

Effects of *H. pylori* Virulence Factors (*vacA*, *cagA*, *oipA* and *iceA*) on Its Pathogenicity in Patients Suffering from Gastroduodenal Disorders

Farid Zandi¹, Amin Talebi Bezmin Abadi², Ashraf Mohabbati Mobarez³, Mohammad Abdi⁴

1. Ph.D. Candidate, Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0003-3053-4460

2. Assistant Professor, Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran., (Corresponding Author), Tel: +98-21-82884830, Email: amin.talebi@modares.ac.ir. ORCID ID: 0000-0001-5209-6436

3. Professor, Department of Bacteriology, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran. ORCID ID: 0000-0002-1224-6134

4. Assistant Professor, Department of Clinical biochemistry, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran. ORCID ID: 0000-0002-4766-0423

ABSTRACT

Background and Aim: *H. pylori* can cause digestive problems and eventually can lead to gastric cancer. This study deals with the relationship between *H. pylori* virulence factors and pathological findings in the patients with gastroduodenal disorders in a particular geographical area in the west of Iran.

Materials and Methods: In this study, gastric biopsies were taken from 120 patients with indigestion (60 patients with gastritis and 60 patients with peptic ulcer). *H. pylori* virulence factors, *vacA*, *cagA*, *oipA* and *iceA* were determined by polymerase chain reaction (PCR). SPSS 16.0 software was used for data analysis. $p \leq 0.05$ was considered statistically significant.

Results: The frequencies of the genotypes were as following: *vacA* (s1 51.7 %, s2 21.7%, s1s2 15.8 %, m1 32.51 %, m2 45 %, m1m2 7.5 %, s1m1 29.2 %, s1m2 27.5%, s2m1 7.5 %, s2m2 7.5 %), *cagA* 64.2%, *oipA* 57.5 %, *iceA* 55% and *iceA*1/*iceA*2 15% respectively. Also, a significant relationship was observed between virulence factors such as *cagA* ($p=0.013$), *vacA* ($p=0.041$) and *iceA* ($p=0.035$) on one hand, and type of disorder (gastritis and peptic ulcer) on the other hand. Considering the relationships between the virulence factors and pathological findings, a significant relationship was found between *iceA* and acute inflammation ($p=0.039$). Also *oipA* and *vacA* showed significant relationships with bacterial density of *H. pylori* ($p=0,000$) and ($p=0.011$) respectively.

Conclusion: The results of this study showed role of *vacA* and *cagA* in the type of disease and the impact of *oipA* and *iceA* in microscopic findings.

Keywords: *H. pylori*, Gastritis, VacA, CagA, IceA

Received: Sep 1, 2021

Accepted: Oct 10, 2021

How to cite the article: Farid Zandi, Amin Talebi Bezmin Abadi, Ashraf Mohabbati Mobarez, Mohammad Abdi. Effects of *H. pylori* Virulence Factors (*vacA*, *cagA*, *oipA* and *iceA*) on Its Pathogenicity in Patients Suffering from Gastroduodenal Disorders. SJKU 2022;27(2):74-86.

بررسی اثر فاکتورهای بیماریزای هلیکوباکتریلوری (*iceA* و *oipA*، *cagA*، *vacA*) بر

روند بیماریزایی این باکتری در بیماران مبتلا به سوء هاضمه

فرید زندی^۱، امین طالبی نزمین آبادی^۲، اشرف محبتی مبارز^۳، محمد عبدی^۴

۱. دانشجوی دکتری، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۳-۳۰۵۳-۴۴۶۰

۲. دانشیار، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران، پست الکترونیک: amin.talebi@modares.ac.ir، (نویسنده مسئول)

تلفن: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۲۰۹-۶۴۳۶، کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۱-۵۲۰۹-۶۴۳۶

۳. استاد، گروه باکتری شناسی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۱۲۲۴-۶۱۳۴

۴. دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، سنندج، ایران. کد ارکید: ۰۰۰۰-۰۰۰۲-۴۷۶۶-۰۴۲۳

چکیده

زمینه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری، باکتری مسبب مشکلات گوارشی و سوء هاضمه می باشد که در نهایت می تواند منجر به سرطان معده شود. ژنهای مربوط به فاکتورهای بیماریزای هلیکوباکتر پیلوری عبارتند از: *iceA* و *oipA*، *cagA*، *vacA*. این مطالعه در غرب ایران و در بیماران مبتلا به سوء هاضمه، با در نظر گرفتن فراوانی فاکتورهای بیماری زای هلیکوباکترپیلوری، به ارتباط این فاکتورها با یافته های پاتولوژیک مربوطه تمرکز کرده است.

مواد و روش ها: در این مطالعه از ۱۲۰ بیمار مبتلا به سوء هاضمه (۶۰ بیمار دارای التهاب معده و ۶۰ بیمار دارای پپتیک اولسر) نمونه های بیوپسی معده به عمل آمد. ژنوتایپ فاکتورهای بیماری زای هلیکوباکترپیلوری با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز انجام گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 انجام شد. مقادیر $p \leq 0.05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها: فراوانی ژنوتایپ های بررسی شده در این مطالعه به ترتیب عبارتند از: *vacA* (۵۱/۷ % s_1 ، ۲۱/۷ % s_2 ، ۱۵/۸ % s_{1s2} ، ۳۲/۵۱ % m_1 ، ۴۵ % m_2 ، ۷/۵ % m_{1m2} ، ۲۹/۲ % s_{1m1} ، ۲۷/۵ % s_{1m2} ، ۷/۵ % s_{2m1} ، ۶۴/۲ % s_{2m2})، *iceA* (۱۵ % $iceA1/iceA2$ ، همچنین بین حضور فاکتورهای بیماری زای *cagA* (۰/۱۳ % $p=0.041$)، *vacA* (۰/۳۵ % $p=0.035$) و نوع بیماری (گاستریت و پپتیک اولسر) از سوی دیگر ارتباط معنی داری مشاهده گردید. ارتباط معنی دار بین فاکتورهای بیماریزا و یافته های پاتولوژیک عبارتند از: فاکتور *iceA* با التهاب حاد (۰/۳۹ % $p=0.000$) و همچنین فاکتورهای *oipA* (۰/۱۱ % $p=0.000$) و *vacA* (۰/۱۱ % $p=0.000$) با میزان تراکم باکتریایی هلیکوباکترپیلوری به ترتیب (۰/۱۱ % $p=0.000$) و (۰/۱۱ % $p=0.000$) را دارند.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نقش فاکتورهای *vacA* و *cagA* را بصورت شاخص تر در نوع بیماری و نقش فاکتورهای *iceA* و *oipA* را بعنوان فاکتورهای موثر در نتایج میکروسکوپی (یافته های پاتولوژی) نشان می دهد.

کلمات کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، گاستریت، *IceA*، *CagA*، *VacA*

وصول مقاله: ۱۴۰۶/۱۰/۱۴، اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۷/۱۰/۱۴، پذیرش: ۱۴۰۷/۱۸/۱۴

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) یک میکروارگانیسم با سابقه چند هزار ساله در همزیستی با مخاط گوارشی انسان می باشد (۱). بر اساس آمارهای اپیدمیولوژیک موجود، *H. pylori* بیش از ۵۰ درصد جمعیت جهان را آلوده کرده است (۲). این باسیل ماریچی گرم منفی ارتباط مستقیمی با بروز التهاب معده، زخم معده و سرطان معده در حاملین آن دارد (۳). سازمان بهداشت جهانی (World Health Organization, WHO)، *H. pylori* را به عنوان عامل سرطان زای کلاس ۱ در بیماران مبتلا به آدنوکارسینوم معده طبقه بندی کرده است (۴). پیامد عفونت ناشی از *H. pylori* یک بیماری پیچیده و چند عاملی است که در آن ترکیبی از عوامل محیطی، میزبانی و باکتریایی بر روند سیر بیماری دخالت فعالی دارد (۵). مطالعات روی ژنوم *H. pylori* وجود یک خانواده پروتئینی محافظت شده وسیع را در جنس *Helicobacter* نشان می دهد (۶). با وجود قالب های خوانش ژنی (open reading frames, ORF) فراوان در باکتریهای جنس هلیکوباکتر، منطقه پلاستیسیته (plasticity zone) در *H. pylori* بسیار متغیر است (۷). طی سال های اخیر، در مطالعات صورت گرفته بر روی *H. pylori*، توجه ویژه ای به برخی فاکتورهای بیماری زای باکتری مانند: *cagA*، *vacA*، *oipA* و *iceA* شده است (۸). *CagA* یک پروتئین رمزگذاری شده توسط جزایر پاتوژن (Pathogenicity islands, PAI) *H. Pylori* است که توسط سیستم ترشحی نوع چهار (type IV secretion system) ترشح می شود (۹). این پروتئین پس از تزریق به سلولهای اپیتلیال، سیگنالینگ سلولی را از طریق روند فسفوریلاسیون و دفسفوریلاسیون تغییر می دهد؛ بطوریکه نقش مهمی در التهاب ناشی از عفونت *H. pylori* ایفا می کند (۱۰). مطالعات نشان داده است که *cagA* موجب آزاد سازی سایتوکاین IL-8 به عنوان یک سایتوکاین التهابی فعال کننده NF- κ B می شود (۱۱). از سوی دیگر، تزریق

CagA به داخل سلولهای دندریتیک باعث افزایش IL-10 شده، که در نهایت پاسخ ایمنی میزبان را سرکوب می کند (۱۲). مسلماً *cagA* بر اساس تغییر در سیگنالینگ سلولی می تواند نقش پیش التهابی و ضد التهابی داشته باشد. *VacA* فاکتور ویرولانسی دیگری است که به عنوان یکی از عوامل مهم بیماری زای *H. pylori* شناخته می شود (۱۳). باور عمومی بر این است که فاکتور بیماری زایی *vacA* نقش اصلی در روند بیماری های معده ای-روده ای ایفا می کند (۱۴). بر این اساس، عملکرد این پروتئین باکتریایی به عنوان یک توکسین ترشحی بدین گونه است که پس از تزریق به غشای سلول میزبان موجب سنتز حفره های متعدد در غشاء سلول شده که در پی آن مجرای ایجادشده در بازه زمانی اندکی سبب لیز سلولی می شود (۱۵). ژن *vacA* در واقع یک توکسین ایجاد کننده حفره (Pore-forming toxins, PFTs) در سلول است که بصورت اتوترانسپورت ترشح می شود (۱۴). مکانیسم دیگر توکسین زایی *vacA* بدین صورت است با اتصال به گیرنده های هدف در سطح سلول یوکاریوتی، میتوکندری را بعنوان محل شکل گیری آپوپتوز اولیه و تشکیل واکوئل هدف قرار می دهد (۱۴). بعلاوه این فاکتور ویرولانسی منجر به افزایش گونه های فعال اکسیژن، التهاب، آسیب میتوکندریایی و در نهایت تسهیل بقای درون سلولی *H. pylori* می شود (۱۳). چهار فرم آللی مربوط به *vacA* شامل *m1*، *m2*، *s1* و *s2* می باشد. این آلل ها در حالت های مختلف، می توانند با هم ترکیب شوند که ترکیب آللی *s1/m1* بیمارنازاترین حالت آن می باشد. این در حالی است که ترکیبهای آللی دیگر، شامل ژنوتیپ های *s1/m2*، *s2/m1* و *s2/m2* اثرات بیماری زایی کمتری را نشان می دهند (۱۴). فاکتور ویرولانسی *OipA* یکی از پروتئین های چسبنده *H. pylori* است که به *HopH* یا *OMP13* نیز معروف است (۱۶). تصور بر این است که این فاکتور ویرولانسی یک پروتئین ۳۵ کیلو دالتونی با عملکرد پیش التهابی است؛ اما نقش دقیق آن به خوبی شناخته نشده است (۱۷). *OipA* ترشح IL-8 را از

سلول های معده افزایش می دهد (۱۸). این پروتئین به همراه cag موجب تحریک التهاب از طریق فسفوریلاسیون مسیرهای سیگنالینگ سلولی می شود (۱۹). برخی مطالعات اخیر ارتباط این پروتئین با گاستریت و سرطان معده را نشان می دهند (۲۰). فاکتور بیماری زای دیگر این باکتری، iceA می باشد که ژن آن برای اولین بار در *H. pylori* جدا شده از بیماران مبتلا به سوء هاضمه شناسایی گردید. این ژن بصورت دو آلل اصلی iceA1 و iceA2 وجود دارد. علاوه بر این، بیان اصلی ژن iceA زمانی القاء می شود که *H. pylori* در تماس با سطح اپیتلیوم گوارشی قرار گیرد (۲۱). البته باید اشاره کرد که برخی از مطالعات نشان داده اند که iceA ممکن است به طور قابل توجهی با بیماری های دستگاه گوارش ارتباط داشته باشد (۲۲). با توجه به مطالب بالا می توان اینگونه استنتاج نمود که ارزیابی شیوع ژنوتیپ های *H. pylori* دارای اهمیت بالایی بوده و قادر خواهد بود که تعیین کننده رابطه بین عوامل بیماری زای *H. pylori* و پیامدهای ناشی از آن در افراد و بالطبع در یک منطقه جغرافیایی باشد. بر این اساس مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر فاکتورهای شاخص بیماری زای باکتری مذکور شامل: cagA، vacA، iceA و oipA بر یافته های پاتولوژیک، در دو گروه بیماران دارای گاستریت و زخم معده مبتلا به عفونت *H. pylori* در شهرستان سنندج انجام شده است.

مواد و روش ها

نمونه گیری:

در این مطالعه ۱۲۰ بیمار در بیمارستان توحید سنندج، وابسته به دانشگاه علوم پزشکی کردستان تحت مطالعه قرار گرفتند (کد اخلاق: IR.MODARES.REC.1397.276). در روند انجام نمونه گیری و در حین انجام آندوسکوپی ۴ نمونه بیوپسی از بیماران جهت انجام تست اوره آز سریع (Rapid Urease

Test, RUT)، بررسی های پاتولوژی، ارزیابی فاکتورهای ویروالانس و تشخیص هلیکوباکتر پیلوری گرفته شد. در ادامه ۱۲۰ فرد آلوده دارای مشکلات گوارشی که از طریق آزمایش RUT، تست PCR مربوط به ژنهای 16s rRNA، glmM (۲۳) و همچنین بررسی های پاتولوژی بیوپسی بدست آمده از بیمار، وجود هلیکوباکترپیلوری در آنها به اثبات رسیده بود (در صورت مثبت شدن ۴ تست تشخیصی یک بیمار) به عنوان افراد آلوده به *H. pylori* در نظر گرفته شدند.

پروتکل این مطالعه به دقت بررسی و در نهایت توسط کمیته اخلاق دانشگاه تربیت مدرس مورد تأیید قرار گرفت و کلیه شرکت کنندگان در این مطالعه فرم رضایت آگاهانه شرکت در این مطالعه را امضا کردند. در ادامه روند مطالعه، بیماران به دو گروه شامل بیماران دارای پپتیک اولسر (۳۹ مرد و ۲۱ زن با میانگین سنی $49/15 \pm 15/8$ سال) و بیماران دارای گاستریت (۲۶ مرد و ۳۴ زن با میانگین سنی $49/83 \pm 15/6$ سال) تقسیم شدند.

بررسی های پاتولوژی:

بیوپسی های بدست آمده از آندوسکوپی در فرآیند نمونه گیری در فرمالین قرار داده شد تا به منظور بررسی گاستریت و تشخیص *H. pylori*، رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) و گیمسا بر روی آنها انجام شود. همچنین شدت التهاب بافتی از نرمال تا شدید با توجه به ارتشاح سلولهای تک هسته ای (MNC) و سلولهای چند هسته ای (PMN) و همچنین آتروفی بافتی بر اساس طبقه بندی سیدنی بصورت ۰ (طبیعی)، ۱ (خفیف)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید) در ۴ مقیاس طبقه بندی گردید (۲۴).

استخراج DNA و واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) به منظور انجام PCR، ژنوم باکتریایی از بیوپسی های بدست آمده با استفاده از کیت استخراج DNA ژنومی از بافت Biospin (BioFlux، ساخت ژاپن) استخراج گردید. به منظور انجام واکنشهای PCR، پرایمرهای مربوط به ژنهای مختلف در جدول ۱ نشان داده شده است (۲۵-۲۸). همچنین

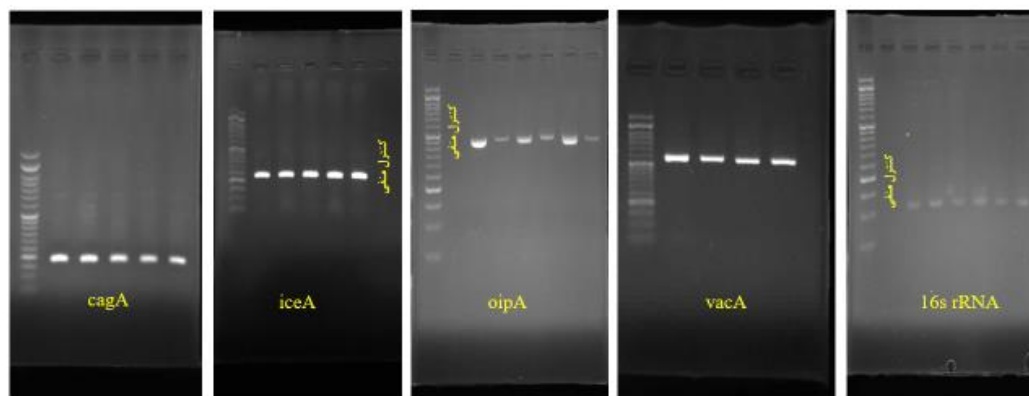
کمیت و کیفیت DNA بدست آمده با استفاده از دستگاه نانودراپ مورد ارزیابی قرار گرفت (NanoDrop, MA, Waltham, Thermo Scientific). PCR ژنهای مختلف با استفاده از دستگاه ترموسایکلر PCR (شرکت Eppendorf, آلمان) بر اساس روش توصیف شده انجام گردید. جهت ارزیابی فاکتورهای *vacA*, *iceA* و *cagA* برنامه فرآیند PCR در ۳۵ سیکل شامل واسرشتگی (Denaturation) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، اتصال (Annealing) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۵۶ درجه سانتیگراد، گسترش (Extension) به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و گسترش نهایی (final extension) به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد انجام شد. همچنین به منظور بررسی فاکتور *oipA* واکنش PCR در ۳۵ سیکل شامل Denaturation به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد، Annealing به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد، Extension به مدت ۳۰ ثانیه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد و final extension به مدت ۵ دقیقه در ۷۲ انجام گردید.

جدول ۱. پرایمرهای واکنش PCR جهت تشخیص *H. pylori* و فاکتورهای بیماری زا. پرایمرهای مورد استفاده در مطالعه حاضر همچنین توالی هر پرایمر و اندازه محصول هر پرایمر در جدول زیر نشان داده شده است.

اندازه محصول PCR (جفت باز)	توالی پرایمر	پرایمرها
۱۰۹	F: CTGGAGAGACTAAGCCCTCC R: ATTACTGACGCTGATTGTGC	16srRNA
۲۹۴	F: AAGCTTTTATAGGGGTGTTAGGGGTTT R: AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC	glmM (ureA)
۵۶۷ (m1) ۵۴۲ (m2)	F: CAATCTGTCCAATCAAGCGAG R: GCGTCTAAATAATTCCAAGG	vacA m1/m2
۲۵۹ (s1) ۲۸۶ (s2)	F: ATGGAAATACAACAAACACAC R: CTGCTTGAATGCGCCAAA	vacA s1/s2
۲۳۲	F: ATGACTAACGAAACTATTGATC R: CAGGATTTTGTATCGCTTTATT	cagA
۴۰۱	F: GTTTTGTATGCATGGGATTT R: GTGCATCTCTTATGGCTTT	oipA
۲۴۷	F: GTGTTTTTAACCAAAGTATC R: CTATAGCCASTCTCTTTGCA	iceA1
۲۲۹	F: GTTGGGTATATCACAATTTAT R: TTRCCCTATTTTGTAGTAGGT	iceA2

تشخیص هلیکوباکتر پیلوری و فاکتورهای بیماریزا در بافت مخاط معده :

در مطالعه حاضر، دو جفت پرایمر برای تشخیص *H. pylori* و یک جفت پرایمر جداگانه جهت انجام PCR برای هر کدام از فاکتورهای بیماری زای *cagA*، *vacA*، *oipA* و *iceA* در مخاط معده بیماران مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. تصویر محصول الکتروفورز حاصل از واکنش PCR ژنهای *H. Pylori* را بر روی ژل آگارز نشان می دهد. این تصویر از سمت چپ به راست به ترتیب: *cagA* قطعه ۲۳۲ جفت بازی (bp)، *iceA1* قطعه ۲۴۷ جفت بازی (bp)، *oipA* قطعه ۴۰۱ جفت بازی (bp)، *vacA m1* قطعه ۵۶۷ جفت بازی (bp) و 16s rRNA قطعه ۱۰۹ جفت بازی (bp) را نشان می دهد.

تحلیل آماری:

فراوانی فاکتورهای بیماری زا شامل *cagA*، *vacA*، *iceA* و *oipA* در گروههای گاستریت و پپتیک اولسر مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲). بر این اساس بین ژنوتایپ های *cagA*، *vacA*، *iceA* و نوع بیماری (گاستریت و پپتیک اولسر) ارتباط معنی دار مشاهده شد ($p \leq 0/05$). بدین معنی که ژنوتایپ های *s1m1* و *cagA+* و *iceA2* (+) بیشترین فراوانی را در در گروه پپتیک اولسر دارد. از سوی دیگر آنالیز داده های آماری نشان می دهد بین *oipA* و نوع بیماری (گاستریت و پپتیک اولسر) ارتباط معنی داری وجود ندارد ($p \geq 0/05$)، بدین ترتیب فراوانی این فاکتور بیماری زا در دو گروه گاستریت و پپتیک اولسر اختلاف معنی داری ندارد. وضعیت ارتباط فاکتورهای بیماری زای مورد مطالعه در بیماران مبتلا به گاستریت و پپتیک اولسر در جدول ۲ نشان داده شده است.

داده ها بدست آمده از این مطالعه با استفاده از نرم افزار SPSS 16.0 (SPSS Inc, Chicago) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. جهت مطالعه آماری سن در گروه بیماران گاستریت و پپتیک اولسر از آزمون t-test (student's t-test)، همچنین جهت بررسی ارتباط فاکتورهای بیماری زا با نوع بیماری (گاستریت و پپتیک اولسر) و یافته های پاتولوژیک (درجه تراکم *H.pylori* درجه التهاب حاد و درجه التهاب مزمن) از تست آماری-chi square و تست Fisher استفاده گردید. مقادیر $p \leq 0/05$ از نظر آماری معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته ها

شیوع فاکتورهای بیماریزا در بین گروه های دارای گاستریت و پپتیک اولسر آلوده به *H.pylori*:

جدول ۲. فراوانی ژنوتایپهای *iceA*، *vacA*، *cagA* و *oipA* هلیکوباکتریلوری در بین گروه های بیمار. گروه های بیمار شامل دو گروه بیماران داری گاستریت و پپتیک اولسر هستند. مقدار *P* کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است.

ژنوتایپ های هلیکوباکتریلوری	بیماری پپتیک اولسر	بیماری گاستریت	P-value
<i>vacA</i>			
<i>s1</i>	۳۲ (۵۷/۱)	۳۰ (۵۸/۸)	۰/۷۷۹
<i>s2</i>	۱۵ (۲۶/۸)	۱۱ (۲۱/۶)	
<i>s1s2</i>	۹ (۱۶/۱)	۱۰ (۱۹/۶)	
<i>m1</i>	۱۷ (۲۹/۸)	۲۲ (۴۸/۹)	۰/۱۴۱
<i>m2</i>	۳۴ (۵۹/۶)	۲۰ (۴۴/۴)	
<i>m1m2</i>	۶ (۱۰)	۳ (۶/۷)	
<i>s1m1</i>	۲۴ (۴۹)	۱۱ (۲۹/۷)	۰/۰۴۱
<i>s1m2</i>	۲۰ (۴۰/۸)	۱۳ (۳۵/۱)	
<i>s2m1</i>	۲ (۴/۱)	۷ (۱۸/۹)	
<i>s2m2</i>	۳ (۶/۱)	۶ (۱۶/۲)	
<i>cagA+</i>	۴۵ (۷۵)	۳۲ (۵۳/۳)	۰/۰۱۳
<i>cagA-</i>	۱۵ (۲۵)	۲۸ (۴۶/۷)	
<i>iceA1+</i>	۳۳ (۵۵)	۲۴ (۴۰)	۰/۱
<i>iceA1-</i>	۲۷ (۴۵)	۳۶ (۶۰)	
<i>iceA2+</i>	۳۶ (۶۰)	۳۰ (۵۰)	۰/۲۷۱
<i>iceA2-</i>	۲۴ (۴۰)	۳۰ (۵۰)	
<i>iceA1 (+)</i>	۲۳ (۳۸/۳)	۲۱ (۳۵)	۰/۰۳۵
<i>iceA2 (+)</i>	۲۴ (۴۰)	۱۷ (۲۸/۳)	
<i>iceA1/iceA2+</i>	۱۰ (۱۶/۷)	۸ (۱۳/۳)	
<i>iceA1/iceA2-</i>	۳ (۵)	۱۴ (۲۳/۳)	
<i>oipA+</i>	۳۷ (۶۱/۷)	۳۲ (۵۳/۳)	۰/۳۵۶
<i>oipA-</i>	۲۳ (۳۸/۳)	۲۸ (۴۶/۷)	

ارتباط بین فاکتورهای بیماریزا و یافته های پاتولوژی در

بیوپسی های افراد آلوده به *H. pylori*

در بررسی ارتباط بین یافته های پاتولوژی (فعالیت نوتروفیلی (التهاب حاد)، فعالیت لنفوسیتی (التهاب مزمن) و تراکم بافتی هلیکوباکتریلوری) و آلل های بیماریزای *vacA* (*m1*، *m2*، *m1m2*، *s1*، *s2*، *s1s2*)، *cagA*، *iceA*

(*iceA1+*، *iceA2+*، *iceA1/iceA2+*) ارتباط معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$) بدین معنی که فراوانی فاکتورهای مذکور در رابطه با این سه شاخص پاتولوژیکی اختلاف معنی داری ندارد. این در حالی است که بین *iceA* (*iceA1+*، *iceA2+*، *iceA1/iceA2+*) و فعالیت نوتروفیلی (التهاب حاد) ارتباط معنی داری وجود داشت ($p = 0.039$) بطوریکه فراوانی بیماران دارای فاکتور بیماری

مشاهده گردید که بدین معناست فراوانی فاکتور بیماری زای *vacA s1m2* و *oipA (+)* در افراد دارای درجه ی شدید تراکم هلیکوباکتر پیلوری بیشتر است. نتایج ارزیابی فاکتورهای بیماری زا و یافته های پاتولوژی در در جدول ۳ نشان داده شده است.

جدول ۳. ارتباط بین یافته های پاتولوژی و فاکتورهای بیماری زایی *H. pylori*: a: پارامترهای پاتولوژی درجه بندی شده از ۰ (طبیعی)، ۱ (خفیف)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید). b: پارامترهای پاتولوژی درجه بندی شده از ۰ (طبیعی)، ۱ (خفیف)، ۲ (متوسط) و ۳ (شدید). c: آزمون خی دو (کای اسکوتر) که در آن مقدار P کمتر از ۰/۰۵ به عنوان سطح معنی داری آماری در نظر گرفته شده است.

پارامترهای پاتولوژیک / ژنوتایپ های هلیکوباکتر پیلوری	تراکم هلیکوباکتر پیلوری در بافت معده ^b (%)	التهاب مزمن (فعالیت لنفوسیتی)	التهاب حاد (فعالیت نوتروفیلی) ^a
	(%)	(%)	(%)
cagA (+) cagA (-) P ^c	شدید ۱۷ (۷۷/۳)	شدید ۲۲ (۷۸/۶)	طبیعی ۷ (۴۱/۲)
	متوسط ۲۲ (۷۱)	خفیف ۳۱ (۵۴/۴)	خفیف ۴۴ (۶۹/۸)
	۰/۱۸۸	۰/۱۵۵	۰/۱۵۵
vacA m1 vacA m2 vacA m1m2 P	شدید ۶ (۲۸/۶)	شدید ۱۲ (۴۶/۲)	طبیعی ۲ (۱۶/۷)
	متوسط ۱۳ (۴۱/۹)	خفیف ۱۷ (۴۲/۵)	خفیف ۲۱ (۳۹/۶)
	۰/۷۵۵	۰/۱۹۱	۰/۵۷۴
vacA s1 vacA s2 vacA s1s2 P	شدید ۱۵ (۷۱/۴)	شدید ۱۹ (۷۰/۴)	طبیعی ۷ (۵۳/۸)
	متوسط ۱۴ (۵۱/۶)	خفیف ۱۸ (۴۵)	خفیف ۲۸ (۵۲/۸)
	۰/۱۴۸	۰/۰۹۷	۰/۴۰۶
vacA s1m1 vacA s1m2 vacA s2m1 vacA s2m2 P	شدید ۳ (۱۴/۳)	شدید ۴ (۱۴/۸)	طبیعی ۲ (۱۵/۴)
	متوسط ۳ (۱۱/۱)	خفیف ۱۳ (۲۶/۵)	خفیف ۱۰ (۱۷/۵۲)
	۰/۱۱۱	۰/۵۰۳	۰/۲۷۴

۶ (۳۵/۳)	۲۶ (۴۱/۳)	۲۰	۵ (۶۲/۵)	۱۸ (۴۳/۹)	۲۱ (۴۱/۲)	۱۸ (۶۴/۳)	۲۲ (۳۸/۶)	۱۵ (۴۸/۴)	۱۴ (۶۳/۶)	iceA1 (+)
۱۱ (۶۴/۷)	۳۷ (۵۸/۷)	(۶۲/۵)	۳ (۳۷/۵)	۲۳ (۵۶/۱)	۳۰ (۵۸/۸)	۱۰ (۳۵/۷)	۳۵ (۶۱/۴)	۱۶ (۵۱/۶)	۸ (۳۶/۴)	iceA1 (-)
		۱۲								P
		(۳۷/۵)								
۰/۱۳۵			۰/۱۲۳			۰/۱۹۱				
۹ (۵۲/۹)	۳۵ (۵۵/۶)	۱۶ (۵۰)	۶ (۷۵)	۲۳ (۵۶/۱)	۲۷ (۵۲/۹)	۱۶ (۵۷/۱)	۲۹ (۵۰/۹)	۱۹ (۶۱/۳)	۱۳ (۵۹/۱)	iceA2 (+)
۸ (۴۷/۱)	۲۸ (۴۴/۴)	۱۶ (۵۰)	۲ (۲۵)	۱۸ (۴۳/۹)	۲۴ (۴۷/۱)	۱۲ (۴۲/۹)	۲۸ (۴۹/۱)	۱۲ (۳۸/۷)	۹ (۴۰/۹)	iceA2 (-)
										P
۰/۶۸۵			۰/۹۲۳			۰/۷۶۸				
۴ (۳۲/۵)	۲۰ (۳۱/۷)	۱۹	۱ (۱۲/۵)	۱۶ (۳۹)	۱۹ (۳۷/۳)	۹ (۳۱)	۲۱ (۳۶/۸)	۱۱ (۳۵/۵)	۷ (۳۱/۸)	iceA1 (+)
۷ (۴۱/۲)	۲۵ (۳۹/۷)	(۵۹/۴)	۲ (۲۵)	۱۶ (۳۹)	۱۷ (۳۳/۳)	۹ (۳۱)	۱۹ (۳۳/۳)	۱۴ (۴۵/۲)	۶ (۲۷/۳)	iceA2 (+)
۲ (۱۱/۸)	۸ (۱۲/۷)	۷ (۲۱/۹)	۴ (۵۰)	۵ (۱۲/۲)	۵ (۹/۸)	۸ (۲۷/۶)	۵ (۸/۸)	۴ (۱۲/۹)	۷ (۳۱/۸)	iceA1/iceA
۴ (۲۳/۵)	۱۰ (۱۵/۹)	۴ (۱۲/۵)	۱ (۱۲/۵)	۴ (۹/۸)	۱۰ (۱۹/۶)	۳ (۱۰/۳)	۱۲ (۲۱/۱)	۲ (۶/۵)	۲ (۹/۱)	2+
		۲ (۶/۲)								iceA1/iceA
										2-
										P
۰/۰۳۹			۰/۳۷۹			۰/۲۴۱				
۶ (۳۵/۳)	۳۶ (۵۷/۱)	۲۱	۶ (۷۵)	۲۳ (۵۶/۱)	۲۵ (۴۹)	۲۱ (۷۵)	۲۱ (۳۶/۸)	۲۱ (۶۷/۷)	۱۹ (۸۶/۴)	oipA (+)
۱۱ (۶۴/۷)	۲۷ (۴۲/۹)	(۶۵/۶)	۲ (۲۵)	۱۸ (۴۳/۹)	۲۶ (۵۱)	۷ (۲۵)	۳۶ (۶۳/۲)	۱۰ (۳۲/۳)	۳ (۱۳/۶)	oipA (-)
		۱۱								P
		(۳۴/۴)								
۰/۱۶۱			۰/۰۸۰			۰/۰۰۰				

بحث

شدت بیماری ناشی از *H. pylori* با فاکتورهای بیماری زای متعدد در این باکتری مرتبط می باشد؛ در این رابطه ژنوتایپهای خاصی از سویه های *H. pylori* نقش مهمی را ایفا می کنند (۲۹). فاکتورهای بیماریزای *H. pylori* نه تنها در ایجاد پاسخ های التهابی دخیل هستند، بلکه پاسخ هایی را نیز را که موجب حفظ التهاب مزمن در میزبان می شوند، کنترل و تنظیم می کنند. بطوریکه این فاکتورهای بیماری زا باعث تجمع و بقای باکتری در مخاط معده می شوند. که این امر منجر به فرار بیشتر باکتری از سیستم ایمنی و در نهایت ایجاد تغییرات قبل از بدخیمی بافتی در معده می شود. *H. pylori* مجموعه گسترده ای از مکانیسم ها سلولی را در بافت معده تحت تأثیر قرار می دهد که منجر به تغییر پاسخهای سلولی میزبان و مسیرهای سیگنالینگ سلولی می شود (۳۰). با وجود اهمیت بالینی این باکتری، اطلاعات کمی از خصوصیات ژنتیکی سوشهای *H. pylori* در ایران

در دسترس می باشد. در مطالعه حاضر اثر فاکتورهای بیماری زای *H. pylori* شامل: *iceA*, *vacA*, *cagA* و *oipA* در مراحل اولیه عفونت ناشی از *H. pylori* در بین بیماران تحت آندوسکوپی معده بررسی شده است. در این مطالعه دو گروه بیمار شامل گاستریت و پپتیک اولسر مورد مطالعه قرار گرفتند، یافته های ما نشان می دهد که فاکتور بیماری زای متشکل از ترکیب آللی s و m (s1m1)، *iceA* همچنین فاکتور *cagA* ممکن است در ایجاد پپتیک اولسر نقش داشته باشند. فاکتورهای بیماری زای *vacA* (s1 ٪ ۵۱/۷، s2 ٪ ۲۱/۷، s2s1 ٪ ۱۵/۸، s1s2 ٪ ۳۲/۵، m1 ٪ ۴۵، m2 ٪ ۷/۵، m1m2 ٪ ۷۲، *cagA* ٪ ۵۶/۴) در *oipA* ایجاد تغییرات پاتولوژی طبق معیار سیدنی دخالت معنی دار ندارد. از طرفی فاکتورهای بیماری زای متشکل از ترکیب آللی s و m (s1m1) و فاکتور *oipA* میزان تجمع *H. pylori* را در بافت معده تحت تأثیر می دهند. مطالعات نشان می دهند که سویه های *vacA* مثبت با شیوع بیشتری

مطالعه ما سازگار باشد، زیرا در مطالعه حاضر شواهد نشان می دهد که فاکتور بیماری زای *oipA* مسیر عفونت *H. pylori* را به سمت ارتشاح MNCs سوق می دهد. سویه های *oipA*، *H. pylori* مثبت در مقایسه با سویه های *oipA* منفی بیشتر مستعد التهاب شدیدتر در مخاط معده هستند.

نتیجه گیری

اگرچه تصور بر این است که *cagA*، *vacA*، *iceA* و *oipA* فاکتورهای شاخص بیماری زای *H. pylori* هستند و همچنین هر یک از فاکتورهای مذکور نقش بارزی در نوع بیماری و تغییرات پاتولوژیکی بافت معده دارند، از نتایج این مطالعه این گونه بر می آید که ارتباط فاکتورهایی مانند *iceA* و *oipA* بیشتر در نتایج میکروسکوپی تغییرات پاتولوژی بافت معده بیشتر خود را نشان می دهند. از طرفی ارتباط حضور فاکتورهای *cagA* و *vacA* بیشتر در جنبه ماکروسکوپی روند بیماری زایی افراد مبتلا به *H. pylori* نمود پیدا می کند که می تواند بیانگر اهمیت و تأثیر بیشتر این فاکتورها باشد. در نهایت باید خاطر نشان کرد که افزایش دانش ما در مورد ارتباط فاکتورهای بیماری زای *H. pylori* با نوع عارضه گوارشی و نتایج پاتولوژیک، می تواند در روند درمان و پیشگیری ناشی از عفونت هلیکوباکتریلوری موثر باشد. در این راستا، ما پیشنهاد می کنیم تحقیقات بیشتری در این زمینه با بهره گیری از تکنولوژی های جدید حوزه مولکولار بیولوژی در آینده انجام شود.

تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از یافته های رساله دکتری تخصصی رشته باکتری شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه تربیت مدرس با کد اخلاق:

در افراد مبتلا همراه است و در ضایعات پیش از بدخیمی معده و همچنین سرطان معده در ژنوتیپهای مختلف *vacA* مثبت نیز ممکن است با شدت التهاب ناشی از *H. pylori* مرتبط باشند (۳۱، ۳۲). این نتایج با نتیجه مطالعه ما که بیانگر نقش ژنوتیپهای *vacA* در مرحله اولسر افراد آلوده به *H. pylori* است، همخوانی دارد.

نتایج مطالعات مشابه نشان می دهد که وجود *cagA* معمولاً با شیوع بیشتر پاسخ های التهابی و آسیب بیشتر ناشی از مخاط معده همراه است. با این حال، وضعیت *cagA* به تنهایی، عامل تعیین کننده در اختلالات گوارشی ناشی از *H. pylori* نمی باشد (۳۰). یافته های ما در مورد ارتباط *iceA1* با یافته های پاتولوژی بیانگر این مطلب است که این فاکتور بیماری زا ممکن است موجب ارتشاح نوتروفیلها در بافت شده و در نتیجه آن موجب التهاب حاد در بافت معده می شود. مطالعات مشابه نشان می دهد که بیان *iceA* در حین اتصال *H. pylori* با سلولهای اپیتلیال معده افزایش می یابد و ممکن است با ایجاد بیماری پپتیک اولسر مرتبط باشد (۳۰). همچنین سویه های *iceA1* مثبت قادر به تولید مقادیر قابل توجهی از IL-8 پیش التهابی هستند که در موارد سویه های *iceA1* منفی مشاهده نشده است (۳۰). نتایج مطالعه حاضر بیانگر این مطلب است که فاکتور بیماری زای *oipA* ممکن است مسیر عفونت *H. pylori* را به سمت التهاب مزمن پیش برد و در میزان تجمع بافتی *H. pylori* نیز تأثیر گذار باشد. این نتیجه با مطالعات دیگر هم خوانی دارد که نشان می دهد سویه های *H. pylori* مثبت *oipA* (۵۵٪) در مقایسه با سویه های *oipA* منفی (۴۴٪) مستعد ایجاد التهاب شدیدتر در مخاط معده هستند (۳۰). نتایج حاصل از مطالعات مشابه انجام شده بیانگر این موضوع است که تولید لنفوسیت های B به عنوان سلول های تک هسته ای (Mononuclear cells, MNCs) که در التهاب مزمن دخیل هستند نیز در بین افراد مبتلا به گاستریت آلوده به *H. pylori* در مقایسه با افراد مبتلا به پپتیک اولسر شایع تر است (۳۳). این یافته ممکن است با بخشی از یافته های

کردستان، بابت حمایت هایشان صمیمانه تشکر و قدردانی
 حمایت‌های مالی آن دانشگاه انجام شده است. نویسندگان بر
 خود فرض می‌دانند از بیماران شرکت کننده در پژوهش به
 دلیل همکاری در گردآوری داده‌ها و دانشگاه علوم پزشکی
 IR.MODARES.REC.1397.276 می‌باشد که با

نماینده. لازم به ذکر است که هیچ کدام از نویسندگان این
 مطالعه تعارض منافع برای انتشار این مقاله ندارند.

منابع

1. Lin K-D, Chiu G-F, Waljee AK, Owyang SY, El-Zaatari M, Bishu S, et al. Effects of anti-*Helicobacter pylori* therapy on incidence of autoimmune diseases, including inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2019;17(10):1991-99.
2. Mounsey A, Leonard EA. Noninvasive Diagnostic Tests for *Helicobacter pylori* Infection. *Am Fam Physician*. 2019;100(1):16-19.
3. Byun SH, Min C, Hong SJ, Choi HG, Koh DH. Analysis of the relation between periodontitis and chronic gastritis/peptic ulcer: a cross-sectional study using KoGES HEXA data. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(12):4387-94.
4. Savoldi A, Carrara E, Graham DY, Conti M, Tacconelli E. Prevalence of antibiotic resistance in *Helicobacter pylori*: a systematic review and meta-analysis in World Health Organization regions. *Gastroenterology*. 2018;155(5):1372-82. e17.
5. Ansari S, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori* Virulence Factors Exploiting Gastric Colonization and its Pathogenicity. *Toxins*. 2019;11(11):677-85.
6. Maixner F, Thorell K, Granehall L, Linz B, Moodley Y, Rattei T, et al. *Helicobacter pylori* in ancient human remains. *World J Gastroenterol*. 2019;25(42):6289-95.
7. Sugiyama N, Miyake S, Lin MH, Wakabayashi M, Marusawa H, Nishiumi S, et al. Comparative proteomics of *Helicobacter pylori* strains reveals geographical features rather than genomic variations. *Genes Cells*. 2019;24(2):139-50.
8. Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. *Helicobacter pylori* virulence genes. *World J Gastroenterol*. 2019;25(33):4870-6.
9. Lettl C, Haas R, Fischer W. Kinetics of CagA type IV secretion by *Helicobacter pylori* and the requirement for substrate unfolding. *Mol Microbiol*. 2021;116(3):794-807.
10. Pachathundikandi SK, Gutiérrez-Escobar AJ, Tegtmeyer N. Tailor-Made Detection of Individual Phosphorylated and Non-Phosphorylated EPIYA-Motifs of *Helicobacter pylori* Oncoprotein CagA. *Cancers*. 2019;11(8):1163-9.
11. Pachathundikandi SK, Tegtmeyer N, Arnold IC, Lind J, Neddermann M, Falkeis-Veits C, et al. T4SS-dependent TLR5 activation by *Helicobacter pylori* infection. *Nat Commun*. 2019;10(1):1-11.
12. Sato M, Miura K, Kageyama C, Sakae H, Obayashi Y, Kawahara Y, et al. Association of host immunity with *Helicobacter pylori* infection in recurrent gastric cancer. *Infect Agent Cancer*. 2019;14(1):4-8.
13. Capurro MI, Greenfield LK, Prashar A, Xia S, Abdullah M, Wong H, et al. VacA generates a protective intracellular reservoir for *Helicobacter pylori* that is eliminated by activation of the lysosomal calcium channel TRPML1. *Nat Microbiol*. 2019;4(8):1411-23.
14. Idowu A, Mzukwa A, Harrison U, Palamides P, Haas R, Mbao M, et al. Detection of *Helicobacter pylori* and its virulence genes (cag A, dup A, and vac A) among patients with gastroduodenal diseases in Chris Hani Baragwanath Academic Hospital, South Africa. *BMC Gastroenterol*. 2019;19(1):1-10.

15. Kusters JG, Van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):449-90.
16. Keikha M, Eslami M, Yousefi B, Ghasemian A, Karbalaei M. Potential antigen candidates for subunit vaccine development against *Helicobacter pylori* infection. J Cell Physiol. 2019;234(12):21460-70.
17. Waskito LA, Salama NR, Yamaoka Y. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2018;23:12516-22.
18. Uotani T, Murakami K, Uchida T, Tanaka S, Nagashima H, Zeng XL, et al. Changes of tight junction and interleukin-8 expression using a human gastroid monolayer model of *Helicobacter pylori* infection. Helicobacter. 2019;24(3):12583-91.
19. Tegtmeyer N, Neddermann M, Asche CI, Backert S. Subversion of host kinases: a key network in cellular signaling hijacked by *Helicobacter pylori* CagA. Mol Microbiol. 2017;105(3):358-72.
20. Sallas ML, Dos Santos MP, Orcini WA, David ÉB, Peruquetti RL, Payão SLM, et al. Status (on/off) of oipA gene: Their associations with gastritis and gastric cancer and geographic origins. Arch Microbiol. 2019;201(1):93-7.
21. Akbarovna DD, Akramovich AA, Utkurovna TS. Distribution of *Helicobacter pylori* genotypes in two areas of Uzbekistan with different gastric cancer risk. Eur Sci Rev. 2019;2(1-2):3-6.
22. Huang X, Deng Z, Zhang Q, Li W, Wang B, Li M. Relationship between the iceA gene of *Helicobacter pylori* and clinical outcomes. Ther Clin Risk Manag. 2016;12:1085-94.
23. Šeligová B, Lukáč L, Bábelová M, Vávrová S, Sulo P. Diagnostic reliability of nested PCR depends on the primer design and threshold abundance of *Helicobacter pylori* in biopsy, stool, and saliva samples. Helicobacter. 2020;25(2):12680-91.
24. Sipponen P, Price AB. The Sydney System for classification of gastritis 20 years ago. J Gastroenterol Hepatol. 2011;26:31-4.
25. Ohya H, Yoshimura D, Hirotsu Y, Amemiya K, Amano H, Miura Y, et al. Rapidly declining trend of signet ring cell cancer of the stomach may parallel the infection rate of *Helicobacter pylori*. BMC gastroenterol. 2019;19(1):178-88.
26. Wang M-y, Shao C, Li J, Yang Y-C, Wang S-b, Hao J-l, et al. *Helicobacter pylori* with the Intact dupA Cluster is more Virulent than the Strains with the Incomplete dupA Cluster. Curr Microbiol. 2015;71(1):16-23.
27. Pereira JN, Orcini WA, Peruquetti RL, Smith MA, Payão SL, Rasmussen LT. Prevalence of *Helicobacter pylori* cagA and sabA Genotypes in Patients with Gastric Disease. Adv Microbiol. 2019;9(3):239-47.
28. Mashak Z, Jafariaskari S, Alavi I, Shahreza MS, Dehkordi FS. Phenotypic and Genotypic Assessment of Antibiotic Resistance and Genotyping of vacA, cagA, iceA, oipA, cagE, and babA2 Alleles of *Helicobacter pylori* Bacteria Isolated from Raw Meat. Infect Drug Resist. 2020;13:257-67.
29. Ishaq S, Nunn L. *Helicobacter pylori* and gastric cancer: a state of the art review. Gastroenterol Hepatol Bed Bench. 2015;8(Suppl 1): 6-14.
30. Baj J, Forma A, Sitarz M, Portincasa P, Garruti G, Krasowska D, et al. *Helicobacter pylori* virulence factors—mechanisms of bacterial pathogenicity in the gastric microenvironment. Cells. 2021;10(1):27.
31. McClain MS, Beckett AC, Cover TL. *Helicobacter pylori* vacuolating toxin and gastric cancer. Toxins. 2017;9(10):316-24.

32. Rahimian G, Sanei MH, Shirzad H, Azadegan-Dehkordi F, Taghikhani A, Salimzadeh L, et al. Virulence factors of *Helicobacter pylori* vacA increase markedly gastric mucosal TGF- β 1 mRNA expression in gastritis patients. Microb Pathog. 2014;67:1-7.
33. Nahid-Samiei M, Rahimian G, Shafigh M, Taheri F, Karami-Hurestani M, Sanaei M-j, et al. Enhanced frequency of CD19+ IL-10+ B cells in human gastric mucosa infected by *Helicobacter pylori*. Am J Med Sci. 2020;359(6):347-53.