Medical Journal of Tabriz University of Medical Sciences and Health Services
Vol. 38, No. 2, Jun. – Jul. 2016, Pages: 86-90

Original Article

Investigation of Relationship between Expression of Lewis B Antigen and Helicobacter Pylori Induced Peptic Ulcer in Sari

Mehrad Mahdavi[1], Mohammad Reza Mahdavi[2], Payam Roshan[1*], Mohammad Taher Hojati[1]

[1]Sina Mehr Research Center, Sari, Iran
[2]Thalassemia Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

Received: 18 Mar, 2014 **Accepted: 29 Apr, 2014**

Abstract

Background & Objectives: It has been indicated that some blood groups act as receptors for pathogens. There is a controversy over the relationship between Lewis blood group antigens and H. pylori infection which is one of the main causes of peptic ulcer. The aim of this study was to investigate the relationship between Lewis blood group antigens and H. pylori induced peptic ulcer.

Material and Methods: Blood and saliva samples from 60 patients with peptic ulcer caused as a result of H. pylori infection and 44 healthy individuals (control group) were collected. Types of Lewis antigens and secretory state of subjects were determined using direct agglutination and saliva tests, respectively. In order to find the relationship between Lewis blood group antigens and H. pylori induced peptic ulcer, Chi-Square test using SPSS statistics software version 17.0 (SPSS Inc., U.S.A.) was applied.

Results: Seventy two percent of the patients and sixty one percent of the healthy individuals were secretor and expressed Lewis B antigen. No significant relationship was observed between Lewis blood group antigens and H. pylori induced peptic ulcer.

Conclusion: No significant correlation was found between Lewis B antigen and presence of H. pylori induced peptic ulcer. Further studies for identification of the role of other factors like Lewis X and Sialyl Lewis X in binding, colonization and virulence of H. pylori infection are recommended.

Keywords: Lewis Blood-Group System, Peptic Ulcer, Helicobacter pylori

***Corresponding author:**
E-mail: Infofajr@laboratory.com

Citation: Mahdavi M, Mahdavi MR, Roshan P, Hojati MT. Investigation of Relationship between Expression of Lewis B Antigen and Helicobacter Pylori Induced Peptic Ulcer in Sari. Med J Tabriz Uni Med Sciences Health Services. 2016;38(2):86-90.

مقاله پژوهشی

ارتباط بین بیان آنتی ژن لوییس B (Leb) و اولسر معده ایجاد شده توسط عفونت هلیکوباکتر پیلوری در شهرستان ساری

مهراد مهدوی[۱]، محمدرضا مهدوی[۲]، پیام روشن[۱*]، محمد طاهر حجتی[۱]

[۱]مرکز تحقیقات سینای مهر، ساری، ایران
[۲]مرکز تحقیقات تالاسمی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

دریافت: ۹۲/۱۲/۲۷ پذیرش: ۹۳/۲/۹

چکیده

زمینه و اهداف: بعضی از گروه‌های خونی در نقش گیرنده برای پاتوژن‌ها ظاهر می‌شوند و برخی مطالعات ارتباطی را میان آنتی‌ژن های گروه‌های خونی لوییس و ابتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری که از عوامل عمده ایجاد کننده اولسر معده می‌باشد گزارش کرده‌اند. با این وجود، مطالعات دیگری عدم وجود ارتباط ذکرشده بوده‌اند. هدف از این مطالعه بررسی وجود هرگونه ارتباط بین گروه‌های خونی لوییس و اولسر معده ایجاد شده توسط عفونت هلیکوباکترپیلوری در استان مازندران بوده است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه نمونه‌های بزاق و خون از ۶۰ نفر از مبتلایان به اولسر معده ایجاد شده توسط هلیکوباکترپیلوری، انتخاب گردیدند. همچنین ۴۴ نفر از افراد سالم نیز بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. سپس نوع آنتی‌ژن خونی لوییس و وضعیت ترشحی این افراد با استفاده از روش‌های آگلوتیناسیون مستقیم و تست بزاق بررسی شدند. وجود هر گونه ارتباط بین اولسر معده ناشی شده از عفونت با هلیکوباکترپیلوری و آنتی‌ژن‌های گروه خونی لویس با تست کای دو و با استفاده از ورژن ۱۷ از نرم افزار SPSS (SPSS Inc., U.S.A.) مورد آنالیز قرار گرفت.

یافته‌ها: بطور کل، ۷۲ درصد از افراد بیمار و ۶۲ درصد از گروه کنترل دارای آنتی‌ژن لوییس‌بی بوده و وضعیت ترشحی داشتند. هیچ ارتباط مشخصی بین آنتی‌ژن‌های گروه خونی لوییس و ابتلای به اولسر معده ناشی از عفونت هلیکوباکترپیلوری دیده نشد.

نتیجه‌گیری: از آن جایی که هیچ ارتباط مشخصی بین آنتی‌ژن‌های گروه خونی لوییس و ابتلای به اولسر معده ناشی از عفونت هلیکوباکترپیلوری مشاهده نشد تحقیقات بیشتر به منظور شناسایی نقش سایر فاکتورها از قبیل لوییس ایکس و سیالیل لوییس ایکس در اتصال، تشکیل کلونی و بیماری زایی هلیکوباکترپیلوری توصیه می‌گردد.

کلید واژه‌ها: سیستم گروه خونی لوییس، هلیکوباکتر پیلوری، زخم معده

* ایمیل نویسنده رابط: info@fajrlaboratory.com

مقدمه

آنتی‌ژن‌های گروه خونی لوییس شامل دو نوع آنتی‌ژن می‌باشند. آنتی‌ژن‌های تیپ ۱ از قبیل لوییس A و لوییس B و آنتی ژن های تیپ ۲ که خود شامل لوییس X و لوییس Y می‌شود. این آنتی ژن‌ها به لحاظ ساختاری به آنتی ژن‌های ABO و H/h در سیستم‌های گروه خونی شبیه هستند. لوییس B یک گروه خونی غالب می‌باشد که در گلبول‌های قرمز و سلول‌های مخاطی افراد دارای ژن ترشح کننده بیان می‌شود، در حالی که آنتی ژن لوییس آ در افراد غیر ترشح کننده بیان می‌شود (۱). گروه خونی لوییس از طریق اضافه شدن متوالی مونوساکاریدهای اختصاصی به انتهای ساکاریده شده‌ی زنجیره پیش ساز آن در گلیکولیپیدها و یا گلیکوپروتئین‌ها بوجود می‌آید. گلیکولیپیدهایی که بر روی غشای گلبول‌های قرمز قرار دارند در بافت اریتروئیدی سنتز نمی‌شوند بلکه فرم محلول آنها که متصل به لیپوپروتئین‌ها می‌باشند به وسیله غشای گلبول‌های قرمز از سایر بافت ها جذب می‌شوند. آلفا فوکوزیل ترانسفراز به وسیله ژن FUT2 یا ژن ترشح کننده (Se) از سیستم گروه خونی H/h بیان می‌شود. اضافه شدن قند فوکوز

بوسیله آنزیم FUT2 منجر به بروز فنوتیپ Lea-b+ می‌شود. همچنین آنتی ژن‌های گروه خونی لویس که به طور طبیعی در مخاط معده انسان وجود دارند بر روی زنجیره اختصاصی O لیپو پلی ساکارید باکتری هلیکوباکتر پیلوری بیان می‌شوند (۲). حضور آنتی ژن‌های گروه خونی با افزایش خطر ابتلا به اولسر معده و حتی سرطان معده همراه است. گزارش شده است که آنتی ژن لوییس B یکی از گیرنده های هلیکوباکتر پیلوری می‌باشد که یک پاتوژن معمول در انسان و از دلائل عمده ایجاد گاستریت مزمن فعال می‌باشد. عفونت هلیکوباکتر پیلوری با گسترش زخم های معده همراه است و این باکتری به طور گسترده‌ای در اپیتلیوم معده و مخاط دوازدهه افراد مبتلا به آدنوکارسینوم معده یافت شده است (۳). فاکتوری که به آنتی ژن‌های گروه خونی متصل می‌شود (BabA)، همچنین یک فاکتور متصل شونده به باکتری هلیکوباکترپیلوری می‌باشد که به آنتی ژن‌های گروه خونی لوییس B متصل می‌شود و احتمالا در بیماری‌زایی باکتری (از طریق قادر ساختن باکتری به اتصال با سلول‌های اپیتلیال و دریافت سایر فاکتورهای بیماری‌زا) نقش دارد (۴).

BabA به خانواده بزرگ پارالوگ‌های پروتئین‌های غشای خارجی باکتری تعلق دارد (۵). در یک مطالعه، ارتباطی بین وجود ژن BabA در باکتری هلیکوباکترپیلوری و ایجاد زخم معده و آدنوکارسینوما یافت شد (۶). مطالعات متعددی نشان دادند که گروه خونی لوییس B و آنتی ژن‌های H در اتصال باکتری هلیکوباکترپیلوری به مخاط معده نقش دارند (۷) و BabA بعنوان یک واسطه در اتصال هلیکوباکترپیلوری به لوییس B انسانی در اپیتلیوم معده عمل می‌کند (۳ و۸). به نظر می‌رسد اتصال به آنتی ژن‌های لوییس B درفاز ثابت هلیکوباکترپیلوری رخ می‌دهد (۹).

با این وجود مطالعات اخیر در نقش لوییس B بعنوان یک فاکتور مهم در اتصال به هلیکوباکترپیلوری تردید ایجاد کردند. مطالعه حاضر به بررسی وجود ارتباط بین بیان آنتی ژن لوییس B و بروز اولسر معده ناشی از عفونت هلیکوباکترپیلوری می‌پردازد.

مواد و روش ها

در مطالعه حاضر ۶۰ بیمار دارای زخم معده (تایید شده بوسیله اندوسکوپی) که برای تست هلیکوباکترپیلوری نیز مثبت بوداند از کلینیک طوبی دانشگاه علوم پزشکی مازندران به مرکز آزمایشگاهی فجر ارجاع داده شدند و مورد مطالعه قرار گرفتند. پس از اخذ رضایت از کلیه بیماران نمونه‌های خون و بزاق آنان جمع‌آوری گردید. همچنین در این مطالعه ۴۴ فرد سالم به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند. افراد گروه کنترل از لحاظ سن، نژاد، قومیت و توزیع جنسیت متناسب با گروه بیماران در نظر گرفته شدند.

فنوتیپ لوییس B در گلبول‌های قرمز با استفاده از آنتی بادی-های مونوکلونال(Bio-Rad Medical diagnostics GmbH, Dreieich, Germany) علیه آنتی ژن لوییس B از طریق روش دستی انجام گردید. به طور خلاصه گلبول‌های قرمز خونی از نمونه‌های خون بیماران جدا شدند و و یک سوسپانسیون ۳ تا ۵ درصد از آنان آماده گردید. سپس ۳۰ میکرولیتر از آنتی بادی لوییس B به ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون تهیه شده اضافه گردید و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفت. سپس لوله‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و زیر میکروسکوپ بررسی شدند. در صورت وجود آگلوتیناسیون، نمونه از نظر وجود آنتی ژن مثبت تشخیص داده شد.

به منظور تشخیص وضعیت ترشحی افراد شرکت کننده ابتدا نمونه‌های بزاق به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد حرارت داده شدند تا فعالیت آنزیمی و ایمونوگلوبولین A برطرف گردند. سپس نمونه‌ها در دور ۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند و مایع رویی جمع‌آوری گردید. برای هر نمونه دو لوله جهت تست استفاده شد. تمامی لوله‌ها شامل آنتی بادی سازگار علیه گروه خونی (ساخت شرکت سینا ژن) بودند، در یک لوله ۳۰ میکرولیتر از مایع رویی (لوله تست) و در لوله دیگر ۳۰ میکرولیتر سالین (لوله کنترل) اضافه گردید.

پس از ۱۵ دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق، ۳۰ میکرولیتر از سوسپانسیون خونی سازگار با گروه خونی افراد به هر لوله اضافه گردید. لوله‌ها به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق انکوبه شدند و به مدت ۱ دقیقه در دور ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شدند. افرادی که در لوله تست آگلوتیناسیون نشان دادند بعنوان افراد ترشح کننده در نظر گرفته شدند. نتایج جمع‌آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS مورد آنالیز قرار گرفتند. به منظور بررسی وجود ارتباط از تست کای دو استفاده شد. **P**<۰/۰۵ به لحاظ آماری معنی‌دار درنظر گرفته شد.

یافته‌ها

در مطالعه حاضر۶۰ بیمار مثبت برای هلیکوباکترپیلوری که دچار زخم معده بودند (۳۳ زن و ۲۷ مرد) به جهت دارا بودن آنتی ژن لوییس B و وضعیت ترشحی این آنتی ژن مورد مطالعه قرار گرفتند. ۷۲٪ از این افراد دارای آنتی ژن لوییس B بوده‌اند. تعداد ۴۴ نفر نیز بعنوان گروه کنترل در نظر گرفته شدند (۲۷ مرد و ۱۷ زن) که از این تعداد ۶۱٪ آنتی ژن لوییس B را بیان کردند (جدول ۱). آنالیز آماری این نتایج نشان داد که بیان آنتی ژن لوییس B به طور معناداری بین دو گروه متفاوت نمی‌باشد (**P** =۰/۲۷).

جدول ۱:جنس، گروه خونی، وضعیت ترشحی و بیان آنتی ژن لوییس B در بیماران مبتلا به زخم معده و گروه کنترل

گروه	جنس(٪)		گروه خونی (٪)				وضعیت ترشحی (٪)		بیان آنتی ژن لویس (٪)	
	مرد	زن	A	B	AB	O	مثبت	منفی	مثبت	منفی
بیماران	۲۷ (٪۴۵)	۳۳ (٪۵۵)	۱۱ (٪۱۸)	۱۶ (٪۲۷)	۳ (٪۵)	۳۰ (٪۵۰)	۴۳ (٪۷۲)	۱۷ (٪۲۸)	۴۳ (٪۷۲)	۱۷ (٪۲۸)
کنترل	۲۶(٪۵۸)	۱۸ (٪۴۲)	۱۵ (٪۳۵)	۵ (٪۱۱)	۵ (٪۱۱)	۱۹ (٪۴۳)	۲۷ (٪۶۱)	۱۷ (٪۳۹)	۲۷ (٪۶۱)	۱۷ (٪۳۹)

بحث

در این مطالعه وجود هرگونه ارتباط بین ابتلا به هلیکوباکترپیلوری در فرد و بیان آنتی ژن گروه خونی لوییس B مورد بررسی قرار گرفت. یافته‌ها یی مبتنی بر بیان آنتی ژن‌های گروه خونی لوییس B در سویه‌های هلیکوباکترپیلوری نظریه‌هایی را ایجاد نمود مبنی بر اینکه آنتی ژن‌های لوییس B که در سلولهای اپیتلیوم معده وجود دارد بعنوان گیرنده هلیکوباکترپیلوری نقش ایفاء می‌کنند (۳). در بررسی حاضر، هیچ ارتباط مستقیمی بین ژنوتیپ لوییس B و ابتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری یافت نشد.

یافته‌های مطالعه حاضر نتایج مطالعات متعدد دیگر را تایید می‌کند. Yei و همکاران به بررسی ۳۴۷ بیمار مبتلا به اولسر معده پرداختند که از این تعداد ۸۳/۳٪ مبتلا به عفونت هلیکوباکترپیلوری بودند. مطالعه آنان هیچ گونه ارتباطی را بین نوع ژنوتیپ آنتی ژن لوییس و اولسر معده یا سرطان معده نشان نداد. آن‌ها پیشنهاد دادند که آنتی ژن لوییس B ممکن است در بیماری‌زایی هلیکوباکترپیلوری نقشی نداشته باشد (۲). در دو مطالعه جداگانه Umlauft و همکاران و سلاین و همکاران هیچ ارتباطی را بین عفونت با هلیکوباکترپیلوری و بیان آنتی ژن‌های H و لوییس B مشاهده نکردند (۷ و ۱۰). به علاوه آنان مشاهده کردند که آنتی‌ژن های گروه خونی در بیماران و گروه کنترل توزیع یکسانی دارد. نتایج مطالعه حاضر نیز مشابه بررسی‌های ذکر شده می‌باشد.

همچنین چندین مطالعه با شرایط In vitro نیز به بررسی نقش این رسپتورها در بی‌حرکت کردن باکتری و شروع کلونی سازی پرداخته‌اند. Zheng و همکاران نشان دادند که آنتی ژن بررسی شده ممکن است نقش رسپتور باکتری را بازی کند تا این که در ایجاد عفونت نقش داشته باشد (۳).

تفاوت‌های موجود در سویه‌های باکتری‌ها و احتمال وجود مکانیسم‌های متفاوت بیماریزایی، ارزش مطالعات آزمایشگاهی مطرح شده در بالا را زیر سوال می‌برند و بنابراین بر مبنای این بررسی‌های بر مبنای شرایط In vitro نمی‌توان نتیجه‌گیری نمود میان ژنوتیپ‌های گروه خونی لوییس و عفونت با هلیکوباکترپیلوری ارتباطی وجود دارد.

با این وجود مطالعاتی با نتایج متفاوت با مطالعه حاضر نیز صورت پذیرفته‌اند. Nogueira و همکاران گزارش کردند که بیان آنتی ژن لوییس در کودکان مبتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری در مقایسه با گروه سالم تقریبا دو برابر می‌باشد (۱۱). در مطالعه ذکر شده ۷۰ کودک با اولسر معده از طریق تکنیک‌های ایمونوهیستوشیمی به منظور بررسی بیان آنتی ژن‌های لوییس A، لوییس B ، لوییس X و لوییسY , در بافت‌های آنترال و مخاط معده بررسی شدند. آن‌ها نشان دادند که بیان آنتی ژن سطحی لوییس X به طور واضحی مرتبط با زخم اثنی عشر در بیماران مبتلا به هلیکوباکتر پیلوری بوده است. در مطالعه دیگری Yang و همکاران با انجام آزمایشات ایمنوهیستوشیمیایی برای آنتی ژن‌های لوییس B، لوییس X و سیالیل لوییس X بر روی ۶۸ کودک و ۱۱۰ نفر از افراد بالغ دارای سوءهاضمه پرداختند که نتایج این پژوهش نشان داد که بیان آنتی ژن لوییس در معده افراد بالغ و کودکان متفاوت است که می‌تواند به علت الگوی متفاوت کلونی سازی در سیستم گوارشی افراد بالغ و کودکان باشد (۱۲). آن‌ها همچنین گزارش کردند که بیان و تجمع بافتی موسین‌ها، و لوییس B، لوییس X و سیالیل لوییس X در کودکان غیر مبتلا و بالغین شبیه یکدیگر است. در حالی که بر خلاف بالغین، کودکان فاقد آنتی ژن لوییس B در مقایسه با کودکان دارای آنتی ژن لوییس B دارای چگالی بیشتری از هلیکوباکتر پیلوری بوده‌اند. این نتایج قویا نشان می‌دهد که وضعیت ترشحی و آنتی ژن لوییس دارای یک نقش ذاتی در مقاومت به هلیکوباکتر پیلوری هستند، لذا پیشنهاد کردند که آنتی ژن‌های ترشحی فکوزیله عامل فعالی در سیستم ایمنی ذاتی موکوسی جوان در انسان می‌باشد. به علاوه، نقش‌های احتمالی سایر زیر گروه‌های گروه خونی لوییس نباید نادیده گرفته شود. Taylor و همکاران به نتایج قابل تأمّلی در مورد فقدان ارتباط بین ابتلا به عفونت هلیکوباکتر پیلوری و زخم معده رسیدند اما با ارزیابی میکروگراف ایمونوالکترونی کنش میان هلیکوباکتر پیلوری و سلول‌های اپیتلیوم معده، نقشی احتمالی برای زیرگروه لوییس–ایکس در فرایند چسبندگی قائل شدند (۱۳).

نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر، میان بیان لوییس B در سطح گلبول‌های قرمز و بروز اولسر معده ناشی از عفونت با هلیکوباکتر پیلوری هیچ ارتباط مشخصی را نشان نمی‌دهد. این نتایج همسو با نتایج چندین مطالعه دیگر پیشنهاد می کند که نقش آنتی ژن‌های لوییس B، لوییس X ، سیالیل لوییس X و سایر فاکتورهای دیگر در اتصال، تشکیل کلونی و بیماری‌زایی هلیکوباکتر پیلوری می‌بایست بیشتر مورد مطالعه قرار بگیرد.

References

1. Heneghan MA, McCarthy CF, Moran AP. Relationship of blood group determinants on Helicobacter pylori lipopolysaccharide with host Lewis phenotype and inflammatory response. *Infect Immun* 2000; **68**(2): 937-941.
2. Yei CJ, Chang JG, Shih MC, Lin SF, Chang CS, Ko FT, et.al. Lewis blood genotypes of peptic ulcer and gastric cancer patients in Taiwan. *World J Gastroenterol* 2005; **11**(31): 4891-4894.
3. Zheng PY, Hua J, Ng HC, Yeoh KG, Bow H. Expression of Lewis (b) blood group antigen in Helicobacter pylori does not interfere with bacterial adhesion property. *World J Gastroenterology* 2003; **9(1)**: 122-124.

4. Prinz C, Schöniger M, Rad R, Becker I, Keiditsch E, Wagenpfeil S, et.al. Key importance of the Helicobacter pylori adherence factor blood group antigen binding adhesion during chronic gastric inflammation. *Cancer Res* 2001; **61(5)**: 1903-1909.
5. Ilver D, Arnqvist A, Ögren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et.al. Helicobacter Pylori Adhesin Binding Fucosylated Histo-Blood Group Antigens Revealed By Retagging. *Science* 1998; **279**: 373-377.
6. Gerhard M, Lehn N, Neumayer N, Borén T, Rad R, Schepp W, et.al. Clinical relevance of the Helicobacter pylori gene for blood-group antigen-binding adhesion. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 12778-12783.
7. Umlauft F, Keeffe EB, Offner F, Weiss G, Feichtinger H, Lehmann E, et.al. *Helicobacter pylori infection and blood group antigens: lack of clinical association. Am J Gastroenterol* 1996; **91**(10): 2135-2138.
8. Sheu SM, Sheu BS, Yang HB, Lei HY, Wu JJ. Anti-Lewis X antibody promotes Helicobacter pylori adhesion to gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2007; **75(6)**: 2661-2667.
9. Falk P, Roth KA, Borén T, Westblom TU, Gordon JI, Normark S. An in vitro adherence assay reveals that Helicobacter pylori exhibits cell lineage-specific tropism in the human gastric epithelium. *Proc Acad Natl Sci USA* 1993; **90**: 2035-2039.
10. Clyne M, Drumm B. Absence of effect of Lewis A and Lewis B expression on adherence of Helicobacter pylori to human gastric cells. *Gastroenterology* 1997; **113**(1): 72-80.
11. Nogueira AM, Marques T, Soares PC, David L, Reis CA, Serpa J, et.al. Lewis antigen expression in gastric mucosa of children: relationship with Helicobacter pylori infection. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; **38(1)**: 85-91.
12. Yang YJ, Wu JJ, Sheu BS, Chen CR, Lu CC, Yang HB. Helicobacter pylori infection can change the intensity of gastric Lewis antigen expressions differently between adults and children. *J Biomed Sci* 2008; **15**(1): 29-36.
13. Taylor DE, Rasko DA, Sherburne R, Ho C, Jewell LD. Lack of correlation between Lewis antigen expression by Helicobacter pylori and gastric epithelial cells in infected patients. *Gastroenterology* 1998; **115(5)**:1113-22.