? Epidemiol Infect. 2004;132(2):327-335.
15. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, Evans DJ, Klein PD, Adam E. Epidemiology of Helicobacter pylori in an asymptomatic population in the United States: effect of age, race, and socioeconomic status. Gastroenterology. 1991;100(6):1495-1501.
16. Mentis A, Lehours P, Mégraud F. Epidemiology and Diagnosis of H elicobacter pylori infection. Helicobacter. 2015;20:1-7.
17. Raj P, Thompson JF, Pan DH. Helicobacter pylori serology testing is a useful diagnostic screening tool for symptomatic inner city children. Acta Paediatr. 2017;106(3):470-477.
18. Diab M, Shemis M, El-Ghannam M, Gamal D, Azmy M, Salem D, et al. Helicobacter pylori vacA genotyping in relation to cagA status, ultra-structure of gastric mucosa and clinical outcomes in Egyptian patients. Afr J Microbiol Res. 2016;10(14):465-472.
19. Quaglia N, Dambrosio A, Normanno G, Parisi A, Patrono R, Ranieri G, et al. High occurrence of Helicobacter pylori in raw goat, sheep and cow milk inferred by glmM gene: a risk of food-borne infection? Int J Food Microbiol. 2008;124(1):43-47.

Relationship between the presence of Helicobacter pylori glmM gene and serum fluctuations of IgG and IgA antibodies in infected individuals

Moradipour A[1], Marzban A[2], Karkhane M[3], Esmaeil Lashgarian H[4*]

1. Young Researchers and Elite Club, Ahar Branch, Islamic Azad University, Ahar, Iran.
2. Assistant professor, Razi Herbal Medicines Research Center, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.
3. Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran.
4. Assistant professor, Department of Medical Biotechnology, Faculty of Medicine, Lorestan University of Medical Sciences, Khorramabad, Iran, hamedesmaiili@gmail.com.

Received: *11 Nov 2020* Accepted: *14 Dec 2020*

Abstract

***Background*:** The high prevalence of *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection worldwide, especially in developing countries, and its role in gastric malignancies and the emergence of antibiotic resistance have led to proposing the different treatment and prevention methods against infection. HP associated GlmM gene is coding for Phosphoglucosamine mutase that considered for molecular detection of HP.

Materials and Methods: In this case-control study, blood and stool samples were obtained from studied population and the titers of IgG & IgA were measured by ELISA kits. DNA was extracted from stool samples and PCR was used to detect glmM gene. The results were analyzed by SPSS software.

Results: In initial study regarding of antibodies level in the blood serum, 86% of the subjects in the group showed antimicrobial IgA and IgG at the same time, while in the control group this amount was 59.9%. The results of PCR showed that in the case group, 20 out of 42 cases had glmM gene and in the control group there was no positive sample for this gene.

Conclusion: In this attempt, we tried to find a linkage between HP-associated virulence glmM gene and antibodies concentration through which probability of developing acute and severe state of disease in infected patients. The PCR and Ab titers associated results showed no significant relation between glmM gene of HP originated stool sample and serum concentration of IgG and IgA in patients who suffered from HP infection.

Keywords: *Helicobacter pylori*, IgA, IgG, glmM.

Citation: Moradipour A, Marzban A, Karkhane M, Esmaeil Lashgarian H. Relationship between the presence of *Helicobacter pylori* glmM gene and serum fluctuations of IgG and IgA antibodies in infected individuals. Yafte. 2021; 22(4):37-45.