



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة بابل / كلية العلوم للبنات
قسم علوم الحياة

**دور بعض تعدد الأشكال الجينية للأفراد على قابلية إصابتهم
بالبكتريا الحلزونية البوابية (*Helicobacter pylori*)**

رسالة مقدمة
إلى مجلس كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل/ وهي جزء من متطلبات نيل درجة
الماجستير في علوم الحياة

من قبل الطالبة

زهراء محمد عليوي كريدي

(بكلوريوس علوم حياة / جامعة بابل / كلية العلوم/2006)

بإشراف

أ.م.د. زينب عبد النبي طليفيح

أ.د. اسراء عدنان إبراهيم

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(يَرْفَعُ اللَّهُ الَّذِينَ آمَنُوا مِنْكُمْ وَالَّذِينَ أُوتُوا
الْعِلْمَ دَرَجَاتٍ وَاللَّهُ بِمَا تَعْمَلُونَ خَبِيرٌ)

صدق الله العلي العظيم
سورة المجادلة: الآية (11)

توصية الأستاذ المشرف

نشهد أن الرسالة الموسومة ب دور بعض تعدد الأشكال الجينية للأفراد على قابلية اصابتهم بالبكتريا الحلزونية البوابية (*Helicobacter pylori*) أعدتها الطالبة (زهراء محمد عليوي) تحت إشرافنا في قسم علوم الحياة/ كلية العلوم للبنات/ جامعة بابل ، وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة .

التوقيع:

التوقيع:

اسم المشرف: د. اسراء عدنان ابراهيم

اسم المشرف: د. زينب عبد النبي طليح

المرتبة العلمية: أستاذ

المرتبة العلمية: أستاذ مساعد

التاريخ: / / 2022

التاريخ: / / 2022

توصية رئيس قسم علوم الحياة

في ضوء التوصية المتاحة ، أحيلت هذه الرسالة للمناقشة من قبل لجنة الفحص .

التوقيع:

الاسم: د. هادي مزعل خضير

المرتبة العلمية: أستاذ

العنوان : كلية العلوم للبنات / جامعة بابل

التاريخ: / / 2022

الاهداء

إلى

الحاضر الغائب عن هذا العالم والدي العزيز

بقية قلبي والدتي الحنونة

أختي وأخوتي الأحباء

سر سعادتي في الحياة

فرحة قلبي ابنتي أية

كل شخص ساندني بحب لاينتهي

كل من تمنى لي التوفيق والتقدم في حياتي

أقدم خالص الشكر والامتنان



شكر وتقدير

أولاً وقبل كل شيء ، أحمد الله التقدير على إعطائي الصحة والقوة لإنجاز هذا العمل . والصلاة والسلام على محمد عبده ورسوله وأل بيته الأطهار.

أود أن أعبر عن خالص شكري لمعلمي ومشرفي (الأستاذ د. اسراء عدنان ابراهيم) و(الأستاذ المساعد د. زينب عبد النبي) على نصائحهم ومساعدتهم وتوجيههم خلال هذا العمل.

أحب أن أعبر عن شكري لرئاسة جامعة بابل ولعمادة كلية علوم النبات، لأعطائي فرصة في الدراسة وتوفير التسهيلات اللازمة. أود أن أعرب عن شكري لقسم علوم الحياة على مساعدته ودعمه المستمر.

أتمنى أن أعبر عن شكري لعائلتي وأصدقائي الذين ساعدوني في هذا العمل . شكرا جزيلا لجميع الناس الذين ساندوني.

الخلاصة:

تعد بكتريا *Helicobacter pylori* أحد أجناس عائلة *Helicobacteraceae* , وتكون مرتبطة مع امراض الجهاز الهضمي مثل التهاب المعدة والقرحة الهضمية وقرحة الأثني عشري وسرطان المعدة لدى الأشخاص المصابين . يؤثر التباين الجيني للعديد من الجينات المناعية والجينات الأخرى على قابلية البكتريا للعدوى.

هدفت هذه الدراسة الى التحقق من علاقة عدوى *H.pylori* بجنس المريض وفصائل الدم والعمر لدى المصابين وقابلية الاصابة بالتهاب المعدة بوساطة عدوى البكتريا , فضلا عن التحقيق في فعالية تباين تعدد الأشكال الجيني لجينات الأستجابة المناعية مثل جين *IL-1RN 86 VNTR* , *IL-1B511* , و *IL-1B + 3954* والجينات الأخرى مثل جين *Pepsinogen-II ins/del* , *MUC1 5640G>A* .

إذ إن القرحة الهضمية والتهاب المعدة الشديد المصاحب لعدوى *H.pylori* منتشر على نطاق واسع في العراق.

تم تشخيص 50 عينة لأشخاص مصابين بعدوى *H.pylori* في المختبرات المرتبطة بأطباء الجهاز الهضمي (مختبر الكندي) بمحافظة بابل في المدة من شهر ايلول 2021 إلى تشرين الثاني 2021, جمعت عينات الدم في انابيب EDTA لكل مريض وأيضا 50 عينة لأشخاص غير مصابين كمجموعة سيطرة. تم استخلاص الحمض النووي (DNA) باستعمال مجموعة (G-spin/ Korea) DNA extraction kit , واستخدام المزيج الرئيس (Master mix (Promega/USA , ثم اجراء تقنية PCR (مضاعفة الحمض النووي خارج الجسم الحي) , الترحيل الكربائي بجل الاكاروز إذ يتحلل الحمض النووي . أظهرت النتائج أن معظم حالات الأصابة بعدوى *H.pylori* , كانت بنسبة اكثر في النساء وكذلك بنسبة اكبر في الأشخاص الذين يحملون فصيلة الدم O, كذلك تزداد الأصابة بتقدم العمر . لم يكن لتعدد الأشكال الجيني لجينات (*MUC1* , *IL-1B511* , *IL-1B + 3954*) , *MUC1 5640G>A* أي ارتباط معنوي بالأصابة بعدوى *H.pylori* , إذ لا يوجد فرق معنوي بين الأنماط الوراثية و الاليلات إذ كانت قيم P على التوالي ($P = 0.38$, $P = 0.38$, $P = 0.38$) . (=

توصلت هذه الدراسة إلى وجود إرتباط بين تعدد الأشكال الجينية في موضع الجين *Pepsinogen-II ins/del* والأصابة ببكتريا *H.pylori*.

اظهر النمط الوراثي LL زيادة في مجموعة السيطرة التي توفر الحماية لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من الأصابة بالقرحة الهضمية بعدوى *H.pylori* إذ ($p = 0.0001$ *) . وكذلك يوجد ارتباط معنوي بين تعدد الأشكال الجيني في موضع الجين *IL-1RN 86 VNTR* والقرحة الهضمية في المعدة إذ كانت قيمة P ($P = 0.001$) .

ولخصت النتائج ان جنس المصاب وفصيلة الدم والعمر تؤثر على الأصابة بعدوى *H.pylori*.

إلى جانب ذلك التباين الجيني للعديد من الجينات التي تؤثر على الأصابة , وهي (*IL-1RN 86*) التي تزيد من القابلية للأصابة بعدوى *H.pylori* , في حين لم يكن لتعدد الأشكال الجيني (*MUC1 5640G>A* , *IL-1B511* , *IL-1B+3954*) علاقة بالأصابة , اما في تعدد الأشكال الجيني في موضع الجين *Pepsinogen-IIins/del* ظهر النمط الجيني LL كعامل

قائمة المحتويات

المحتويات	رقم الصفحة
الأهداء	
الشكر والتقدير	
الخلاصة	I
المحتويات	III
قائمة الجداول	VII
قائمة الأشكال	VIII
قائمة الأختصارات	X

المحتويات

رقم الصفحة		الرقم
	الأهداء	
	الشكر والتقدير	
I	الخلاصة	
III	المحتويات	
VII	قائمة الجداول	
VIII	قائمة الأشكال	
X	قائمة الأختصارات	
1-5	الفصل الأول: المقدمة	
1	الفصل الأول : المقدمة	1
1-5	المقدمة	1.1
5	الهدف من الدراسة	
6-22	الفصل الثاني : استعراض المراجع	
6	الفصل الثاني : استعراض المراجع	2
6-7	لمحة تاريخية	2.1
7-8	تصنيف بكتريا <i>H.pylori</i>	2.2
8-10	الخصائص العامة ومتطلبات نمو البكتيريا	2.3
10-11	طرق انتقال بكتريا <i>H.pylori</i>	2.4
11-13	عوامل الضراوة	2.5
13	تقنيات تشخيص البكتريا	2.6
14	الطرق التي تعتمد للكشف عن وجود البكتيريا	2.7
14	الطرائق المزرعية	2.7.1
14	التنظير	2.7.2
15	تفاعل البوليمرايز المتسلسل	2.7.3

16	الأمراض المرتبطة بكتريا <i>H. pylori</i>	2.8
16-17	سرطان المعدة	2.8.1
17	قرحة الأثني عشري	2.8.2
17-18	التهاب المعدة النشط المزمن والقرحة الهضمية	2.8.3
18-20	دور المناعة بعدوى بكتريا <i>H. pylori</i>	2.9
20	دور <i>Muc1</i> بعدوى بكتريا <i>H. pylori</i>	2.10
21	علاقة <i>H. pylori</i> <i>Pepsinogen-II ins/del gene</i> بعدوى	2.11
21-22	علاقة مجاميع الدم بالأصابة والجينات	2.12
23-34	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل	
23	الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل	3
23	المواد	3.1
23-24	الأجهزة المختبرية (الأجهزة والأدوت)	3.1.1
24-26	المواد الكيميائية والبايولوجية والجزيئية	3.1.2
26	طرق العمل	3.2
26-27	جمع العينات	3.2.1
27	تصميم الدراسة	3.2.2
28	استخلاص DNA	3.2.3
29	قياس تركيز و نقاوة الحمض النووي	3.2.4
29	خطوات تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)	3.2.5
29	تحضير محلول الخزين للبادئ	3.2.5.1
29-31	خطوات تفاعل البوليميراز المتسلسل	3.2.5.2
31	الكشف عن التغيرات الجيني بأستعمال	3.2.6
31	تقنية PCR - RFLP	3.2.6.1
32-33	الترجيل الكهربائي بهلام الأكاروز	3.2.7
33	تصوير الحمض النووي	3.2.8
34	التحليل الاحصائي	3.3
34	الموافقة الأخلاقية	3.4
35-59	الفصل الرابع : النتائج و المناقشة	
35	الفصل الرابع : المناقشة والنتائج	4
35-36	توزيع المرضى حسب الجنس	4.1
36	توزيع المرضى حسب العمر	4.2
38	توزيع المرضى وفقا لفصائل الدم	4.3
40	الدراسة الجزيئية	4.4
40-43	التحري عن طفرة جين <i>IL-1B 511</i>	4.4.1
43-45	التحري عن طفرة جين <i>IL-1B + 3954</i>	4.4.2
46-49	التحري عن طفرة جين <i>IL-1RN 86 VNTR</i>	4.4.3
49-52	التحري عن طفرة جين <i>MUC1 5640G>A</i>	4.4.4
53-56	التحري عن طفرة جين <i>Pepsinogen-II ins/del</i>	4.4.5
57	الأستنتاج	
58	التوصيات	
60-74	المراجع	

قائمة الجداول

رقم الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
23-24	قائمة بالأجهزة والأدوات المستخدمة في الدراسة	3-1
24-25	المواد الكيميائية والبايولوجية والعدد الجزيئية المستعملة بالدراسة	3-2
25-26	تسلسلات البوادي المستخدمة ودرجة الذوبان واحجام القطع	3-3
29-30	محتوى master mix	3-4
30	محتويات خليط التفاعل	3-5
30-31	ظروف التفاعل لتضخيم جينات الهدف قيد الدراسة المستخدمة	3-6
36	توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة <i>H.pylori</i> حسب الفئة العمرية	4-1
38	توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بعدوى <i>H.pylori</i> حسب فصيلة الدم	4-2
42-43	يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني <i>IL-1B 511</i> بين المرضى والأصحاء	4-3
45-46	يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني <i>IL-1B + 3954</i> بين المرضى والأصحاء	4-4
49	يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني <i>IL-1RN</i> بين المرضى والأصحاء	4-5
53	يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني <i>MUC1 5640G>A</i> بين المرضى والأصحاء	4-6
56-57	يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني <i>Pepsinogen-II</i> بين المرضى والأصحاء	4-7

قائمة الأشكال

رقم الصفحة	موضوع الشكل	رقم الشكل
35	توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة الحلزونية البوابية <i>H.pylori</i> حسب الجنس	4-1
37	توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة الحلزونية البوابية <i>H.pylori</i> حسب الفئات العمرية	4-2

39	توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة الحلزونية البوابية <i>H.pylori</i> حسب فصائل الدم	4-3
40	الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين <i>IL-1B</i> 511	4-4
43	الترحيل الكهربائي لنتاج تفاعل بلمرة الدنا لجين <i>IL-1B</i> قبل المعاملة بأنزيم التقييد <i>TAG1</i> 3954	4-5
44	الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين <i>IL-1B</i> 3954	4-6
46	الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين <i>IL-1RN</i>	4-7
50	الترحيل الكهربائي لنتاج تفاعل بلمرة الدنا لجين <i>MUC1</i> قبل المعاملة بأنزيم التقييد <i>AIWNI</i>	4-8
51	الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين <i>MUC1</i> 5640G>A	4-9
55	الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين <i>Pepsinogen-II</i> من نوع الحذف/ إضافة	4-10

المختصرات

التعريف	الأختصار
Cytotoxin-associated gene A	CagA
Deoxyribonucleic Acid	DNA
Duodenal ulcer	DU
Helicobacter pylori	H.pylori
Hypoxia-inducible factor(HIF-1) alpha	HIF-1 α
Hsp70 - Hsp90 Organizing Protein	Hop
Lewis B	Leb
Lipopolysaccharide	LPS
Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of (nuclear factor-kappa B) activated B cells	NF-kB
Outer membrane protein	OMP
Polymerase chain reaction	PCR
Perforated Duodenal ulcer	PDU
Proton pump inhibitor	PPI
Ribosomal ribonucleic Acid	rRNA
Rapid urease test	RUT
Stool Antigen Test	SAT
Tris-borate-EDTA	TBE

Urea Breath Test	UBT
Vacuolating cytotoxin A	VacA

الفصل الأول

المقدمة

1- الفصل الأول: المقدمة

1.1. المقدمة :

تعد بكتريا الحلزونية البوابية *H.pylori* من المسببات الرئيسية التي ترتبط مع امراض الجهاز الهضمي ، أذ تلعب دورا مهما في أحداث اخماج المعدة والأثني عشري سيما القرحة الهضمية - المعدية. تكون بكتريا *H.pylori* سالبة لصبغة غرام ، حلزونية الشكل تستعمر الغشاء المخاطي تم عزلها من النسيج الظهاري للمعدة (El-Deeb Al-Madboly,2021). سميت بكتيريا *H.pylori* لأول مرة *Campylobacter pyloridis* ، وأعيدت تسميتها باسم *Campylobacter pylori* ثم أعيد تصنيفها لاحقاً إلى *Helicobacter pylori* وقد أشارت الخصائص الفسلجية والتركيبية و الوراثة إلى ذلك , يجب أن توضع في جنس جديد (Vellozzi and Giugliano ,2021 ; Goodwin et al.,1989) . وتكون هذه البكتيريا منتشرة على نطاق واسع في العالم أذ تصيب أكثر من نصف سكان العالم (Benson et al.,2004) .

ويتعرض حوالي 79-83 ٪ من سكان العالم لبكتريا *H.pylori* خلال العقدين الأولين من العمر (Amorim et al.,2019) . ارتبطت العدوى بالبكتيريا الحلزونية البوابية ارتباطاً وثيقاً مع التهاب المعدة النشط و المزمن والقرحة الهضمية وسرطان الغدة المعدي المرتبطة بالغشاء المخاطي (Gu and Yang ,2020) . وفي هذا الاطار أجريت دراسات على عينات من بعض السكان لمعرفة العوامل التي تساعد على الإصابة بعدوى بكتريا *H. pylori* , وهناك عدد من الجينات التي تم دراستها لبيان ارتباط تعدد الأشكال الجيني في تحفيز العدوى والأمراض المصاحبة، ومن هذه التغيرات الجينية:

تعدد الأشكال الجينية (*IL-1β* 511 , *IL-1β*+3954):

Interleukin-1β(*IL-1β*) هو مادة التهابية قوية (سايتوكين) يشفر بواسطة جين *IL-1β* ويسهم في العديد من الأنشطة الخلوية بما في ذلك الاستجابة الالتهابية وإفراز حمض المعدة . كذلك له دور في تسرطن المعدة بشكل رئيس من خلال تعدد الأشكال الجيني (Yu al.,2010) (Jayaraman et al.,2013 ; et al.,2010 Waghary ; et

قد يكون لعدوى *H.pylori* علاقة تفاعلية مع جين *IL-1β* مباشرة او مع ناتج لجين السايوتوكين *IL-1β* . تحفز الخمج بالبكتيريا *H.pylori* تعبير *IL-1B* ، مما يزيد من مستويات *IL-1β* المخاطية ، بينما تنخفض مستويات *IL-1β* بعد القضاء على *H.pylori* (Furuta et al.,2002) .

بالنظر إلى أن *IL-1B* هو مثبط قوي لإفراز حمض المعدة وقد يسهم في تشتت الحلزونية البوابية في المعدة ، ويعد تعدد الأشكال في جين *IL-1B* عامل وراثي رئيس في تحديد نمط التهاب المعدة التي تتطور إلى خطر التحول الخبيث (Uno et al., ; Kato et al., 2001) (2002) .

ويرتبط وجود الأليل *IL-1B* -511T مع ارتفاع مستويات السايوتوكين والالتهاب الشديد أو سرطان المعدة ، بالمقارنة مع الأليل *511C* ، الذي يرتبط مع مستويات منخفضة من *IL-1β* . هذا الارتباط مع عدوى *H.pylori* أو سرطان المعدة لم يكن كبيراً في جميع السكان (Sierra et al., 2005 ; Pérez-Pérez et al., 2007 ; Moorchung et al., 2008) .

وبينت دراسات عديدة منها هذه الدراسة أن تعدد الأشكال الجيني $IL-B+3954$ لا يظهر أي علاقة مع الأنتهاب الشديد الذي يتطور الى سرطان المعدة (Zeng et al., 2003). افادت بعض الدراسات أن مضادات الالتهاب المتعددة التشكل في إنترلوكين 1 ($IL-1\beta$) ومستقبل $IL-1$ الجينات المناهضة ($IL-1RN$) مرتبطة بزيادة مخاطر الإصابة بامراض المعدة مثل السرطان. قد تعزى الاختلافات في مخاطر الإصابة بامراض المعدة لدى الأشخاص المصابين ببكتيريا $H.pylori$ ، جزئيًا إلى الاستعداد الوراثي (Peek and Plasser, 2002). لمستوى المرتفع من $IL-1\beta$ في الغشاء المخاطي للمعدة أن يثبط وظيفة الخلايا المعدية التي يحفزها الكاسترين والخلايا الجدارية ، مما يؤدي إلى انخفاض تركيز الهيستامين وانخفاض إفراز حمض المعدة (Guto, 2003 ; Figueiredo et al., 2014).

وجدت العديد من الدراسات ان المستويات العالية من الأنترلوكين $IL-1B$ ($IL-1B$) في الغشاء المخاطي للمعدة لدى الأشخاص المصابين ببكتيريا $H.pylori$ سيما الذين لديهم التهابات المعدة أو القرحة المعدية أو قرحة الأثني عشري ان تعدد الأشكال الجينية لل $IL-1\beta$ يؤثر أيضا على إنتاج الغشاء المخاطي المعدية نتيجة الاستجابة لعدوى البكتيريا

(Hwang et al., 2002 ; Li et al., 2007) .

تعدد الأشكال الجينية $IL-1RN$ 86 VNTR :

الأنترلوكين ($IL-1$: Interleukin1) هو السايوتوكين المسبب للالتهابات يلعب دورًا رئيسيًا في بدء وتضخيم الاستجابة المناعية الالتهابية الناتجة عن العدوى ببكتيريا $H.pylori$. وتشتمل عائلة الأنترلوكين 1 عدة سلاسل بيتيدية مثل اثنين من السلاسل البيبتيدية هما ($IL-1\alpha$ و $IL-1\beta$) ومستقبلاتها إنترلوكين ($IL-1\alpha R$ و $IL-1\beta R$) ترتبط بمستقبل $IL-1$ النوع الأول ، مما يمنع $IL-1ra$ ربط ملفات $IL-1$ للمستقبلات التي تعمل كمثبط تنافسي لتفاعلات $IL-1/IL-R1$ (Dinarello et al., 2018) .

لتعدد الأشكال $IL-1RN$ VNTR دور مهما في زيادة خطر العدوى $H.Pylori$ ، لاسيما في الآسيويين (Zhang et al., 2017 ; Mayerle et al., 2013) . إذ يشفر جين $IL-1RN$ الى السيتوكين $IL-1RA$ ، وهو مضاد للمستقبلات الداخلية في $IL-1\beta$. تشير العديد من الدراسات إلى أن التعبير الجيني لأليل $IL-1RN$ 2 أعلى بكثير من الأليل $IL-1\beta$ و الأنماط الجينية الأخرى (Hwang et al., 2002 ; Kumar et al., 2012). إذ أن لعائلة الأنترلوكين 1 ($IL-1$) أهمية كبيرة في التهابات ردود الفعل وتنظيم إنتاج $Th1/Th2$ السيتوكينات (Linjawi et al., 2005).

تعدد الأشكال الجينية للميوسين $MUC15640G>A$:

يعد الميوسين من المكونات الرئيسية لبطانة الجهاز الهضمي الغنية بالكربوهيدرات والبروتينات السكرية التي يمكن إفرازها أو ارتباطها بسطح الخلية والتي من الأفضل التعرف عليها لدورها الوقائي في وظيفة الحاجز المخاطي .

أذ يحتوي الميوسين على بروتينات سكرية عالية الوزن الجزيئي ويكون متعدد الأشكال مع عدد متغير من وحدات متكررة. يشفر جين $MUC1$ الى بروتين الميوسين 1 ($mucin$ 1) وهو احد البروتينات المكونة للمادة المخاطية اذ تنتج عدة أنواع من بروتين الميوسين في الجسم لتكوين

المادة الخاطية أو الغشاء المخاطي المبطن لتجاويف الجسم التي لها دورا وقائيا ضد الإصابة بالبكتريا الممرضة (MuGuckin *et al.*,2011). ويتكون الميوسين سكري عالي الوزن الجزيئي ويشكل مع بقية أنواع الميوسين المادة المخاطية التي تشترك بتفاعلات عديدة ضد الإصابة بالأمراض مثل القرحة وسرطان المعدة. ويمتلك جين *MUC1* عدة اشكال جينة (AA,AG,GG) وترتبط هذه الأشكال بالاستعداد الوراثي للإصابة بالقرحة، التهاب المعدة وتسرطن المعدة المحفز ببكتريا *H. pylori* (Silva *et al.*,2001; Saeki *et al.*,2011).

تعدد الأشكال الجينية *Pepsinogen-II ins/del* :

ينتمي الببسينوجين C (PGC) إلى عائلة انزيمات البروتيز الحامضي الأسبارتي (Aspartic acid protease) ويفرز هذا الأنزيم بشكلا غير الفعال (PGC) من الخلايا المعدية وفيما بعد يتم تنشيطه بالمعدة الى الأنزيم المسؤول عن هضم المواد البروتينية في المعدة كذلك يقوم الببسينوجين بعدة وظائف غير معروفة لحد الآن (Shen *et al.*,2017). في السنوات الأخيرة تم اكتشاف تعدد الأشكال لهذا الجين وأن له دور في تحديد شدة المرض المتسبب عن عدوى *H.pylori* (Liu *et al.*,2003). الأشكال الأليلية المختلفة لـ PG-II قد تؤدي إلى تغيير تعدد الأشكال الجيني ومستوياته في المصل ، والتغيرات في مستويات PG-II مرتبطة بالعديد من أمراض المعدة مثل التهاب المعدة ، القرحة الهضمية ، وسرطان المعدة GC. وتفرز في الغالب عن طريق الغدد البوابية في الغشاء المخاطي في المعدة و الغشاء المخاطي الاثني عشر القريب (Storskrubb *et al.*,2003). يعد عدوى *H.pylori* عاملا ، مؤثرا في تباين مستويات PG-II وخطر GC في الأفراد الذي بدوره يشكل خطرا للإصابة بسرطان المعدة (Baek *et al.*,2003).

• الهدف من الدراسة :

تهدف هذه الدراسة إلى التحري عن ارتباط القرحة الهضمية المتسببة بعدوى *H.pylori* بجنس المريض ، عمر المريض وفصيلة دمه . بالإضافة إلى التحري عن دور المتغيرات الوراثية لبعض الجينات المرتبطة بالمناعة مثل جين *IL-1B +3954* ، *MUC15640G>A* ، *IL-1RN* ، *IL-1B511* ، وجين *Pepsinogen-II* كعوامل وقائية أو عوامل خطورة تزيد من قابلية العدوى ببكتريا *H.pylori* حيث تم جمع عينات دم من 50 مريضا تم تشخيص إصابتهم ببكتريا *H.pylori* وإيجابيتهم لاختبار اليوريز و عدد مماثل من الأصحاء ، ثم أستخراج الحمض النووي من الدم باستخدام كتات تجارية ، وبعد ذلك قمنا بأستخدام تقنية تفاعل البوليميريز المتسلسل متبوعة بالترحيل الكهربائي للكشف عن ارتباط تعدد الأشكال الجيني للجينات المرشحة مع عدوى بكتريا *H.pylori* .

الفصل الثاني

استعراض المراجع

2-1. لمحة تاريخية

ارتبط تاريخ بكتيريا *Helicobacter pylori* بتاريخ الإنسان إذ تم إثبات ذلك من خلال التحليلات الجينية ، والتي بينت أن هذه البكتيريا نشأت على الأرجح من شرق إفريقيا وانتشرت حول العالم. يعود أول ذكر لجرثومة الحلزونية البوابية *H. pylori* في المعدة إلى عام 1875 إذ لاحظ كل من جورج بوتشر (Georg-Butcher) ومايكل ليتول (Michael-Letolle) وجود هذه الكائنات الدقيقة في ذلك الوقت ، لكنهم لم يتمكنوا من زراعتها وربما بسبب هذا لم يقدموا اكتشافهم للعالم، ثم بعد ذلك قام مارشال (Marshall) بشرب المعلق البكتيري بنفسه ليثبت أن البكتيريا هي سبب قرحة المعدة والتهاب المعدة. وبعد عدة أيام أصيب بغثيان ورائحة كريهة من فمه ، ثم ظهر تقيؤ. كانت نتائج التنظير الداخلي في اليوم الثامن من التجربة واضحة - التهاب الأمعاء المتقدم وقدت اختفت الأعراض خلال اسبوعين ولكنه تناول المضادات الحيوية للقضاء على ماتبقى من البكتيريا (Fedorowicz *et al.*, 2020). ان لمرض القرحة الهضمية اهتمام واضح في منتصف قرن العشرين ووفقاً للإحصاءات ، خلال السبعينيات في القرن الماضي في الولايات المتحدة ، كان هناك أكثر من 140.000 إصابة بالقرحة في السنة (Balakrishnan *et al.*, 2017 ; Dandona *et al.*, 2017). في عام 1852 تم الكشف بوجود الأمونيا لأول مرة في المعدة ومنذ ذلك الوقت ظلت هدفاً للتحقيق والبحث. يتم استعمال الأجهزة الطبية المصممة للكشف عن الأمونيا التنفسية المنتجة أصلاً في المعدة سريريًا للكشف عن الأمراض الجرثومية سالبة الجرام. عدوى *H.pylori* هي العامل المسبب الأكثر شيوعًا لالتهاب المعدة والقرحة وسرطان المعدة. تتبع هذا الاكتشاف اهتمام واسع النطاق باليوريز (urease) المعدية ، بما في ذلك مجموعة الحيوانات التي يوجد فيها اليوريز فضلاً عن دوره في الصحة والمرض (Graham and Miftahussurur, 2018).

أدى وجود الحلزونية البوابية (*H.pylori*) في معدة الإنسان المعوية إلى تغييرات أساسية ومهمة جدا في المفاهيم الطبية التي طورها أطباء الجهاز الهضمي وعلماء البكتيريا قبل عام 1980. ارتبط وجود الحلزونية البوابية (*H.pylori*) في الغشاء المخاطي في المعدة في البداية لأنها تسبب التهاب المعدة، لأن هذه الأنواع من البكتيريا لديها القدرة على استعمار المناطق المعوية، ولكن الأكثر صلة من الناحية السريرية كان ارتباط هذه البكتيريا بمرض القرحة الهضمية (المعاهد الوطنية للصحة) (NIH, 1994). تم تحديد هذه العلاقة السببية لأول مرة بواسطة Steer في عام 1975 وتبعها Warren في عام 1979 وتم تأكيدها أخيراً من قبل Warren and Marshall في عام 1984 (Li and Perez-Perez, 2018). لاحظ روبن وارين (Robin Warren) أخصائي علم الأمراض في مستشفى رويال بيرث ، أستراليا ، لسنوات عديدة ، أن بكتيريا المعدة ذات الشكل الحلزوني كانت اكتشافاً شائعاً في العينات الجديدة التي تم جمعها عن طريق عملية التنظير الداخلي لمرضى التهاب المعدة إذ ترتبط ارتباطاً وثيقاً مع سطح الغشاء الطلائي للمعدة. ومع ذلك ، وعلى الرغم من اقتناعه التام بأن هذه البكتيريا مرتبطة ارتباطاً وثيقاً بأمراض المعدة ، إلا أنه لم يناقشها مع المجتمع العلمي في ذلك الوقت ، نظراً لكون الفكرة السائدة حينها بأن الحموضة هي السبب الرئيس لمرض القرحة الهضمية. عمل وارين كوحدة واحدة حتى عام 1982 ، وبعد ذلك أقنع باري مارشال (Barry Marshall) ، الطبيب المقيم الذي كان يبحث عن مشروع بحثي ، لمساعدته والعمل معه. في عام 1983 ،

نجحوا معًا في عزل وزراعة هذه البكتيريا التي أطلقوا عليها *Campylobacter pyloridis*. وبعد سنوات عديدة أصبحت تسمى *Campylobacter pylori* ، منذ عام 1989. أظهرت التجارب المتأخرة أن هذه البكتيريا يمكن أن تستعمر معدة الإنسان وبالتالي تسبب التهاب الغشاء المخاطي في المعدة

(Tirado-Hurtado *et al.*,2019) .

2-2 . تصنيف بكتريا الحلزوية البوابية (*H. pylori*) :

يهدف التصنيف إلى توفير إطار بيولوجي هادف تُبنى عليه مجموعة واسعة من العلوم الأخر. ومع ذلك ، فإن التحديد غير الدقيق للتصنيف يعمل على إرباك العاملين في مجموعة متنوعة من التخصصات (On,2001) . شكلت زراعة بكتيريا المعدة الجديدة في عام 1982 نقطة تحول جديدة في فهمنا للبيئة وأمراض الجهاز الهضمي . وصف مارشال و وارن (Marshall and Warren)، عصيات لولبية (Spiral) أو منحنية (curved) في أقسام نسيجية لعينات عديدة اخذت من الغشاء المخاطي المعدي البشري. عدد من هذه العينات أعطت نتائج إيجابية جيدة للمزرعة البكتيرية للبكتيريا سالبة الجرام ميكروايروفيليك (microaerophilic) . تم عقد ورشة العمل الدولية الثانية في بروكسل - بلجيكا ، في أيلول 1983 حول عدوى *campylobacter* أهمية كبيرة لتصنيفها الصحيح. تتشابه *campylobacter* في العديد من الجوانب ، بما في ذلك الشكل المنحني ، والنمو على الوسائط الغنية في تحت ظروف قليلة التهوية (microaerophilic) ، والفشل في تخمر الجلوكوز ، والحساسية للميترونيدازول (metronidazole) ومحتوى G + C بنسبة 34 ٪ . لذلك تمت الإشارة إليها لأول مرة باسم *Campylobacter pyloridis* تم تنقيح السمة المحددة إلى *Campylobacter pylori* في عام 1987 لتتوافق مع المضاف اللاتيني الصحيح والذي يعود لصنف بكتريا ال (pylorus) ، (Solnick and Vandamme,2001) .

Domain:Eubacteria

Kingdom:Bacteria

Phylum:Proteobacteria

Class:Epsilonproteobacteria

Order:Campylobacterales

Family:Helicobacteraceae

Genus:Helicobacter

Species: Helicobacter pylori

2-3 . الخصائص العامة ومتطلبات النمو لبكتيريا (*H. pylori*) :

H. pylori هي بكتيريا سالبة الجرام تصيب بشكل مزمن معدة 50% من البشر والأصابة بجرثومة المعدة يحدث في جميع انحاء العالم لكن الانتشار يختلف اختلافا كبيرا بين البلدان . تعد عدوى الحلزونية البوابية (*H. pylori*) أحد عوامل الهامة لتطور مرض القرحة الهضمية ، والسرطان الغدي في المعدة ، وسرطان الغدد الليمفاوية في المعدة . أحد عوامل الفوعة المهمة التي يعبر عنها هذا الكائن الحي هو عادة يعرف ببروتين (VacA) ، وهو مادة سامة (سيتوتوكسين فجوي) مُفرزة سميت بذلك لقدرتها على إحداث فجوة واسعة في سيتوبلازم خلايا الثدييات والغشاء الطلائي لمعدة الأشخاص المصابين بالتهاب المعدة المزمن (Gangwer et al.,2007) .

اكتشفت مؤخرا ، البكتيريا سالبة الجرام ، *microaerophilic Helicobacter pylori* التي تستعمر الغشاء المخاطي المعدي البشري وتتسبب عدوى مزمنة ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالتهاب المعدة الضموري والقرحة الهضمية وسرطان المعدة. تعد عدوى *H. pylori* مشكلة عالمية ، حيث إنها تصيب في البلدان النامية أكثر من 80% من السكان الذين تزيد أعمارهم عن 20 عاماً. كما تنتشر العدوى في البلدان المتقدمة في 20% من السكان بحلول سن 30 وترتفع إلى أكثر من 50% بحلول سن 60 .

يمكن تصنيف العزلات السريرية *H. pylori* الى مجموعتين بناءً على وجود أو عدم وجود السم الخلوي المتطاير (CagA) (Telford et al.,2007) . الحلزونية البوابية (*H. pylori*) لها شكل خلية حلزوني فريد وحركة سوطية دقيقة. بالمقارنة مع البكتيريا المتحركة الأخر ، تتمتع خلايا *H. pylori* بقدرة فريدة على السباحة بسرعة فائقة داخل الطبقة المخاطية اللزجة للمعدة . أن هذه الحركة الفريدة ضرورية لنجاح استعمارها في المعدة والتسبب في المرض. تتحرك بكتيريا *H. pylori* بوساطة أسواط متعددة أحادية القطب ، مغلقة داخل غمد غشائي. إذ يتشابه الشكل العام لبكتيريا *H. pylori* مع تلك الموجودة في الكائنات الحية النموذجية *Escherichia coli* و *Salmonella* ، والتي تمت دراستها على نطاق واسع جدا ومراجعتها بشكل شامل. يتكون سوط *H. pylori* من الأجزاء الثلاثة الرئيسية التالية: محرك (motor) دوار يقع ضمن غلاف الخلية ، وخيط (filament) يعمل كمروحة حلزونية ، وخطاف (hook) يعمل كمفصل مرن بين المحرك والخيط. إذ تشارك العديد من البروتينات المختلفة على الأقل في تجميع ووظيفة السوط القطبي (Qin et al.,2017) . اثناء إصابة المعدة ، تمتلك *H. pylori* بشكل كبير شكل (حلزوني) ذي انقسام نشط . ومع ذلك ، عند دخولها إلى القناة المعوية ، تنتقل الحلزونية البوابية (*H. pylori*) إلى شكل كروي قابل للحياة ولكن غير قابل للزراعة لتمكينها من مواجهة الظروف اللاهوائية هناك. وقد لوحظ هذا التحول أيضاً في ظل ظروف اخر معاكسة تماما، كما هو الحال في المزارع المستهلكة (الفاقة للظروف الملائمة) ، والظروف الهوائية ، وفي وجود المضادات الحيوية. ومع ذلك ، فقد تم افتراض أن هذه الخلايا قابلة للحياة وربما تكون معدية ، وأن الشكل الكروي هو مرحلة نائمة تسمح للبكتيريا الحلزونية بالبقاء على قيد الحياة في البيئات التي تكون ظروفها غير ملائمة (Hirukawa et al.,2018) . ويتراوح قطر خلية بكتيريا *H. Pylori* بين (0.5-2) مايكرومتر. في المزارع حديثة النمو ، تظهر البكتيريا في شكل قضيب مستقيم مع قضيب منحنى غير منتظم ، بينما في المزارع القديمة يبدو أنها كروية الشكل.

تتميز *H. Pylori* بأنها تحتاج إلى كمية قليلة من الأوكسجين تصل إلى 10-5٪ وتحتاج إلى ثاني أوكسيد الكربون حوالي 10٪ وتنمو برقم الهيدروجيني وهو 7 . عادة ما تتطلب بكتريا (7 *H.Pylori* -4) أيام من الحضانة لتتطور الى المستعمرات دائرية أولية شفافة صغيرة. عادةً ما يتم تشخيص الحلزونية البوابية وفقاً للتشكل الخلوي والتفاعل الإيجابي لأختبار الأوكسيديز ، ونتائج اختبار الكاتلاز (catalase) واليوريز (urease) السريع-Al-Thahab and Al- (Awsi,2018) .

قد ثبت أن الحلزونية البوابية *H.Pylori* تنمو جيداً في العديد من الوسائط الغنية بالمغذيات، مثل وسط الدم (chocolate) و وسط البروسيلا (brucella) و وسط كولومبيا (Columbia) و وسط (BHI) (Lee et al.,2017) .

2-4 . طرق انتقال *H. pylori* :

تبين أن خلال السنوات الأولى من الحياة ، عادة ما يتم اكتساب عدوى البكتريا الحلزونية *H.pylori* ، ويتم اكتسابها بالآليات الدقيقة و هذه الآليات التي ينطوي عليها انتقال البوابية الحلزونية غير معروفة بالضبط ، ولكن من الواضح أن أي طريقة تدخل بها البكتيريا إلى معدة الإنسان قد يؤدي إلى حصول الفرد على العدوى ، على الرغم من اعتقاد من الباحثين ان البكتيريا تنتقل من خلال التواصل المباشر بين البشر. في معظم الحالات ، يحدث ذلك من خلال الروتين الفموي البرازي أو الطرق الفموية- الفموية أو المعدية-الفموية داخل العائلات(Aziz et al .,2015) . والخزان الوحيد المعروف لبكتريا *H.pylori* هو معدة الإنسان(Schwarz et al .,2008) . و الحلزونية البوابية *H.pylori* تميل إلى أن يكون لها مضيف محدود ، ويحدث الانتقال المباشر من إنسان إلى إنسان أو عن طريق التلوث البيئي لذلك تحدث حالات عدوى جديدة. يمكن تقسيم الانتقال من شخص لآخر إلى فئتين رئيسيتين : الانتقال الرأسي (العمودي) والأفقي ، والنمط العمودي هو عدوى تنتقل داخل نفس العائلة من الأصل الى الفرع ، بينما يشمل الانتقال الأفقي التفاعل مع أشخاص خارج الأسرة أو نتيجة تلوث البيئة (Stefano et al .,2018) . يُكتسب الإنسان بكتيريا الحلزونية البوابية *H. pylori* في وقت مبكر من الحياة ، ويمكن أن يعمل القيء المخاطي اللامائي كوسيلة أساسية لنقل العدوى. قد يكون طريق الانتقال من خلال عصير المعدة ، خاصة في مرحلة الطفولة(Bürgers et al .,2008) . قد يكون اللعاب مصدراً محتملاً آخر لها ، يمكن أن تصل للمعدة وتستعمر الفم. إذ تمت زراعة بكتيريا الحلزونية البوابية مباشرة من اللعاب ، كما أن اللعاب والغشاء الحيوي تحت اللثة ولوحة الأسنان , وايضا من الحمض النووي (Gebara et al .,2006) .

2-5 . عوامل الضراوة:

H.pylori هي بكتيريا تصيب أكثر من نصف البشر في جميع أنحاء العالم. ترتبط هذه البكتيريا ارتباطاً وثيقاً بأمراض الجهاز الهضمي للإنسان ، مثل سرطان المعدة ، ومن المهم التعرف على العوامل التي تنتج بالفوعة البكتيرية وفهمها جيداً. علاوة على ذلك تُظهر بكتريا *H.pylori* درجة عالية من التباين الجيني والتطور المشترك مع مضيفها من البشر

(Kabamba et al., 2006). هناك العديد من عوامل الفوعة في الحلزونية البوابية التي تؤثر بصورة مباشرة على الاستعمار البكتيري وشدة المرض. تساهم بعض هذه العوامل في بقائها على المدى الطويل. يوجد انزيم اليوريز Urease في جميع العزلات السريرية لجرثومة الحلزونية البوابية *H. pylori* الذي يقوم بتحويل اليوريا إلى أمونيا و ثاني أكسيد الكربون . ونتيجة لذلك يرفع الأس الهيدروجيني للمعدة ويوفر هذا دفاعًا مؤقتًا عن حامض المعدة ، لكن الحلزونية البوابية ليست حامضية. يجب العثور على درجة الحموضة شبه المحايدة المطلوبة مباشرة بجوار ظهارة سطح المعدة في طبقة المخاط. يُسهّل الشكل الحلزوني لجرثومة *H. pylori* من دفعها عبر المخاط اللزج بسبب سوطها القطبي (Testerman and Morris, 2014).

تقسم سلالات *H. pylori* إلى مجموعتين فرعيتين على أساس القدرة على توليد *cagA*- (*cagA*-negative و *cagA*-positive) ترتبط درجة أكبر من التهاب المعدة بسلالات *H. pylori* *cagA*-positive وهي أكثر ضراوة من سلالات *cagA*- (*Iunusova et al., 2017*) , (negative).

ترتبط بكتيريا *Helicobacter pylori* بالجين (CagA) المرتبط بالسّم الخلوي cytotoxin ، والذي يتم حَقنه في الخلايا الظهارية المبطنّة للمعدة . يتفاعل كل من الطرف الأميني N و الكربوكسيلي C لبروتين CagA مع عدد من البروتينات المضيفة ، مما يتسبب في تعطيل الوظائف الخلوية الأساسية بما في ذلك التصاق الخلية ودورة الخلية والإشارات داخل الخلايا وبنية الهيكل الخلوي. تتفاعل النهاية N الطرف الأميني لبروتين CagA مع البروتين المحفز لموت الخلايا المبرمج (p53(ASPP2)) ، مما يؤدي إلى تعطيل ميزة موت الخلايا المبرمج للورم (Junaid et al., 2018). يعد CagA بروتين ورمي يتم حَقنه في الخلايا المضيفة عن طريق نظام إفرازي خاص يسمى نظام الإفراز من النوع الرابع (T4SS) Takahashi- (Kanemitsu et al., 2020).

تم اكتشاف VacA منذ ما يقرب من 25 عامًا كعامل بروتيني داخل مزرعة *H. pylori* الذي يسم الخلايا الظهارية ويحفز التكوّن الحيوي للفجوة (Flores-Trevino et al., 2019). الذيفان الخلوي المفرز Vacuolating cytotoxin A (VacA) الذي تفرزه الحلزونية البوابية هو بروتين وزنة الجزيئي 88 كيلو دالتون (kDa) ومكون من وحدتين فرعيتين مهمتين p33 و p55، يشكل p33 في الطرف N الأميني للبروتين قناة داخلية خاصة لنقل الكلوريد ، وتستعمل الوحة الفرعية p55 في الطرف الأميني N للبروتين لربط. تفرز البكتيريا VacA عبر نظام إفراز للنقل التلقائي من النوع Vacuolating (V) (ويدخل الخلايا المضيفة عن طريق الألتهم الخلوي. يقوم VacA بعدة أنشطة بيولوجية. بعد تراكم VacA داخل الخلايا المختلفة تؤدي إلى موت الخلايا المبرمج . و كذلك ، يمكن أن يتسبب VacA في تبيد إمكانات غشاء الميتوكوندريا (m)، وإطلاق السيروتونوم C ، وتفعيل العامل المؤيد للاستماتة Bcl-2 المرتبط بالبروتين X (Bax) عن طريق الانتقال إلى الميتوكوندريا ، و يؤدي بالتالي إلى موت الخلايا المبرمج .

فضلا عن ذلك ، تسهل VacA تعطيل الخلايا التائية T التي يتم تجنيدها في مواقع الإصابة. نتيجة لذلك ، الخلية التائية T تثبط وظائف الانتشار والمؤثرات ، مما يسمح باستمرار البكتيريا. تم الإبلاغ أيضًا عن أن VacA له تأثير غير مباشر على الخلايا التائية T، اما الآليات غير معروفة حتى الآن. يمكن أن تحفز VacA التسامح DC وتحريض الخلايا التائية T تنظيمية ؛

ومع ذلك ، لم يتم توثيق هذا التأثير بعد في الخلايا البشرية. على الرغم من أن VacA يمكن أن يغير الاستجابة الالتهابية للمضيف عن طريق قمع تنشيط الخلايا التائية ، فإن هذا السم يؤدي أيضًا إلى استجابة التهابية يتم توسطها عن طريق تنشيط NF- kB وينتج عن تنظيم IL-8 علاوة على ذلك ، فإن تعطيل الالتهام الذاتي الناتج عن VacA هو آلية أخرى يؤدي من خلالها VacA إلى حدوث التهاب في المعدة ويسهم في تطوره و تسرطن المعدة (etal.,2018) (Nejati) .

الذيفان الخلوي (Vacuolating cytotoxin A (VacA) ، وذيفان رئيسي يسهل ويقوي البكتيريا ضد النظام الدفاعي للمضيف. يسبب هذا الذيفان تأثيرات متعددة في الخلايا الظهارية والخلايا المناعية ، وسيما الخلايا التائية T والخلايا البائية B والضمامة (Chauhan Macrophages ,etal.,2019). عديدات السكاريد الدهنية LPS هو مكون خلوي مهم للغشاء الخارجي للبكتيريا سالبة لصبغة غرام ، وله ثلاثة مكونات متميزة : قليل السكاريد الأساسي (core oligosaccharide ، ومنطقة الدهون A region (lipid-A) ، ومستضد-O) antigen) (Kusters et al.,2006) .

يعد (LPS) مكونًا خلويًا مهمًا للغشاء الخارجي لبكتيريا *H. pylori* ، يلعب LPS لهذا النوع من البكتيريا دورًا رئيسيًا في استعمارها واستمرارها في المعدة. فضلًا عن ذلك ، يعدل LPS لل *H. pylori* الاستجابات الالتهابية و يؤدي إلى التهاب مزمن داخل الجهاز الهضمي Leker (etal.,2006) .

2-6 . تقنيات تشخيص (*H. pylori*) :

تتواجد *H. pylori* في المعدة ، وتستعمر ظهارة المعدة ، وتسبب العديد من أمراض الجهاز الهضمي. تم تطوير العديد من طرق التشخيص باستخدام تقنيات الغازية أو غير الغازية بمستويات متفاوتة من الحساسية والنوعية للكشف عن عدوى الحلزونية البوابية (*H. pylori*) يعتمد اختبار تشخيصي واحد أو أكثر على الظروف السريرية وخبرة الطبيب والتكلفة والحساسية والنوعية. تتطلب الطرق الغازية التنظير مع خزعات من أنسجة المعدة وتشمل الطرق الغازية ، الفحص النسيجي أو الفحص الدقيق، والمزرعة البيولوجية ، واختبار اليورياز السريع . (RUT) اما الطرق غير الغازية ، فتشمل اختبار تنفس اليوريا (C13- UBT) احادي النسيلة واختبار مستضد البراز (SAT) وهو إجراء تشخيصي سريع مع دقة مماثلة للتقنيات القائمة على الخزعة وهي طرق مفضلة في إعداد الاختبار والعلاج. يمكن للتقنيات الأخرى مثل الطرق المصلية لاكتشاف الأجسام المضادة للكلوبيولين المناعي G ل *H. pylori* أن تظهر دقة عالية مثل الخزعات غير الغازية والخزعات الغازية الأخر ، ولكنها لا تفرق بين عدوى *H. pylori* الحالية أو السابقة. تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) يمكن تصنيفه على أنه اختبارات غازية وغير جراحية. طريقة تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) ومفيدة للكشف عن بكتيريا *H. pylori* من خزعات المعدة من دون الحاجة إلى المزارع (Sabbagh et al.,2019)

2-7 . طرائق الكشف عن وجود بكتيريا *H.pylori* :

2-7-1 . الطرائق المزرعية :

يوجد العديد من الوسائط الانتقائية لزراعة وعزل البكتيريا. ومن العوامل التي تؤثر على بقاء البكتيريا هي وسط النقل ، والوقت المستغرق في الانتقال إلى مختبر علم الأمراض ، ودرجة الحرارة أثناء النقل ، والوسيط المستعمل (Graham and Miftahussurur, 2018) . يتم زراعة بكتيريا *H.pylori* من عينات خزعة المعدة لتأكيد الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية بكتيريا *H.pylori* ويتم إجراؤها فقط في المختبرات المتخصصة. يتم إجراء الاستنبتات البكتيري بشكل أساس من أجل البحث العلمي وعندما تفشل العلاجات السابقة في الكشف عن البكتيريا المناسبة. يوصى بإجراء الاختبار المذكور قبل خط العلاج التالي لتحديد مدى الحساسية الميكروبية (Sabbagh et al., 2019) .

على الرغم من أن المزرعة تعتبر اختبارًا مكلفًا ومعقدًا ويستغرق وقتًا طويلاً للكشف عن الحلزونية البوابية ، إلا أن اختبار الحساسية للمضادات الحيوية عن طريق الاستزراع هو ممارسة سريرية مفيدة للكشف الدقيق. إلى جانب ذلك ، تسمح المزرعة بعزل *H. pylori* للدراسات المظهرية والجينية (Wang et al., 2015) .

2-7-2 . التنظير (Endoscopy) :

يتم إجراء فحص التنظير النموذجي للكشف عن الأمراض المرتبطة بالبكتيريا الحلزونية البوابية. التنظير هو طريقة للحصول على خزعات من الغشاء المخاطي في المعدة وتحليلها للتعرف على نوع البكتيريا المسببة والتي يمكن استخدامها في مزيد من الدراسات حول الطرق الغازية الأخرى، (Lan et al., 2012) وجماعته. كما يوفر التنظير صورة دقيقة وواضحة جدا للغشاء المخاطي في المعدة لأنه يتم ادخال المناظير مباشرة الى العضو المراد فحصه، ولكن قد لا يكون له نتائج أفضل من الاختبارات التشخيصية الأخرى (Cho et al., 2013) . تشمل العيوب الرئيسية لهذا الإجراء كون العملية تستغرق 10 دقائق وتتطلب الكثير من المهارة والخبرة (Peter Malfertheiner et al., 2012) .

2-7-3 . تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) :

تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) هو تقنية جزيئية فعالة يمكن استعمالها في عدد من الإعدادات السريرية ، بما في ذلك الكشف عن العدوى على نطاق واسع، وتقييم العدوى الناشئة ، وتحديد البكتيريا النمط الجيني، ومقاومة المضادات الحيوية، والدراسات البوابية (Wang et al., 2021) .

تستعمل اختبارات (PCR) للتشخيص. تم التحري عن البكتيريا بتقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل باستعمال مجموعة متنوعة من العينات السريرية بما في ذلك خزعة المعدة وعصير المعدة واللحاح ولوحة الأسنان والبراز إلى جانب العينات البيئية. كلما كان ذلك ممكناً. تفرز بكتيريا الحلزونية البوابية *H.pylori* في البراز. المزرعة من البراز متغيرة في حين أن اختبار مستضد البراز يستعمل على نطاق واسع . يتكون البراز من خليط معقد من البكتيريا والمواد الكيميائية

المشتركة وغالبًا ما يشتمل على مثبطات تفاعل البوليميراز المتسلسل. ومع ذلك ، تتوفر طرق الاستخلاص البسيطة للحمض النووي بكفاءة من البراز البشري ، وقد ثبت أن تفاعل البوليميراز المتسلسل المتداخل الذي يستهدف جين 16 S rRNA حساس جدا للكشف عن الحلزونية البوابية *H.pylori*.

يعد الكشف عن قابلية / مقاومة كلاريثروميسين clarithromycin أمرًا مهمًا سريريًا ويمكن أيضًا اكتشاف طفرة جين 23 S rRNA المسؤول عن المقاومة باستعمال البراز. يمكن تعديل هذه الطريقة للعينات السريرية الأخر مثل عصير المعدة أو مادة ، الخزعة (Rimbara et al.,2013) يمكن اكتشاف طفرات مقاومة المضادات الحيوية باستخدام التقنيات الجزيئية مثل تفاعل البوليميراز المتسلسل ، وهي طريقة مناسبة لاكتشاف مسببات الأمراض والتي يمكن أن تساعدنا في اختيار استراتيجية العلاج المناسبة ، (Ramírez- Lázaro et al., 2011) .

2-8. الأمراض المرتبطة ببكتيريا *H.pylori* :

2-8-1 . سرطان المعدة:

تزيد عدوى *H.pylori* من خطر الإصابة بسرطان المعدة بشكل عام. يتطور سرطان المعدة من خلال سلسلة من خطوات محددة جيدًا والمعروفة جيدًا: التهاب ، والضمور ، والحوول المعوي (Intestinal metaplasia) ، وخلل التنسج ، والتسرطن، ويرتبط ارتباطًا وثيقًا بالبيئة والنظام الغذائي والطفرة الجينية (Herrera and Parsonnet ,2009). يعتبر العامل (CagA) المرتبط بالذيفانات الخلوية والذيفان (VacA) سلالات محددة من الحلزونية البوابية ، والتي تعد بشكل أساس عوامل ضراوة تشارك في زيادة خطر الإصابة بسرطان المعدة-CagA. protein بروتين وزنة من 120 إلى 140 كيلو دالتون (kDa) يتم نقله إلى خلايا مضيفة عن طريق نظام إفرازي من النوع الرابع ، بعد ربط الحلزونية البوابية (*H.pylori*) وتؤدي النتيجة إلى تغيير آليات إرسال الإشارات الخلوية للمعدة بسبب بروتين VacA. الجين موجود في جميع السلالات ولكن له اختلافات مختلفة في نشاط التفريغ (EIKhadir et al.,2017; Matos et al.,2013). على المستوى الجيني ، فإن العامل 1 المحفز لنقص الأكسجة (HIF-1) هو المنشط الأساس للنسخ ، وهو حساس جدًا للأوكسجين ، مما يساعد الخلايا على البقاء في توتر الأوكسجين المنخفض. يعد الإفراط في التعبير عن HIF-1 α أمرًا مهمًا في تنشيط مجموعة من الجينات المشاركة في بيولوجيا السرطان ، بما في ذلك تكاثر الخلايا ، والبقاء على قيد الحياة وموت الخلايا المبرمج ، وأيض الجلوكوز ، والإريثروبويتين erythropoietin ، وكذلك تكوين الأوعية . يتم التعبير عن حوالي 20 جينًا ينظمه HIF-1 α ، بما في ذلك NF κ B1 ، الذي يشارك في تنظيم التهاب السرطان (Puculek et al., 2018).

تبلغ نسبة الإصابة في جميع أنحاء العالم من سلالات CagA الإيجابية والسلبية CagA حوالي 4 : 6 ، باستثناء مناطق شرق آسيا ، إذ تكون معظم السلالات إيجابية CagA تم

الإبلاغ عن أن الأفراد المصابين بسلاسل CagA الإيجابية من الحلزونية البوابية *H.pylori* أكثر عرضة للإصابة بالقرحة الهضمية أو سرطان المعدة من أولئك المصابين بالسلاسل السلبية CagA (Palli et al.,2007) .

2-8-2 . قرحة الاثني عشر :

تدعم الدراسات السابقة وجود علاقة سببية قوية بين عدوى الحلزونية البوابية *H. pylori* وقرحة الاثني عشر ،أذ يكون المرضى أكثر عرضة للإصابة بالسلاسل الخبيثة التي تسبب لاحقاً تفرح الاثني عشري. وبالتالي ، فإن القضاء على عدوى الحلزونية البوابية *H. pylori* يقلل من عملية حدوث قرحة الاثني عشري ، ويمنع تكرارها عن طريق تقليل إفراز الجاسترين القاعدي وإفراز الحمض من دون التأثير على حساسية الخلايا الجدارية (Ahmed and Belayneh,2019) . قرحة الاثني عشر المثقوبة (PDU) هي واحدة من أكثر الحالات شيوعاً في هذه المنطقة وترتبط بمعدل وفيات كبير من 30-6% (Low et al.,2008) . من بين عوامل الفوعة المختلفة الأخرى التي تم فحصها ، وجد أن الجين (dupA) المعزز لقرحة الاثني عشر مرتبط بقرحة الاثني عشر (DU) ، لكن تأثيره كان مختلفاً في مناطق جغرافية مختلفة (Fatah et al.,2019) . يمكن أن تعزل *H. pylori* من إفراز الحمض لدى الأشخاص الذين يصابون بقرحة الاثني عشري ، و يؤدي فرط إفراز حمض المعدة في حد ذاته إلى إثارة قرحة الاثني عشري . تلتصق البكتيريا بالخلايا الظهارية للمعدة والاثني عشر ، ثم تتسبب في تلف الحاجز الواقي وبالتالي تلف الخلايا عن طريق إفراز الإنزيمات اليوريز (urease) والليباز (lipases) والبروتياز (proteases) وعوامل الفوعة البكتيرية البروتين الجيني(CagA) المرتبط بالذيفان الخلوي cytotoxin وتفرغ الذيفان الخلوي (VacA)، والبدء في استجابة مناعية مدمرة للذات (Cover and Blasé,2009) .

2-8-3 . التهاب المعدة النشط ، المزمن و القرحة الهضمية:

ترتبط *H. pylori* سببياً بظهور التهاب المعدة النشط المزمن (Zhang et al.,2017) . هي العامل المسبب لمرض التهاب المعدة النشط و المزمن ومرض القرحة الهضمية . ترتبط عدوى الملوية البوابية أيضاً ارتباطاً وبائياً بسرطان المعدة وقد تورطت في التسبب في الأورام اللمفاوية في المنطقة الهامشية المعدية الأولية. لا تزال الآليات المسببة للأمراض المؤدية من الالتهاب المزمن النشط للغشاء المخاطي المعدي إلى تطور التغيرات الظهارية واللمفاوية التي قد تؤدي إلى تفرح المعدة والسرطان وسرطان الغدد الليمفاوية غير مفهوم جيداً. تعرقل التقدم في فهمنا لهذه المجالات جزئياً، بسبب الافتقار إلى نموذج حيواني جيد التوصيف. تم تطوير العديد من النماذج الحيوانية للمساعدة في فهم الآلية المرضية لعدوى *H.pylori* (et al.,2022) (Ansari). في محاولة لتطوير نموذج من شأنه أن يوازي قدر الإمكان مسار العدوى كما يحدث في المضيف البشري ، تم تلقيح سلالة بشرية من الحلزونية البوابية في معدة الجربوع المنغولية بعد فترة قصيرة ، أصيبت غالبية حيوانات الجربوع المنغولية المصابة *H.pylori* بالتهاب المعدة النشط و المزمن . في بعض الجربوع المنغولية المصابة ، تشكلت الحؤول المعوي (IM) و قرحة المعدة المتكررة لاحقاً (Peng et al.,2019).

2-9 . دور المناعة بعدوى بكتريا *H.pylori* :

نجد ان الوسطاء البيولوجيون الرئيسيون في الاستجابة الالتهاب المناعي هي السيتوكينات ، بيتيدات ذات أوزان جزيئية منخفضة تنتجها مجموعة كبيرة ومتنوعة من الخلايا التي تمتلك مجموعة واسعة من الوظائف الفسيولوجية. من بين السيتوكينات ، إنترلوكين(1-IL) هو السيتوكين المنبه للالتهابات الذي يلعب دورًا رئيسًا في بدء وتضخيم الاستجابة المناعية للالتهابات عدوى الحلزونية البوابية و تعتبر عائلة إنترلوكين(1-IL) 1 من السيتوكينات والمستقبلات الفريدة من نوعها في علم المناعة لأن عائلة IL-1 وعائلات مستقبلات (Toll-like (TLR) تشترك في وظائف مماثلة. أكثر من أي عائلة سيتوكين أخرى ، ترتبط عائلة IL-1 بشكل أساسي بالمناعة الفطرية (Dinarello, 2018) . عائلة IL-1 هي مجموعة من 11 سيتوكينات ، والتي تحفز شبكة معقدة من السيتوكينات المنشطة للالتهابات من خلال التعبير على الكريات البيض والخلايا البطانية ، تنظم وتبدأ الاستجابات الالتهابية ، IL-1a و IL-1β هما الأكثر دراسة ، لأنه تم اكتشافهما أولاً ولأنهما يمتلكان تأثيرًا قويًا للالتهابات . لديهم مضاد طبيعي- IL (1Ra) مضاد مستقبل IL-1 (IL-1a) و IL-1B ترتبط بمستقبل IL-1 النوع الأول ، مما يثير تحويل الإشارة . يمنع IL-1ra ربط IL-1 للمستقبلات التي تعمل كمثبط تنافسي لتفاعلات (IL-1 / IL-R1) من خلال التنافس معهم على مواقع ربط المستقبلات (Dinarello, 2011) . تستعمر بكتيريا *H.pylori* معدة الإنسان مسببة مضاعفات مثل التهاب المعدة ، قرحة المعدة والاثني عشر وأورام المعدة (Liu et al., 2012) . اظهرت العديد من الدراسات علاقة ذات دلالة إحصائية بين البكتيريا ومخاطر التهاب المعدة (DeVries and Kuipers 2007) .

أمراض المعدة تتأثر بمستوى ضراوة سلالة الحلزونية البوابية *H.pylori* ، القابلية الوراثية للمضيف والعوامل المساعدة البيئية. بعض عوامل الفوعة ، مثل الجينات *vacA* و *cagA* ، تمت دراستها ، نظرًا لأنها يمكن أن تلعب دورًا مهمًا في التسبب في الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية (Karlsson et al., 2012) . تحفز بكتيريا *H.pylori* بشكل غير مباشر تنشيط سلسلة التهابية من ذيفانات الخلية ، التي تحث على إنتاج الكيماويات للعدلات والخلايا أحادية النواة ، وكذلك الإنترلوكينات مثل IL1 ، مما يؤدي إلى استجابة التهابية وتطور التهاب المعدة المزمن (Israel et al., 2001) . وجود طرز وراثية مثل CC31 - أو B1- TT511 للإنترلوكين قد يجعل المرضى في خطر متزايد من تطور ضمور المعدة عن طريق عدوى الحلزونية البوابية (Wang et al., 2006) . الساييتوكين IL-1B تم إثبات ان تعدد الأشكال الجينية- / CC31 511TT تكون مرتبطة بسرطان المعدة وتطور التهاب المعدة المزمن في المرضى المصابين بالبكتيريا الحلزونية البوابية *H.pylori* (Sicinschi et al., 2006) . يحتوي IL-1β على ثلاثة انواع منفردة تسبب تعدد الأشكال النوكليوتيدية (SNPs) تنظيم مستويات IL-1β في الغشاء المخاطي في المعدة الذي يرافقه معزز العملية الالتهابية التي يمكن أن تؤدي إلى نقص الهيدروكلورية ، ضمور المعدة وكذلك سرطان المعدة (Persson et al., 2009) . (IL-1β) ، مضاد للالتهابات الساييتوكين ، يمنع إفراز المعدة وزيادة مستواه مع عدوى الحلزونية البوابية *H.pylori* مما يؤدي إلى تضخيم الالتهابات المصاحبة للاستجابة المناعية (Santos et al., 2012) . وجود استجابة مؤيدة للالتهابات ومستوى إفراز حمض المعدة تساهم بشكل كبير في الإصابة بمرض القرحة الهضمية أو التهاب المعدة الضموري ، (Walduck et al., 2019) . تم ربط جين *IL-1RN* بمجموعة واسعة من الأمراض الالتهابية المزمنة

وزيادة إفراز IL-1 β (Mesa *et al.*,2017) . تم الكشف عن تعدد الأشكال في IL-1 و-IL-1RN لتكون مرتبطة بالاختلافات في مستويات إنتاج (IL-1, IL-1B , IL-1A , IL-1ra) (Rad *et al.*,2018) . تعدد الأشكال IL-1RN المرتبط بالتعرض للإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية ونتيجة سرطان المعدة هي أليلي خماسي VNTR 86-bp (عدد متغير من التكرار المترادف) في تعدد الأشكال الموجود في intron2 (Chmiela *et al.*,2017) . فادت دراسات من مجموعات عرقية مختلفة أنه في الأفراد المصابون ببكتيريا *H. pylori* ، يرتبط أليل IL-1RN * 2 بزيادة إنتاج IL-1 β مما يؤدي إلى التهاب حاد ومستمر ، قرحة وضمور في المعدة ، نقص الهيدروكلورية (حمض المعدة) ، وفي النهاية تطور سرطان المعدة (Zhang *et al.*,2017) . وضحت الدراسات السابقة الارتباط بين تعدد الأشكال 86 bp VNTR لجين IL-1RN والقابلية للإصابة ببكتيريا *H. pylori* وامراض المعدة مثل السرطان (Idris *et al.*,2017) .

2-10 . دور MUC1 5640G>Agene بعدوى بكتيريا *H. pylori* :

الميويسين (Mucins) هي المكون الرئيس للطبقة المخاطية التي تحمي معظم الخلايا الظهارية (Hansson *et al.*,2021) . صفته بروتينياً ، يحمي Mucin1 في الغالب الخلايا من التوترات التي تسببها البيئة الخارجية. من الناحية الفسيولوجية ، أثناء حالة الإجهاد ، ينفصل MUC1 إلى شقوق MUC1-N و MUC1-C ، مما يؤدي إلى تحويل إشارات البقاء إلى الداخل ، وهو أمر ضروري للحفاظ على وظائف الخلية. اقترحت الدراسات الحديثة وجود علاقة كبيرة بين الإفراط في التعبير عن MUC1 وتضخيم تكاثر الخلايا السرطانية ورم خبيث من خلال تعديل مسارات الإشارات المتعددة وتفاعلات الخلايا. لقد ثبت أن (MUC1-CD) يسرع من تطوير المقاومة للعديد من العوامل العلاجية المضادة للسرطان. علاوة على ذلك ، يشارك MUC1-CD أيضاً في تعزيز التعبير عن جينات مقاومة الأدوية المتعددة (MDR) ، (Farahmand *et al.*,2018) . عدوى الحلزونية البوابية *H. pylori* هي أحد الأسباب الرئيسية للقرحة وسرطان المعدة لدى الإنسان ويمكن أن تؤثر على حاجز الغشاء المخاطي في المعدة. وضحت العديد من الدراسات السابقة إلى التحقق من العلاقة بين عدوى الحلزونية البوابية *H. pylori* والتعبير الشاذ للموسين في المرضى المصابين بقرحة المعدة وسرطان المعدة (FANG and WANG,2006) .

2-11 . علاقة Pepsinogen-II ins/del gene بعدوى *H. pylori* :

ارتبطت عدوى *H. pylori* بخطر طويل الأمد للإصابة بحالات الألتهاب، القرحة والتسرطن في المعدة (Pimentel-Nunes *et al.*,2018) . يلعب البيبسينوجين (PGC) دوراً مهماً في الحفاظ على التمايز الخلوي أثناء عملية تسرطن المعدة. (He *et al.*,2018) .

وهناك سلسلة من الجينات المضيفة التي تستجيب لعدوى الحلزونية البوابية (*H. pylori*) تشارك في امراض المعدة منها الألتهاب والتسرطن. إذ إن التفاعلات بين الأشكال المتعددة للجينات المرتبطة بالبكتيريا الحلزونية البوابية من ضمنها PGC ، ارتبطت بقابلية الإصابة بالقرحة وسرطان المعدة. علاوة على ذلك تأثر عدوى *H. pylori* على التأثير التراكمي لتعدد الأشكال PGC (He *et al.*,2015) .

2-12 . علاقة مجاميع الدم بالأصابة والجينات :

تصيب بكتيريا *H. pylori* ملايين الأشخاص حول العالم. ترتبط الإصابة بعدوى *H. pylori* بأمراض الجهاز الهضمي للبشر. أذ تتميز بالتعبير العالي عن الكربوهيدرات، و يتم التحكم في أنظمة فصيلة الدم ABO و Lewis عن طريق ترميز الجينات من أجل نقل glycosyl transferases الوظيفي والذي يحدث تنوعًا كبيرًا بالكربوهيدرات المرتبطة ب (fucosylated) في الأنسجة المختلفة ، بما في ذلك الغشاء المخاطي المعدي و المعوي ، والإفرازات الخارجية. إن التنوع الهيكلي لكربوهيدرات فصيلة الدم معقد للغاية ويعتمد على التفاعلات المعرفية الجينية بين ترميز glycosyl transferases . وتعمل مجموعة glycosyl transferases في فصيلة الدم النسيجي في الارتباط ب glycosylation للبروتينات والدهون في الجهاز الهضمي البشري مما يسمح بالتعبير عن مجموعة متنوعة من المستقبلات المحتملة التي يمكن أن تلتصق بها *H. pylori* (de Mattos et al., 2017) .

أذ كشفت الدراسات البيوكيميائية ، في المختبر ، والنماذج الحيوانية في الجسم الحي أن ارتباط بكتيريا الحلزونية البوابية *H. pylori* يمكن توسطه بواسطة مادة لاصقة مرتبطة بمولد الضد لفصيلة الدم (BabA) (Gerhard et al.,1999) .

اذ أظهرت الدراسات الوبائية وجود مستويات أعلى لفصيلة الدم O والنمط الظاهري غير المفرز لمستضدات ABH بين المرضى الذين يعانون من القرحة الهضمية. منذ أن تم تحديد *H.pylori* كعامل مسبب رئيسي في هذا المرض (Jaff, 2011).

يبدو أن الأمراض الناتجة عن عدوى *H. pylori* تعتمد على مجموعة من الصفات الوراثية وعوامل الفوعة التي يمتلكها الكائن الحي . أذ بينت الدراسة العلاقة بين مجموعات الدم النسيجي ABO و عدوى *H. pylori* تشير هذه النتائج إلى أن عدوى *H. pylori* مرتبطة بفصيلة الدم O في المرضى الذين يعانون من التهاب المعدة النشط و المزمن والقرحة الهضمية (Mattos et al., 2010) .

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الثالث : المواد وطرائق العمل

3-1- المواد :

3-1-1- الأجهزة المختبرية (الأجهزة والأدوات)

يتضمن الجدول (3-1) اهم الاجهزة والمعدات المستخدمة في هذه الدراسة
الجدول (3-1) : قائمة بالأجهزة والأدوات المستخدمة في الدراسة

الرقم	الأجهزة والأدوات	الشركة المصنعة
1	جهاز التعقيم (Autocleave)	Haramaya, Japan
2	جهاز التجميد (Deep freezer)	Kelon
3	جهاز الترحيل الكهربائي (Electrophoresis unit)	Clever scientific, United States
4	جهاز النبد المركزي (Eppendorf centrifuge)	Hitich , Germany
5	جهاز تقطير (Distilizer)	GFL, Germany
6	جهاز مزج الأنابيب (Vortex)	Bioneer, Korea
7	جهاز مايكرويف (Microwave)	Shownic, China
8	جهاز توثيق الهلام (UV-trans illuminator)	Clever scientific, United States
9	جهاز بلمرة الدنا التقليدي (Thermal Cyclor)	Clever scientific, United States
10	كابينة الأمان (Hood)	Labogene, Denmark
11	حاضنة (Incubator)	Memmert, Germany
12	ثلاجة (Refrigerator)	Concord, Lebnan
13	ميزان حساس (Sensitive balance)	Sartorius, Germany
14	حمام مائي (Water path)	Memmert, Germany
15	انابيب ابندروف	Eppendorf, Germany
16	انابيب حاوية على مانع تخثر	Afco, Jordan

Diagon, China	ماصات دقيقة باحجام مختلفة	17
---------------	---------------------------	----

3-1-2- المواد الكيميائية والبايولوجية والجزئية :

يبين الجدول (2-3) المواد الكيميائية والبايولوجية والعدد الجزئية المستعملة بالدراسة .

الرقم	المواد الكيميائية	المنشأ
1	الأيثانول المطلق (95%,Ethanol) (C ₂ H ₅ OH)	England
2	الماء الحر الخالي من الأنزيم المحلل لدنا (Nuclease Free Water)	Bioneer/ Korea
3	الصبغة الحمراء (Red safe)	Intron/ Korea
4	المقياس الحجمي لدنا (100 bp DNA) (ladder	Promega/ USA
5	الأكاروز (Agarose)	Promega/ USA
6	المحلول المنظم (Tris-EDTA buffer (TE) (Promega/ USA
7	الماستر مكس (Master mix)	Promega/USA
8	انزيم التقبيد <i>AIWNI</i>	New England biolab company (NEB)
9	أنزيم التقبيد <i>Aval</i>	New England biolab company (NEB)
	انزيم التقبيد <i>TAG /</i>	New England biolab company (NEB)
10	المعلم الحجمي (DNA ladder 100bp)	Promega/USA
11	بوادي تضخيم الدنا	Macrogen/Korea
12	انزيم البروتينيز K (proteinase k)	G-spin/ Korea
13	كت استخلاص الدنا (DNA extraction kit)	G-spin/ Korea

يبين الجدول (3-3) تسلسلات البوادئ المستخدمة ودرجة الذوبان واحجام القطع

المصدر	درجة الذوبان	حجم القطع	التسلسل من الطرف 5' الى الطرف 3'	الجين
Bioque et al.,1995	63.9	325	CTCAGCAACACTCCTAT	<i>IL-1RN 86 VNTR f</i>
	58.3	410	TCCTGGTCTGCAGGTAA	<i>IL-1RN 86 VNTR r</i>
500				
Taggart et al.,1990	63.7	310	AGCCCTAAGCCTCTTTTTGG	<i>PGCf</i>
		400	GGCCAGATCTGCGTGTTTTA	<i>PGCr</i>
	65.5	450		
		480		
Rasero et al.,2002	59.5	188	TAAAGACCCAACCCTATGAC T	<i>Muc1f</i>
	63.9		AGAGTACGCTGCTGGTCATA CTC	<i>Muc1r</i>
Wilkinson et al.,1999	64.0	305	TGGCATTGATCTGGTTCATC	<i>511il1b AF</i>
	57.9		GTTTAGGAATCTTCCCACTT	<i>511il1b AR</i>
Balding et al., 2004	63.8	249	CGGAGCGTGCAGTTCAGTG AT	<i>IL-1B+ 3954 f</i>
	61.3		AATTTTGCCACCTCGCCTCA	<i>IL-1B+ 3954 r</i>

3-2- طرائق العمل :

3-2-1- جمع العينات :

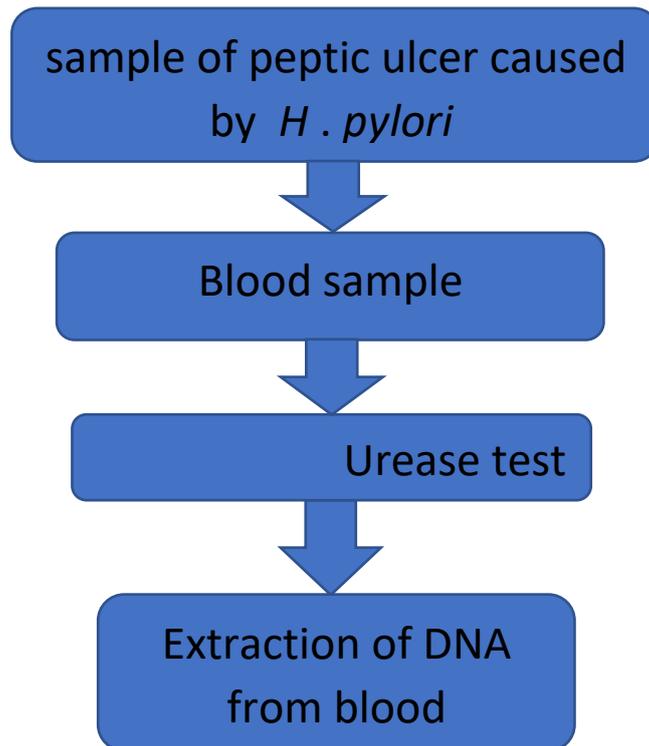
جمعت العينات للفترة من ايلول 2021 ولغاية نهاية تشرين الثاني 2021 من المرضى المراجعين لمختبر الكندي الاهلي في محافظة بابل عند مراجعتهم لتشخيص اصابتهم ببكتريا *H.pylori* بعد تحويلهم من قبل الاطباء المختصين لغرض اجراء اختبار اليوريز السريع

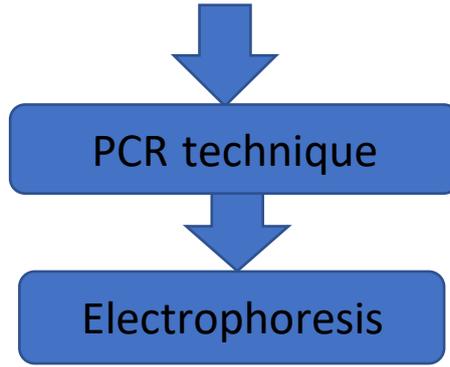
(Urease test) المعروف أيضاً باسم إختبار CLO وهو إختبار تشخيصي سريع لتشخيص بكتريا *H.pylori*. أساسه قدرة البكتيريا على إفراز إنزيم اليوريز الذي يعمل على تحويل اليوريا إلى الأمونيا وثاني أكسيد الكربون. وقد أجرى هذا الإختبار عند تنظير المعدة من قبل المختصين بالجهاز الهضمي، إذ يتم أخذ خزعة من الغشاء المخاطي من غشاء المعدة، وتوضع في وسط يحتوي على اليوريا وكاشف الفينول الأحمر. إن تحلل اليوريا بفعل إنزيم اليوريز المنتج من بكتريا *H.pylori* يؤدي إلى إرتفاع الأس الهيدروجيني (pH) في الوسط ، ويتغير المستوى القاعدي في الوسط مما يؤدي الى تغير لون العينة من الأصفر (السليبي) إلى الأحمر (الإيجابي) (Van Keeken et al.,2006) .

تم أخذ عينات دم من المرضى الموجبين لفحص اليوريز عن طريق الوريد اذ تم سحب حوالي 2.5 مل من الدم الوريدي ووضعت في أنابيب مضادة للتخثر من EDTA وبعدها حفظت عند -20°م لحين إجراء استخلاص الحمض النووي.

3-2-2. تصميم الدراسة :

تصميم الدراسة





3-2-3 . استخلاص DNA :

تم استخلاص الحمض النووي الكلي باستعمال عدة الاستخلاص (G-spin TM Genomic DNA Extraction Kit) واجري العمل حسب تعليمات الشركة المصنعة (Intron Bio / Korea) كما يأتي:

- 1- نقل 200 ميكروليتر من الدم المجمد الى أنبوب Eppendorf tubes ذو حجم 1.5 مل.
- 2- اضيف 30 ميكروليتر من أنزيم البروتيز K للعينة ومزج جيدا بالمازج , ثم حضنت في 60 °م في حمام مائي لمدة 15 دقيقة .
- 3- اضيف 200 ميكروليتر من FABG Buffer للعينة و حضن في حمام مائي بدرجة 70 °م لمدة 15 دقيقة وخلال الحضن تقلب العينة كل 5 دقائق.
- 4- وضع 200 ميكروليتر من الأيثانول المطلق للعينة ومزج جيدا بجهاز المازج لمدة 10 ثواني , ثم نقلت العينات الى عمود FABG TUBE , ثم وضعت في جهاز النبذ المركزي لمدة دقيقة واحدة , وبعدها تم نقل FABG TUBE الى انبوب جمع جديد , ونبذ لمدة دقيقة واحدة بسرعة 13000 دورة / دقيقة .
- 5- تم التخلص من الراشح واطيف 200 ميكروليتر من محلول الغسل الأول washing buffer(W1) في عمود FABG ثم نبذ بسرعة 13000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة .
- 6- أهمل الراشح واطيف 600 ميكروليتر من محلول الغسل wash buffer للعينة وتم تكرار الخطوة السابقة .
- 7- نقل العمود FABG الى انبوب ابندروف معقم جديد ونبذ لمدة ثلاثة دقائق بسرعة 13000 دورة / دقيقة .
- 8- تم أسترداد الدنا المرتبط بالعمود FABG بأضافة 100 مايكروليتر من محلول الأسترداد Elution buffer وذلك بعد وضعه لمدة دقيقة ومن ثم في جهاز الطرد المركزي بسرعة 13000 دورة / دقيقة لمدة دقيقة واحدة وبعدها تم التخلص من العمود والأحتفاظ بمستخلص الدنا في أنبوب التجميع .
- 9- تم حفظ عينات DNA بدرجة حرارة 20- °م لحين اجراء بقية التجارب .

3-2-4 . قياس تركيز ونقاوة الدنا:

تم قياس تركيز الدنا ونقاوته بأستعمال جهاز النانو دروب Nanodrop spectrophotometer عند طول موجي 280 نانومتر وتم قياس نقاوته عند طول موجي 260 و280 وحسب النقاوة (=260/280 =نقاوة الدنا مايكروغرام / مايكروليتر).

3-2-5. خطوات تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) :

3-2-5-1. تحضير محلول الخزين للبادئ (primer stock solution) :

تم تحضير مواد البوادي بإضافة الماء المقطر الخالي الايونات بكميات مختلفة وفقاً لتعليمات الشركة المصنعة للحصول على محلول مخزون أساس بتركيز 100 بيكو مول / ميكرو لتر ، ثم مزجة جيداً ثم طرد مركزيًا عند 4000 دورة / دقيقة لمدة خمس ثوانٍ ، ووضع في الثلجة لمدة أربع ساعات للتجانس الكامل ، ثم تم تحضير محلول العمل Working solution لكل بادئ بإضافة مقدار معين من الماء المقطر الخالي من نوكلياز لتحضير تخفيف 10 بيكو مول / ميكرو لتر ثم خزنه في درجة - 20 °م لحين اجراء التجارب.

3-2-5-2. خطوات تفاعل البوليميراز المتسلسل :

يتضمن تفاعل البوليميراز المتسلسل خطوات متكررة وبدرجات حرارة مختلفة لغرض تضخيم قطعة الدنا الهدف ويتم التفاعل بأستعمال عدة جاهزة من المزيج الأساسي (master mix) الذي يتكون من عدة مكونات كما موضح في الجدول (3-4). اما محلول التفاعل يتكون من قالب الدنا الهدف ومزيج التفاعل master mix والبادئ الأمامي والخلفي ويكمل الحجم الى 20 مايكرو لتر بالماء الخالي أو الحر من أنزيمات النيوكليز أما كميات المواد المتفاعلة مبينة في الجدول (3-5). وقد أجري تفاعل البوليميراز المتسلسل ضمن ظروف معينة لكل بادئ ويبين الجدول (3-6) ظروف تفاعل كل بادئ للجينات قيد الدراسة .

يبين الجدول (3-4) : محتوى master mix :

الرقم	المواد
1	انزيم بوليميراز الدنا (Taq) DNA polymerase enzyme
2	dNTPs (400µm dATP, 400µm d GTP, 400µm dCTP, 400 µm dTTP)
3	كلوريد المغنسيوم (3مايكرو ليتر) MgCl ₂
4	Reaction buffer (pH 8.3)

يبين الجدول (3-5) محتويات خليط التفاعل

الحجم	محتويات خليط التفاعل
12.5 مايكرو ليتر	الخليط الرئيسي (Master Mix)
4 مايكرو ليتر	قالب الدنا (Template DNA)
2 مايكرو ليتر	التمهيدي الأمامي (Forward primer) (10 pmol/μl)
2 مايكرو ليتر	التمهيدي الخلفي (Reverse primer) (10 pmol/μl)
4.5 مايكرو ليتر	Nuclease free water الماء الحر
25 مايكرو ليتر	Total volume الحجم النهائي

يبين الجدول (3-6) ظروف التفاعل لتضخيم جينات الهدف قيد الدراسة المستخدمة :

عدد الدورات	الوقت	درجة الحرارة ° م	الخطوات	البرايمر
1	4 دقائق	94	Initial المسخ الأولي denaturation	<i>IL -86 bp VNTRf /86-bp VNTRr</i>
37	20 ثانية	94	Denaturatio المسخ	
	45 ثانية	59	Annealing التلدين	
	45 ثانية	72	Extension الأطالة	
1	2 دقيقة	72	Final الأطالة النهائية extension	
1	4 دقائق	94	Initial المسخ الأولي denaturation	<i>Pepsinogen-II (PGCf)/ Pepsinoge</i>
37	30 ثانية	94	Denaturatio المسخ	
	40 ثانية	59	Annealing التلدين	

	40 ثانية	72	الأطالة Extension	<i>n-II (PGCr)</i>
1	2 دقيقة	72	Final الأطالة النهائية extension	
1	4 دقائق	95	Initial المسخ الأولي denaturation	<i>Muc1f/ Muc 1r</i>
37	20 ثانية	94	Denaturation المسخ	
	50 ثانية	60	Annealing التلدين	
	20 ثانية	72	Extension الأطالة	
1	2 دقيقة	72	Final الأطالة النهائية extension	
1	4 دقائق	95	Initial المسخ الأولي denaturation	<i>511il 1b AF/ 511il 1b AR</i>
37	20 ثانية	94	Denaturatio المسخ	
	50 ثانية	57	Annealing التلدين	
	20 ثانية	72	Extension الأطالة	
1	2 دقيقة	72	Final الأطالة النهائية extension	
1	4 دقائق	94	Initial المسخ الأولي denaturation	<i>IL-1B+3954 R / IL-1B+3954 F</i>
37	20 ثانية	94	Denaturatio المسخ	
	25 ثانية	50	Annealing التلدين	
	25 ثانية	72	Extension الأطالة	
1	2 دقيقة	72	Final الأطالة النهائية extension	

3-2-6. الكشف عن التغيرات الجينية بأستعمال :

3-2-6-1. تقنية PCR - RFLP

يتم الكشف عن المتغيرات في الجينات الهدف بأستعمال تقنية PCR – RFLP ، أذ يتم هضم قطع الدنا المضخمة بتقنية PCR بوساطة أنزيمات التقييد . وقد تم أستعمال الانزيمات الهاضمة AIWNI و AVaI و TAGI وقد أجرى التفاعل الأنزيمي الذي تكون حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بأضافة 1مايكرو لتر من الدنا و 5 ملتر من NE buffer بتركيز X1 و 1مايكرو لتر من أنزيم التقييد المحتوى على 10 وحدات انزيمية ويكمل حجم التفاعل الى 50

مايكرو لتر بالماء الحر الخالي من انزيمات النيوكليز ثم يمزج التفاعل جيدا ويوضع في حمام مائي بدرجة 37 لمدة 15- 5 دقيقة ثم يتم تسخين التفاعل بدرجة 80 لمدة دقيقة لأيقاف التفاعل ، ثم يوضع في حمام ثلجي وبعدها يتم إجراء الترحيل الكهربائي لمحلول التفاعل .

2-7-3. الترحيل الكهربائي بهلام الأكاروز:

الترحيل الكهربائي بهلام الأكاروز هو الطريقة الأكثر فعالية لفصل أجزاء الحمض النووي. يعتمد تركيز هلام الأكاروز في مادة هلامية على حجم شضايا الحمض النووي المراد فصلها ، ويتراوح تركيز الأكاروز بين 2% - 0.7% . تم استعمال 0.7 % من الهلام للحصول على فصل جيد للحمض النووي الذي حجمه بين (10-5 كيلو زوج قاعدي) وبتركيز -1.5 % للحصول على دقة وضوح جيدة للأجزاء الصغيرة من ناتج PCR (0.2-1 كيلو زوج قاعدي). وبعد تحضير محلول الأكاروز يصره في الميكروويف حتى يصبح المحلول صافياً. ثم يبرد حتى تصل درجة حرارته إلى 55-50 م° ، ثم يضاف 5 ميكرو لتر من الصبغة الآمنة الى هلام الأكاروز الذائب.

ثم بعد ذلك يُسكب (الأكاروز) في صينية بلاستيكية بنهايات محكمة الغلق ، ويوضع المشط بشكل صحيح ، ثم يُترك ليتصلب. ثم توضع العينات في الحفر المنفصلة للهلام ، كل عينة في حفرة. ثم يتم توصيل الأقطاب الكهربائية بشكل صحيح ثم تطبيق التشغيل ، (وقت الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز 45 دقيقة للحمض النووي الجيني وساعة و 30 دقيقة لمنتج PCR).

❖ خطوات الترحيل الكهربائي :

- 1 - يوضع الهلام في وعاء بلاستيكي خاصة بجهاز الترحيل الكهربائي ، ويجب التأكد من أن أسنان المشط على ارتفاع 0.5 سم تقريباً فوق قاع الهلام.
- 2 - يحضر 500 مل من بفر (1X) TBE وذلك من خلال إضافة 50 مل من بفر TBE (10x) إلى الحجم النهائي من 500 مل من الماء منزوع الأيونات.
- 3 - تم وضع 100 مل من buffer في دورق سعة 500 مل ويضاف 0.8 غرام من الأكاروز. يُذوب الأكاروز عن طريق تسخين المحلول في (فرن الموجات الدقيقة).
- 4 - تم تبريد محلول الأكاروز إلى حوالي 50 درجة مئوية ويضاف 5 ميكرو لتر من محلول الصبغة الآمنة على بطة، يُصب (الأكاروز) في وعاء الصب (gel casting). تُزال أي فقاعات هواء.
- 5 - تم وضع المشط على بعد 1.5 سم تقريباً من حافة الهلام. يُترك الأكاروز لمدة 20-30 دقيقة تقريباً لكي يتصلب، بعد تصلب الأكاروز يُزال المشط بلطف مع الحرص على عدم تمزيق الهلام.
- 6 - تُزال صينية الصب الهلامي و توضع على منصة جهاز الترحيل.
- 7 - يُضاف محلول الترحيل إلى جهاز الترحيل حتى يصل إلى مستوى 1-0.5 سم فوق سطح الهلام.
- 8 - تم وضع العينات في الحفر باستعمال micropipette، مما يسمح لها بالغرق في قاع الحفرة.

- 9 - يوضع 5 ميكرو لتر من ladder molecular على كل جانب من الهلام (يحيط بخط العينة) و 20 ميكرو لتر من عينة الحمض النووي في الحفر الأخرى .
- 10 - يوضع الغطاء على علبة الهلام ونوصل الأقطاب الكهربائية. ينتقل الحمض النووي باتجاه القطب الموجب (الأحمر) الموجود بعيداً عن الحفر. بدوره على امدادات الطاقة.
- 12 - يستمر الترحيل الكهربائي حتى تتحرك صبغة التعقب بمقدار 10 سم على الأقل من طول الهلام.

3-2-8. تصوير الحمض النووي DNA :

يتم تصوير الجل بعد اكتمال عملية الترحيل الكهربائي باستعمال جهاز UV transluminator وتوثيقه بواسطة كاميرا رقمية.

3-3. التحليل الاحصائي :

النتيجة الاحصائية 100 عينة (50 عينة لمرضى مصابين بالقرحة الهضمية بواسطة الحلزونية البوابية , 50 عينة من مجموعة السيطرة) بأستعمال برنامج أحصائي (IBM SPSS Statistics Virgin 24) . النتيجة الأقل من 0.05 تعتبر ذات دلالة, تأثير تعدد الأشكال الجيني على خطر الإصابة بالقرحة الهضمية المتسببة بواسطة *H.pylori* وكانت نتيجة نسبة الأرجحية (OR) وفاصل الثقة 95% (CI) , والنسبة الفردية (OR) وقيم CI المقابلة لها 95%. وتم تقدير تردد الأليل عن طريق العد المباشر . تم إجراء مقارنة بين ترددات النمط الجيني للمرضى ومجموعة السيطرة بأستعمال اختبار X^2 , وبعضها بأستخدام اختبار فيشر Fisher test , تم أستعمال توازن هاردي – واينبرغ (HWE) لحساب تردد الأليل .

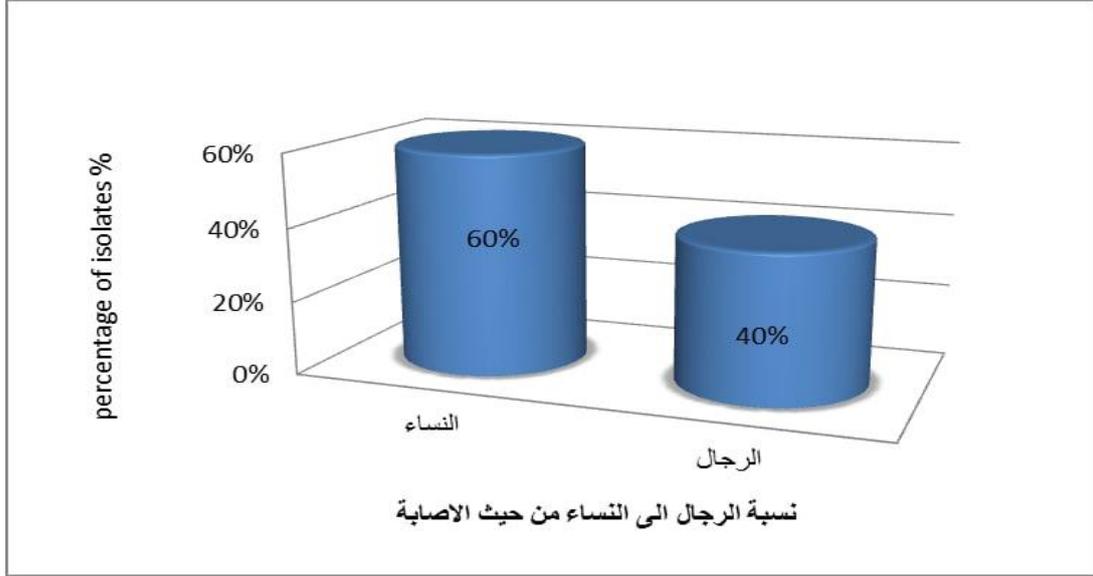
3-4. الموافقة الأخلاقية :

تم الحصول على الموافقة الصريحة من كل مريض قبل جمع العينات وأدراجهم في الدراسة.

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

تضمنت الدراسة عينات الدم التي تم جمعها من مجموعة المرضى المصابين بالقرحة الهضمية المتسببة بواسطة عدوى *H.pylori*، فضلا عن مجموعة السيطرة، لتحديد ما إذا كانت هناك علاقة بين جنس المريض والقرحة الهضمية إذ كانت نسبة النساء المصابات بالقرحة الهضمية المتسببة بعدوى *H.pylori* 60% أكبر من نسبة الرجال إذ بلغت 40% كما هو موضح في الشكل (4-1).



الشكل (4-1): توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة *H.pylori* حسب الجنس.

تتوافق نتيجة الدراسة الحالية مع الدراسات السابقة التي أجريت ومنها دراسة Gong وجماعته (2022) التي أظهرت ان معدل الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية *H.pylori* في مرضى قرحة المعدة 47.28%، إذ كان أعلى في الإناث منه عند الذكور (5.47%)، وكان معدل الإصابة بالبكتيريا الحلزونية في مرضى التهاب المعدة أعلى من ذلك.

أظهرت دراسة Vu وجماعته (2000) في سنغافوريا أن الجنس له تأثير على معدل الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية *H.pylori* في مرضى قرحة المعدة، وبينت ان الإناث أقل عرضة للإصابة بجرثومة المعدة من الذكور. قد يكون هذا بسبب الاستعمال العالي من مضادات الالتهاب غير الستيرويدية لدى النساء المصابات بقرحة المعدة بالمقارنة مع الذكور.

وبينت دراسة Shrestha وجماعته (2014) التي كان فيها معدل انتشار الحلزونية البوابية *H.pylori* بنسبة 69.6% بين الذكور و 66.7% بين الإناث. لوحظ وجود تقرحات في المعدة و الإثني عشر بشكل أكبر عند الذكور (63.2%) مقارنة بالإناث (32.1%) إذ كانت قيمة (P < 0.001).

بينما لم تجد دراسات أخرى مثل دراسة Kawasaki وجماعته (1998)، ودراسة Malaty وجماعته (2002) أي فرق بين الجنسين في معدل انتشار الأمراض المرتبطة بعدوى *H.pylori*، مثل مرض القرحة الهضمية وسرطان المعدة.

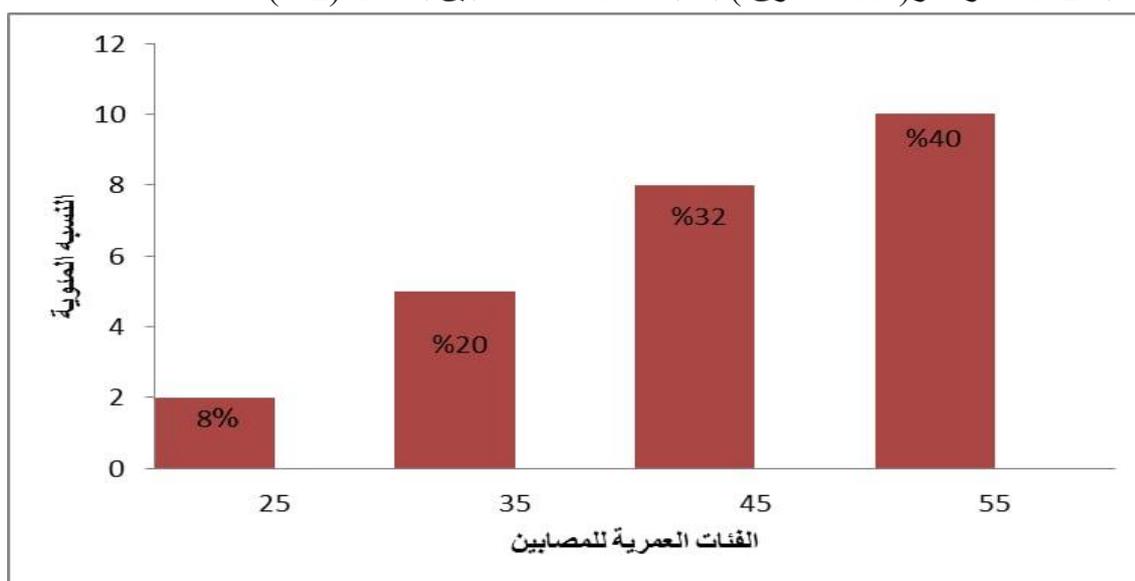
4-2. توزيع المرضى حسب العمر:

تم توزيع اعمار المرضى المصابين بالقرحة الهضمية المتسببة بواسطة عدوى *H.pylori* حسب العمر فضلا عن مجموعة السيطرة , لتحديد ما إذا كانت هناك علاقة بين العمر والقرحة الهضمية كما هو موضح في الجدول (4-1)

يبين جدول (4-1) توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة *H.pylori* حسب الفئة العمرية

الفئات العمرية	المرضى المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة <i>H.pylori</i>	النسبة المئوية
25-34 سنة	4	8%
35-44 سنة	10	20%
45-54 سنة	16	32%
فوق 55 سنة	20	40%
المجموع	50	100%

إذ تبين ان حدوث العدوى في المرضى المصابين بالقرحة الهضمية المتسببة بعدوى *H.pylori* في اعمار تتراوح بين (26- 64) ، إذ كانت معظم العدوى تتركز في الأعمار ما بين (45-54) بنسبة 32% ، وعمر (55 فما فوق) بنسبة 40% ، كما مبين بالشكل (4-2)



الشكل (4-2): توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة الحلزونية البوابية حسب العمر . إذ كانت هذه النتيجة مماثلة لدراسة سابقة قام بها Singh وجماعته (2002)، تشير إلى إن غالبية العدوى تحدث في مراحل متأخرة من العمر، توضح دراسته أن القرحة الهضمية ويكتريا *H.pylori* كانت أكثر انتشارا عند كبار السن .

كذلك بينت دراسة Graham وجماعته (1991) لسكان أمريكا أن عدوى الحلزونية البوابية تلعب دورًا رئيسًا في الإصابة بمرض القرحة الهضمية. أفادت الدراسات الأولية أن انتشار عدوى *H.pylori* يزداد مع تقدم العمر، إذ أزداد بسرعة مع تقدم العمر بنسبة 1% / سنة لإجمالي السكان .

ودراسة Yan وجماعته (2013)، تناولت انتشار عدوى الحلزونية البوابية في دولة عديدة منها جمهورية كوريا ، حيث كان الانتشار 50% في سن 20 عامًا و 70% في سن 60 عامًا 0 كانت

تقديرات الانتشار أعلى بشكل عام بين البلدان في أمريكا الوسطى والجنوبية، في سن 20 عامًا تراوحت هذه النسبة بين 30% في الأرجنتين ، 30% في المكسيك في سن 60 عامًا و 70% في تشيلي إلى 90% في المكسيك وآسيا.

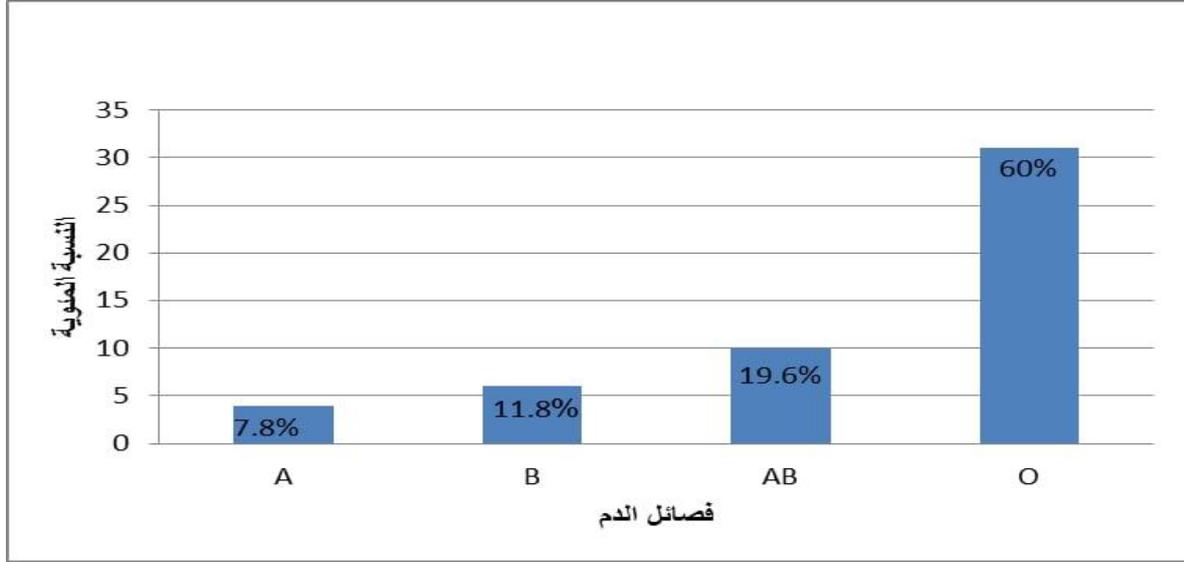
4-3. توزيع المرضى وفقا لفصائل الدم :

تم توزيع المرضى المصابين بالقرحة الهضمية المتسببة بوساطة عدوى *H.pylori* فضلا عن مجموعة السيطرة حسب فصائل الدم , لتحديد ما إذا كانت هناك علاقة بين فصيلة الدم والقرحة الهضمية كما هو موضح في الجدول (4-2).

جدول(4-2) توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة *H.pylori* حسب فصيلة الدم :

النسبة المئوية	المرضى المصابين بالقرحة الهضمية بواسطة <i>H.pylori</i>	مجموعات الدم
7.8 %	4	A
11,8 %	6	B
19.6 %	10	AB
60 %	30	O
100 %	50	المجموع

إن مجموعة الدم الأكثر شيوعا الموجودة في المرضى المصابين بالقرحة الهضمية , كانت مجموعة (O) بنسبة (60 %)، ثم فصيلة الدم (AB) بنسبة (19.6 %)، تليها فصيلة الدم (B) بنسبة(11.8 %) , وأخيرا حصلت فصيلة الدم (A) على نسبة (7.8 %) لمرضى المصابين بالقرحة الهضمية على التوالي . في هذه الدراسة ظهرت الإصابة لدى مريض لديه فصيلة دم (O) , يعني ان فصيلة دم (O) تكون ذات مخاطر عالية اكثر من الفصائل الأخر كما مبين في الشكل (4-3) .



الشكل (3-4): توزيع المصابين بالقرحة الهضمية بوساطة الحلزونية البوابية حسب فصيلة الدم.

تمت مطابقة هذه النتيجة مع الدراسات السابقة التي أجريت ومنها دراسة Hein وجماعته (1997) التي أظهرت وجود ارتباط معنوي بين فصيلة الدم O و العدوى التي تسببها الحلزونية البوابية *H.pylori* ($P = 0.01$) ، وهي نتيجة تعززها البيانات التي تم الحصول عليها من العديد من الدراسات. وبينت دراسة Jaff (2011) أن أفراد فصيلة الدم O أكثر عرضة للإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية ومضاعفاتها المعدية المعوية، ولديهم استجابة خلوية ومناعية أكثر لها من مجموعات الدم الأخر ABO .

دراسات أخرى مثل دراسة Alkout وجماعته (2000) أعطت نتائج مشابهة حيث يُظهر أفراد فصيلة الدم O استجابات التهابية أعلى تجاه الحلزونية البوابية (*H.pylori*) مع مستويات أعلى من تسلل الخلايا الليمفاوية في الغشاء المخاطي المعدي المعوي . وكذلك دراسة Aminu وجماعته (2021) بينت أن فصيلة الدم O قد تكون عاملاً مؤهلاً لتكوين عدوى *H.pylori* . كان مرضى فصيلة الدم A في هذه الدراسة أقل عرضة للإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية من مجموعات الدم الأخر على عكس العديد من الدراسات التي أشارت الى ان أفراد فصيلة الدم AB أقل عرضة للإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية كما في دراسة Kanbay وجماعته (2005) .

4-4. الدراسة الجزيئية :

يلعب الجهاز المناعي دوراً مهماً في حدوث العديد من الإصابات البكتيرية والفايروسية، وتعد السيتوكينات من المنظمات المناعية التي لها دور كبير في تطور الاصابات البكتيرية والفايروسية ومما لا شك فيه أن تعدد الأشكال الوراثية لهذه السيتوكينات والعوامل المناعية لها دور في تحديد قابلية الإصابة بالقرحة الهضمية المتسببة ب *H.pylori*.

4-4-1 . التحري عن طفرة جين *IL-1B 511* :

أظهرت نتائج تفاعل البوليمرايز المتسلسل PCR بأستعمال انزيم التقييد *AvaI* , وجود الأليلات C و T و ثلاثة أنماط وراثية (TT, CT, CC) . إذ ظهر النمط الوراثي TT في القطعة 305 زوج قاعدي , والنمط الوراثي CT في القطعة 190 و 115 زوج قاعدي, النمط الوراثي CC ظهر في القطعة 190 زوج قاعدي كما في الشكل (4-4) .



شكل رقم (4-4) الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين *IL-1B 511*, المسار M يمثل معلم حجمي 100

زوج قاعدي : المسارات 1 و 4 و 5 و 6 و 9 و 10 و 11 و 12 و 15 و 16 و 19 و 21 و 22 و 23 تمثل الطراز الوراثي TC المسارات 2 و 7 و 8 و 13 و 17 و 18 و 20 و 24 تمثل الطراز الوراثي CC المسارات 3 و 14 تمثل الطراز الوراثي TT .

أذ كشفت البيانات الأحصائية في الجدول (3-4) ، ان في حالة النموذج السائد المشترك ظهر أن 27(13.5%) من المصابين بالحلزونية البوابية ولديهم قرحة هضمية حملوا النمط الوراثي CT و 15(7.5%) من المرضى المصابين لديهم النمط CC , في حين ان 8(4%) من المرضى لديهم النمط TT. مقارنة مع مجموعة السيطرة (الكونترول) , إذ إن 30(15%) تحتوي على النمط CT, و 15(7.5%) تحتوي على النمط CC , و 5(2.5%) تحتوي على النمط TT، إذ لا يوجد اي فرق معنوي بالأنماط الوراثية.

النموذج السائد كشف ان 42(8.4%) من المصابين يحملون النمط الوراثي CT و CC, 8(4%) من المصابين يحملون النمط الوراثي TT . مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث ان 45(22.5%) يحملون النمط الوراثي CT و CC , و 5(2.5%) يحملون النمط TT . حيث لا يوجد فرق معنوي بين الأنماط.

النموذج المتنحي كشف ان 35(17.5%) من المصابين يحملون النمط CT و CC , و 15(7.5%) يحملون النمط TT. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 35(17.5%) تحتوي على النمط الوراثي CT و CC , و 15(7.5%) تحتوي على النمط TT، إذ لا يوجد اي فرق معنوي بالأنماط الوراثية .

أما في حالة الأليلات فإن 40 من المصابين يحملون الأليل T, و 7 يحملون الأليل C. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 40 تحتوي على الأليل T, و 60 تحتوي على الأليل C، لا يوجد فرق معنوي بينهم.

حيث أظهرت دراسة Altamemi وجماعته (2020) أن النمط الجيني IL-1 β -511TT أعلى بشكل ملحوظ في المرضى من مجموعة الكنترول (P = 0.005). تعدد الأشكال الجينية IL-1 β (rs16944) $T > C$ بمثابة عامل خطر للأمراض المرتبطة بالبكتيريا الحلزونية بما في ذلك القرحة الهضمية و سرطان المعدة .

كذلك دراسة Santos وجماعته (2012) والتي بينت أن المرضى المصابين بالبكتيريا الحلزونية البوابية ويحملون الأنماط الجينية T/T في الموقع -511 و C/C في الموقع -31 لديهم خطر متزايد للإصابة بالتهاب المعدة. يبدو أن وجود هذه الأنماط الجينية يزيد من مستويات IL-1 β وبالتالي يمنع إفراز حمض المعدة ويضخم الاستجابة الالتهابية لعدوى الحلزونية البوابية ، مما يؤدي إلى التهاب شديد. قد يؤدي هذا الالتهاب إلى الإصابة المستمرة لبنية الأنسجة ووظيفتها وتطور أمراض الجهاز الهضمي الشديدة.

Moorchung وجماعته (2007) بينوا ان انخفاض إفراز الحمض يؤدي إلى الإصابة بالبكتيريا الحلزونية البوابية ، لأن إفراز الحمض هو آلية دفاع مضيضة مهمة ضد الاستعمار البكتيري وانخفاض إفراز المعدة له يؤدي إلى زيادة تلف الغشاء المخاطي عن طريق السماح بتراكم السموم البكتيرية ونواتج الالتهاب التي عادة ما يتم تخفيفها وإزالتها.

وفي دراسة Furuta وجماعته (2002) تبين حدوث قرحة، ضمور والتهاب المعدة بشكل متكرر في المرضى الذين يعانون من النمط الجيني IL-1 β -511T/T . وبينوا ارتباط النمط الجيني IL-1 β 2511 بارتفاع درجة الحموضة في عصير المعدة في الأشخاص المصابون بعدوى الحلزونية البوابية.

وإن دراسة Hwang وجماعته (2002) تؤكد الارتباط بين IL-1 β في تعدد الأشكال وكل من القرحة الهضمية ، التهاب المعدة وضمورها .

وأظهرت دراسة Kato وجماعته (2001) أن هناك ارتباطاً إيجابياً بين الأليل IL-1 β 2511C وامراض المعدة كالسرطان في مجموعتهم اليابانية المكونة من 699 حالة .

كما في دراسة Ito وجماعته (2006) التي بينت أن IL-1 β -511C/T والناقل T تسبب انخفاض مخاطر الإصابة بأمراض المعدة في الأفراد اليابانيين .

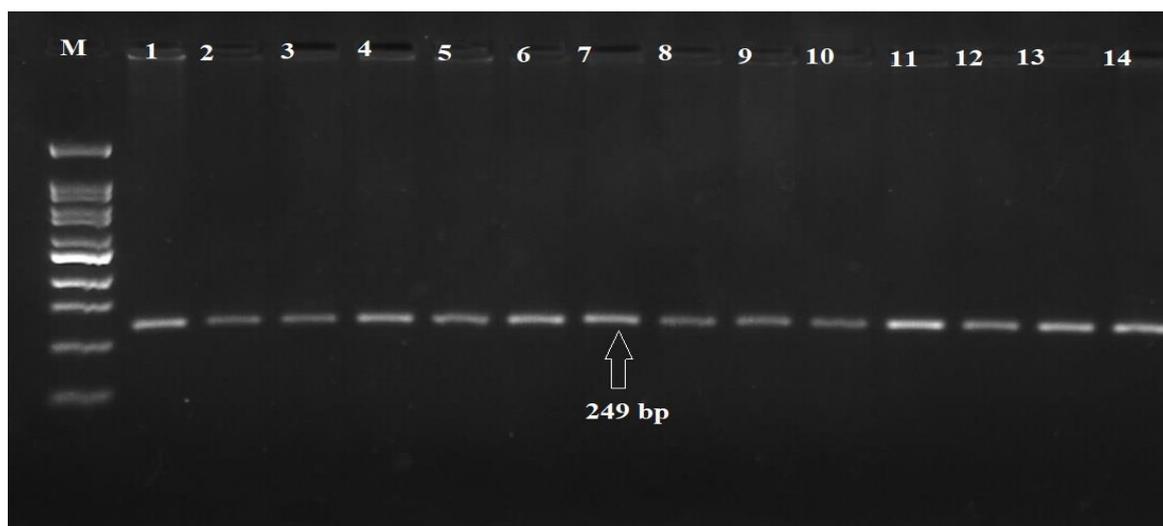
وهذا التباين والأختلاف بالدراسات يعود الى ان تعدد الأشكال الجيني يختلف تأثيره بحسب العرق فضلا عن عوامل آخر مثل التوزيع الجغرافي الذي له أثارونوعية التغذية والعادات والسلوكيات التغذوية .

يبين جدول (4-3) ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني *IL-1B 511* بين المرضى والأصحاء.

النموذج (Model)	السيطرة (Control)	الأشخاص المصابين	OR	Ci 95	قيمة P (Pvalue)
Codominant model			النموذج السائد المشترك		
TT	(2.5%)5	(4%)8			
CT	(15%)30	(13.5%)27	0.56	(0.16-1.92)	0.27
CC	(7.5%)15	(7.5%)15	0.62	(0.16-2.35)	0.36
Dominant model			النموذج السائد		
TT	(2.5%)5	(4%)8			
CT+CC	(22.5%)45	(8.4%)42	0.58	(0.17-1.92)	0.27
Recessive model			النموذج المتنحي		
TT+CT	(17.5%)35	(17.5%)35			
CC	(7.5%)15	(7.5%)15	1.00	(0.42-2.35)	0.58
Alleles			الأليلات		
T	40	43			
C	60	57	0.88	(0.50-1.55)	0.38

4-4-2. التحري عن طفرة الجين *IL-1B + 3954* :

توضح نتائج PCR لجين *MUC1* قبل التقطيع بأنزيم التقييد *AIWNI* في الشكل (4-5)



يبين شكل (4-5) الترحيل الكهربائي لنتائج تفاعل بلمرة الدنا لجين *IL-1B+3954* قبل المعاملة بأنزيم التقييد *TAGI* المسار M يمثل معلم حجمي بحجم 100 زوج قاعدي والمسارات 1-14 تمثل قطعة دنا بحجم 249 زوج قاعدي .

أظهرت نتائج تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR وبأستعمال انزيم التقييد *TAG I*, وجود الأليلات T و C و ثلاثة أنماط وراثية (TT, TC, CC). حيث ظهر النمط الوراثي TT في القطعة 249 و النمط الوراثي TC في القطع 114, 135, 249, النمط الوراثي CC ظهر في القطع 114, 135 كما موضح في الشكل (4-6).



شكل رقم (4-6) الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين *IL-1B+3954 gene polymorphism* بطريقة RFLP و بأستعمال انزيم التقييد *TAG I*: المسارات 1 و 2 و 3 و 7 و 9 و تمثل الطراز الوراثي المتغاير TC المسار 4 يمثل الطراز الوراثي المتماثل TT المسارات 5 و 6 و 8 و 10 و 11 و 12 تمثل الطراز الوراثي المتماثل CC.

إذ كشفت البيانات الأحصائية التي تم التوصل إليها كما الجدول (4-4) ان في حالة النموذج السائد ظهر ان 24 (12%) من المصابين بالحلزونية البوابية ولديهم قرحة هضمية حملوا النمط الوراثي CC و 20 (10%) من المرضى المصابين لديهم النمط TC, في حين أن 6 (3%) من المرضى لديهم النمط TT. مقارنة مع مجموعة السيطرة, إذ إن 23 (11.5%) تحتوي على النمط CC, و 19 (9.5%) تحتوي على النمط TC, و 8 (4%) تحتوي على النمط TT إذ لا يوجد أي فرق معنوي بالأنماط الوراثية.

النموذج السائد كشف ان 24 (21.5%) من المصابين يحملون النمط الوراثي CC, و 7 (3.5%) من المصابين يحملون النمط الوراثي TT+TC. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 47 (23.5%) يحملون النمط الوراثي CC, و 3 (1.5%) يحملون النمط TT+TC. إذ لا يوجد فرق معنوي بين الأنماط.

النموذج المتحى كشف ان 31 (15.5%) من المصابين يحملون النمط CC, و 19 (9.5%) يحملون النمط TT+TC. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 35 (517.5%) تحتوي على النمط الوراثي CC, و 32 (16%) تحتوي على النمط TT+TC. إذ اما في حالة الأليلات فإن 68 من المصابين يحملون الأليل C, و 32 يحملون الأليل TT. مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث ان 65 تحتوي على الأليل C, و ان 35 تحتوي على الأليل TT. وتبين من النتائج الأحصائية للدراسة الحالية بأنه لا يوجد فروق معنوية في تواتر الأنماط الجينية CC, TT, TC بين مجموعة المرضى ومجموعة السيطرة وهذا ما يفسر عدم وجود أي علاقة بين تعدد الأشكال *IL-1B+3954* مع القرحة الهضمية والتسرطن في المعدة.

طابقت هذه النتيجة مع النتائج التي توصلت إليها دراسة El-Omar وجماعته (2001) التي بينت أنه لا يوجد فرق معنوي في تواتر الأنماط الجينية بين مجموعات المرضى والمجموعة الضابطة لذلك وجد أن تعدد الأشكال $IL-1B + 3954$ لا تظهر أي علاقة مع امراض المعدة مثل القرحة وسرطان المعدة .

وطابقت الدراسة الحالية دراسة Zeng وجماعته (2003) بعدم وجود ارتباط لتعدد الاشكال الجيني $IL-1B + 3954$ وزيادة امراض المعدة إذ بينت أن هذا الارتباط لم يتم العثور عليه في سكان الشعوب الصينية .

خالفت دراسة Rad وجماعته (2018) الدراسة الحالية إذ بينت أن $IL-1B + 3954$ له علاقة بارتفاع مخاطر الإصابة بالتهاب المعدة والقرحة الهضمية [نسبة الأرجحية (OR) = 2.63 ، فاصل الثقة 95% (OR = 3.40) (CI = 1.47 – 4.70) ، (CI = 1.72– 6.71) على التوالي وارتبط أليل $IL-1B + 3954$ بالتهاب المعدة المزمن (OR = 1.64 ، CI = 1.13-2.36) .

ولم تتفق مع دراسة Hnatyszyn وجماعته (2013) التي توصلت إلى أن حاملي النمط الوراثي TT عرضة للقرحة الهضمية والتهاب المعدة .

قد يكون هذا الاختلاف في النتائج بسبب الأصول الجينية المختلفة في المجموعات العرقية المختلفة.

يبين جدول (4-4) ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني $IL-1B + 3954$ بين المرضى والأصحاء

النموذج (Model)	السيطرة (Control)	الأشخاص المصابين	OR	Ci 95	قيمة P (P value)
النموذج السائد المشترك					
Codominant model					
CC	23	24			
TC	19	20	1.00	(0.43-2.35)	0.57
TT	8	6	0.71	(0.21-2.39)	0.40
النموذج السائد					
Dominant model					
CC	23	24			
TC+TT	27	26	0.92	(0.42-2.02)	0.50
النموذج المتنحي					
Recessive model					
CC+TC	42	44			
TT	8	6	0.71	(0.22-2.23)	0.38
الأليلات					
Alleles					
C	65	68			
T	35	32	0.87	(0.48-1.57)	0.38

4-4-3 . التحري عن طفرة جين $IL-1RN 86$ VNTR :

أظهرت نتائج تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR بعد تجزئة منتجات PCR على المواد الهلامية الاكاروز وتصبيغها بصبغة read safe , وجود الأليلات L و 2 و ثلاثة أنماط وراثية

($*L/*L$, $*L/*2$, $*2/*2$) . إذ ظهر النمط الوراثي LL (الطراز الطويل) في القطعة 410, والنمط الوراثي $*L/*2$ في القطعة 410 و240, النمط الوراثي $*2/*2$ ظهر في القطعة 240 كما موضح في الشكل (4-7).



شكل رقم (4-7) الترحيل الكهربائي لتعدد الأشكال للجيني *IL-IRN* بأستعمال تقنية RFLP المسار M يمثل معلم حجمي 100 زوج قاعدي : المسارات 1 و2 و3 و4 و5 و7 و8 و9 و11 و12 و13 و14 و16 و17 و18 و19 و20 و23 و24 تمثل الطرز الوراثية للآليلات الطويلة : المسار 15 يمثل الطراز الوراثي للآليل القصير المسارات 16 و22 تمثل الطراز الوراثي غير المتجانس الحاوي على كلا الآليلات القصيرة والطويلة معا.

كشفت البيانات الأحصائية في جدول (4-5) ان في حالة النموذج الأساس اظهر ان 48 من المصابين بالحلزونية البوابية ولديهم قرحة هضمية حملوا النمط الوراثي $*L/*L$ و2 من المرضى المصابين لديهم النمط $*2/*2$, في حين أن لا يوجد مريض لديه النمط $*L/*2$. مقارنة مع مجموعة السيطرة, حيث ان 36 تحتوي على النمط $*L/*L$, 8 تحتوي على النمط $*2/*2$ و6 تحتوي على النمط $*L/*2$. حيث يوجد فرق معنوي بالنمط الوراثي $*L/*2$ و $*2/*2$ إذ يكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

النموذج السائد كشف ان 48 من المصابين يحملون النمط الوراثي $*L/*L$, 2 من المصابين يحملون النمط $*L/*2 + *2/*2$. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 36 يحملون النمط الوراثي $*L/*L$, و2 يحملون الأنماط $*L/*2 + *2/*2$. إذ يوجد فرق معنوي بقيمة $*0.001$ بالنمط $*L/*2 + *2/*2$ لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

النموذج المتنحي كشف ان 48 من المصابين يحملون النمط الوراثي $*L/*L + *L/*2$ و2 يحملون النمط $*2/*2$. مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 42 تحتوي على النمط الوراثي $*L/*L + *L/*2$, و8 تحتوي على النمط $*2/*2$. حيث ان النمط الوراثي $*2/*2$ يظهر فرق معنوي بقيمة $*0.0046$ لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

اما في حالة الآليلات فان 96 من المصابين يحملون الآليل $*L$, و4 يحملون الآليل $*2$. مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث ان 78 تحتوي على الآليل $*L$, وان 22 تحتوي على الآليل $*2$. إذ ظهر فرق معنوي بقيمة ($p = 0.001$) في الآليل $*2$ لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من المرض.

وفقاً لدراسة أجراها Machado وجماعته (2001) ، يتم تصنيف الأليلات إلى الأليلات القصيرة (الأليل $2 = 2$) والأليلات الطويلة (الأليلات 1 ، 3 ، 4 ، 5 = L). ويتم تصنيف أنماط التتميط الجيني على أنها (L/L و $L/2$ و $2/2$). تمت مطابقة النتائج مع دراسة Idris وجماعته (2019)، التي بينت عدم وجود اختلاف كبير في التركيب الجيني $IL-1RN$ مع عدوى $H.pylori$ القيمة الاحتمالية ($p\text{-value}=1.0000$) ، حيث يكشف ان تعدد الأشكال $IL-1RN$ يتعلق بأمراض المعدة، إذ ارتبط أليل $IL-1RN*2$ بشكل كبير بمخاطر أمراض المعدة في جميع المرضى كذلك ضمن ($P=0.0261$) ، ان النمط الجيني $IL-1RN/L$ أكثر بكثير متكرر في مرضى يعانون اضطرابات التهاب المعدة أو الاثني عشر أو القرحة الهضمية ، ($Odd=6.000$ ($95\% CI = 1.750-20.57$, $P=0.0056$)) علاوة على ذلك ، هناك ارتباط كبير بين سرطان المعدة ونقص نسبة الأليل $IL-1RN*2$ ($P=0.0504$) .

كما طبقت أيضا دراسات سابقة مثل دراسة Witkin وجماعته (2002) التي بينت ان من بين الأليلات الخمسة لـ تعدد الأشكال $IL-1Ra VNTR$ ، يبدو أن الأليل 2 يلعب دوراً مهماً في الأساس الجزيئي للأمراض المختلفة والمناعة الذاتية. وان زيادة نسبته تكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

علاوة على ذلك ، أظهرت دراسة التوالي Rad وجماعته (2018) أن المريض الذي يحمل $IL-1RN L / 2$ والأليل 2 اختطاراً متزايداً للإصابة بالقرحة الهضمية ($OR = 2.97$ ، $CI = 1.72-5.11$ ، $OR = 1.64$ ، $CI = 1.13-2.36$) على التوالي .

وكذلك في دراسة Furuta وجماعته (2002) أظهر ارتباطاً بين الأليل 2 في الجين $IL-1RN*2/2$ بتأثير وقائي كبير ضد مرض قرحة المعدة والاثني عشري .

تعمل العديد من الأنماط الجينية للبكتيريا وللضيف مجتمعة لتحديد أي الأفراد هم الأكثر عرضة للإصابة بالمرض. أشارت الدراسة الحالية إلى أن النمط الجيني $IL-1RN2/2$ يرتبط بشكل كبير بخطر الإصابة بقرحة المعدة الذي يستهدف المرضى الذين يعانون من هذا النمط الجيني الذي له القدرة على الحد من زيادة مخاطر الإصابة بقرحة المعدة إلى حد كبير.

إذ إن الأشخاص الذين يحملون هذا الأليل لديهم استجابة مناعية التهابية مطولة وأكثر شدة من الأشخاص الذين لديهم أنماط وراثية أخرى من $IL-1RA$ ، فمن المتوقع أن زيادة نسبة لـ $IL1RN*2$ متماثلة الزيغوت قد تجعل هؤلاء الأشخاص أكثر كفاءة في مكافحة العدوى الميكروبية أو الاستعمار بسبب زيادة المناعة الالتهابية كما في دراسة Witkin وجماعته (2002) . وأن هذا التباين الذي ظهر في الدراسات السابقة المختلفة قد يعود الى كون الدراسات جرت على أعراق مختلفة مع خلفية وراثية مختلفة وعادات معيشية قد تكون مصدر التناقض. قد تؤثر أيضاً الاختلافات الجينية في عدوى $H.pylori$ (إيجابية أو سلبية $cagA$) على الارتباط تعدد الأشكال $IL-1RN VNTR$ للضيف بعدوى $H.pylori$.

جدول (4-5) يبين ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني *IL-1RN* بين المرضى والأصحاء.

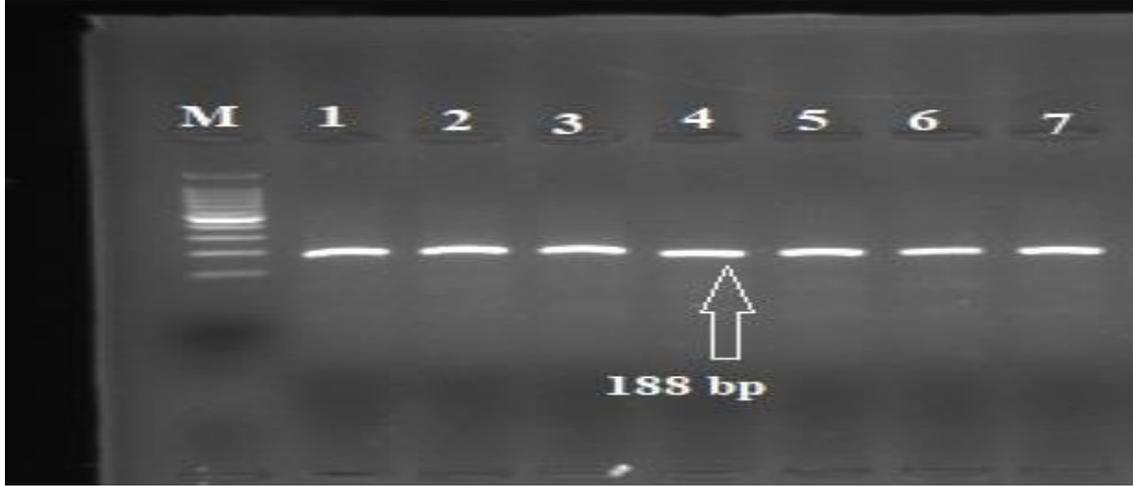
النموذج (Model)	السيطرة (control)	الأشخاص المصابين	OR	Ci 95	قيمة P P value
Codominant model			النموذج السائد المشترك		
IL-1RN*L/*L	(18%)36	(24%)48			
IL-1RN*L/*2	(3%)6	0	0.42	(0.33-0.54)	0.008*
IL-1RN*2/*2	(4%)8	(1%)2	0.18	(0.03-0.93)	0.028*
Dominant model			النموذج السائد		
IL-1RN*L/*L	(18%)36	(24%)48			
IL-1RN*L/*2 +	(7%)14	(1%) 2	0.10	(0.02-0.50)	0.001*
IL-1RN*2/*2					
Recessive model			النموذج المتنحي		
IL-1RN*L/*L+ IL-1RN*L/*2	(21%)42	(24%)48			
IL-1RN*2/*2	(4%)8	(1%) 2	0.21	(0.04-1.08)	0.046*
Alleles			الأليلات		
IL-1RN*L	78	96			
IL-1RN*2	22	4	0.14	(0.04-0.44)	0.001*

4-4-4. التحري عن طفرة جين *MUC1 5640G>A* :

Mucin1 هو بروتين سكري كبير من عائلة البروتينات كثيفة الكليكوزيلات (glycosylated) وهي المكونات العضوية الرئيسة لطبقة المخاط ، وطبقة واقية تغطي الخلايا الظهارية في كثير من الأعضاء بما في ذلك الجهاز الهضمي بأكمله. وتستفيد من ذلك الميكروبات التي يمكن أن ترتبط بالميوسين إذ يمكنهم الحصول على العناصر الغذائية المتاحة

والحماية الفيزيائية والكيميائية والالتصاق ، مما يؤدي إلى زيادة وقت الإقامة للكائنات الحية الدقيقة (Derrien *et al.*,2010) .

توضح نتائج PCR لجين *MUC1* قبل التقطيع بأنزيم التقييد *AIWNI* في الشكل (4-8)



يبين شكل(4-8) الترحيل الكهربائي لنتائج تفاعل بلمرة الدنا لجين *MUC1* قبل المعاملة

بأنزيم التقييد *AIWNI* المسار M يمثل معلم حجمي بحجم 100 زوج قاعدي والمسارات 1-7 تمثل قطعة دنا بحجم 188 زوج قاعدي .

اظهرت نتائج تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR - RFL , بعد فصل منتجات PCR بأستخدام انزيم التقييد *AIWNI* ، وجود الأليلات A و G و ثلاثة أنماط وراثية (AA, AG, GG) . إذ ظهر النمط الوراثي AA في القطعة 114, النمط الوراثي AG في القطعة 188 و النمط الوراثي GG ظهر في القطعة 74 كما موضح في الشكل (4-9).



شكل رقم (4-9) الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين *MUC1 564G>A* , مسار M يمثل معلم حجمي 100 زوج قاعدي : المسارات 1 و 5 و 7 و 10 و 12 و 13 و 14 و 16

و17 و 18 و 23 و 24 تمثل الطراز الوراثي AG المسارات 2 و 4 و 8 و 9 و 15 و 20 و 21 تمثل الطراز الوراثي GG المسارات 3 و 6 و 11 و 19 و 22 تمثل الطراز الوراثي AA .

حيث كشفت البيانات الأحصائية التي تم الحصول عليها كما موضح في الجدول (6-4) أن في حالة النموذج الأساسي، ظهر أن 42 (12%) من المصابين بالحلزونية البوابية ولديهم قرحة هضمية حملوا النمط الوراثي AG و 19 (7.5%) من المرضى المصابين لديهم النمط GG ، في حين أن 7 (4%) من المرضى لديهم النمط AA . مقارنة مع مجموعة السيطرة (control)، إذ إن 29 (14.5%) تحتوي على النمط AG ، 18 (9%) تحتوي على النمط GG و 3 (1.5%) تحتوي على النمط AA . إذ لا يوجد أي فرق معنوي بالأنماط الوراثية.

النموذج السائد كشف أن 43 (21.5%) من المصابين يحملون النمط الوراثي AG+GG ، و 7 (3.5%) من المصابين يحملون النمط الوراثي AA . مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث أن 47 (23.5%) يحملون النمط الوراثي AG+GG و 3 (1.5%) يحملون النمط AA . وعدم وجود فرق معنوي بين الأنماط .

النموذج المتنحي كشف أن 31 (15.5%) من المصابين يحملون النمط AA+AG و 19 (9.5%) يحملون النمط GG بالمقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 35 (17.5%) شخصاً حامل النمط الوراثي AA+AG، و 32 (16%) تحتوي على النمط GG ، أي لا يوجد هناك فروق معنوية . أما في حالة الأليلات فإن 38 من المصابين يحملون الأليل A و 62 يحملون الأليل G. مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث أن 35 تحتوي على الأليل A و 65 تحتوي على الأليل G . من خلال دراستنا الحالية تبين أنه لا يوجد فروق معنوية بين الأليلات والأنماط الوراثية بين المصابين والأصحاء ، لذلك لا يوجد علاقة واضحة بين القرحة وتعدد الأشكال الجيني ، على عكس أغلب الدراسات السابقة والتي بينت علاقة التعدد الجيني للـ *MUC1* مع امراض المعدة الأخر التي تسببها *H.pylori* مثل مرض السرطان.

تتوافق نتائج الدراسة الحالية مع نتائج Shekarriz وجماعته (2021) التي أشارت إلى وجود ارتباط النمط الجيني GA / GG و *H. pylori* بشكل كبير بزيادة خطر الإصابة بسرطان المعدة إذ (OR = 0.251 ، CI: 0.128–0.493 ، p = 0.0001) .

كذلك دراسة Silva وآخرون (2003) ذكرت أن المرضى الكولومبيين والبرتغاليين المصابين بالتهاب المعدة المزمن كانوا مختلفين وراثيًا في موضع VNTR. أظهروا أن الأنماط الجينية الأصغر من VNTR لجين *MUC1* تزيد من قابلية الإصابة بالتهاب المعدة و الحؤول المعوي . لاحظوا أيضًا أن تعدد الأشكال الجيني *MUC1* متورط في تطور التهاب المعدة الضموري المزمن والحؤول المعوي ، وهو مقدمة لسرطان المعدة .

وفي دراسة Li وجماعته (2013) أوضح أن تعدد الأشكال الجيني في جين *MUC1* المشارك في الاستجابة الالتهابية في مرضى الحلزونية البوابية (*H. pylori*) هو يرتبط بشكل كبير في التهاب المعدة وزيادة الاستعداد لسرطان المعدة.

وقد خالفت دراسة Alikhani وآخرون (2020) الدراسات السابقة إذ بينت أن تعدد الأشكال *MUC1 rs4072037* هو المرتبط بانخفاض خطر الإصابة بسرطان المعدة إذ ارتبط الأليل G الموجود في *MUC1 rs4072037* لجين *MUC1* بانخفاض خطر الإصابة بهما (OR = 0.507 ، CI: 0.322–0.799 ، p = 0.003) . أخيرًا ، أشارت النتائج إلى أن تعدد الأشكال *MUC1 5640G* < قد يكون له تأثير وقائي .

ومع ذلك ، لم توضح دراسات آخر مثل دراسة Kupcinskis وجماعته (2014) وجود ارتباط كبير بين تعدد الأشكال لجين *MUC1 rs4072037* و *H. pylori* مع القرحة الهضمية، التهاب المعدة وسرطان المعدة .

وفي دراسة Allen (2018) التي أوضح فيها ان الدراسات الهيكلية تظهر الهلام الذي يشكل الميوسين البوليمري لحاجز المخاط يعاني من نقص في مرض القرحة الهضمية. يمكن أن يُعزى هذا الانهيار للحاجز المخاطي في مرضى القرحة الهضمية إلى زيادة نشاط البيبسين لعصير المعدة في هذا المرض ، على الرغم من إمكانية وجود تفسيرات أخرى. حيث يتوافق نشاط البيبسين المتزايد لعصير المعدة في مرضى القرحة الهضمية مع مفهوم "لا حمض ، لا بيبسين ، لا قرحة" 0

وبين Van de Bovenkamp وجماعته (2003) أن تعدد الأشكال الجيني *MUC1* له دور في زيادة الأصابة يرجع الى التعبير عن *MUC1* في الغشاء حيث يتم إفراز mucin ، الذي يعتبر المكون الرئيس في طبقة هلام المخاط السطحي الذي يحمل المستقبل الرئيس لبكتيريا الحلزونية البوابية هو هيكل الكربوهيدرات (The carbohydrate blood-group antigen (Lewis B الموجود في أنسجة المعدة الطبيعية ويعد *MUC5AC* هو أهم حامل لـ *Leb* .
يبين جدول رقم (4-6) ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني *MUC1* **5640G>A** بين المرضى والأصحاء.

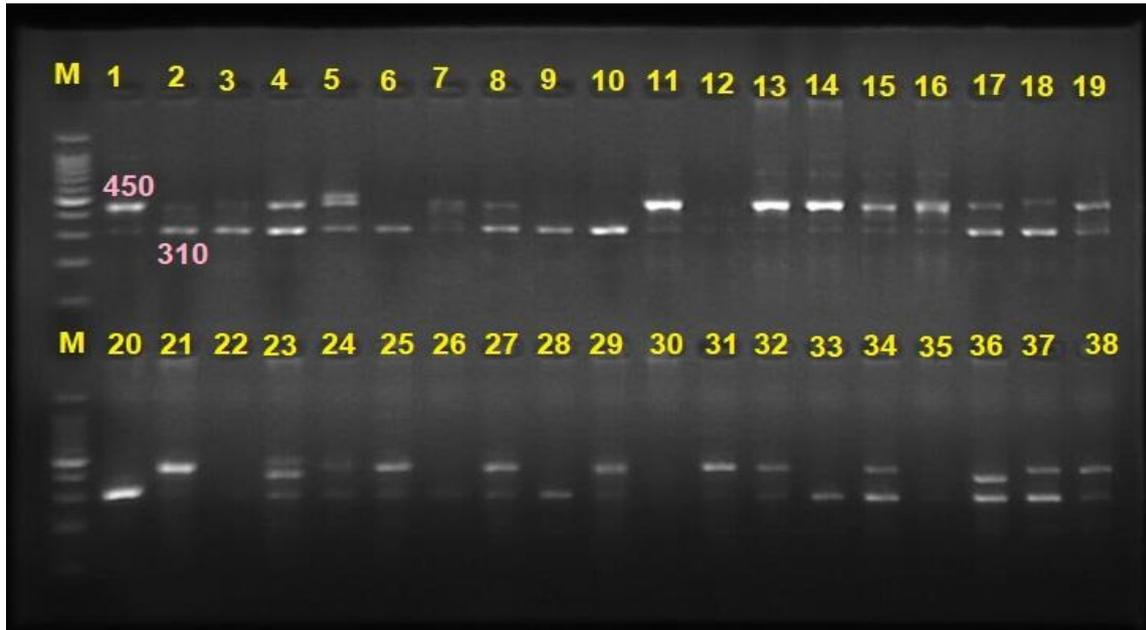
النموذج (Model)	السيطرة (Control)	الأشخاص المصابين	OR	Ci 95	قيمة p P value
النموذج السائد المشترك					
Codominant model					
AA	3 (1.5%)	7 (3.5%)			
AG	29 (14.5%)	24 (12%)	0.35	(0.08-1.52)	0.13
GG	18 (9%)	19 (9.5%)	0.45	(0.10-2.02)	0.24
النموذج السائد					
Dominant model					
AA	3 (1.5%)	7 (3.5%)			
AG+GG	47 (23.5%)	43 (21.5%)	0.39	(0.09-1.61)	0.15
النموذج المتنحي					
Recessive model					
AA+AG	32 (16%)	31 (15.5%)			
GG	18 (9%)	19 (9.5%)	1.09	(0.48- 2.45)	0.50
الأليلات					
Alleles					
A	35	38			
G	65	62	0.87	(0.49- 1.56)	0.38

4-4-5. التحري الجيني عن طفرة جين *Pepsinogen-II ins/del* gene:

أن الأليات الممرضة التي تحفز بوساطتها البكتريا الحلزونية البوابية *H.pylori* الأمراض للإنسان لا تزال مجهولة لحد الآن لذا من الضروري دراسة بعض العوامل الوراثية التي قد يكون لها دورا في إحداث الاصابة والعدوى ومنها جين *Pepsinogen-II* الذي يوجد في الإنسان بواقع نسخة واحدة بحجم 10.7 كيلو زوج قاعدي يقع على P 1.12 مع 11 اكسونات

(exons). الجين له عدة أشكال من التباين الجيني ، بما في ذلك تعدد الأشكال الإدراج / الحذف وتعدد الأشكال أحادي النوكليوتيدات (SNPs) التي تؤثر على تعبير PGC وتنظيمها لذلك تم التحري عن العلاقة بين ارتباط تعدد الأشكال الجيني PGC مع قرحة المعدة وعدوى الحلزونية البوابية وذلك بفحص 100 عينة حامض نووي مستخلص من الدم للكشف عن التعدد الجيني لل *Pepsinogen-II ins/del gene*، 50 عينة من أشخاص مصابين بال *H.pylori* ولديهم قرحة هضمية و50 شخص سليم (مجموعة السيطرة) .

بعد التضخيم ، اظهرت نتائج تفاعل البوليمريز المتسلسل PCR بعد فصل منتجات PCR على المواد هلام الاكاروز وتصبيغها بصبغة read safe ، وجود الأليلات L و S و ثلاثة أنماط وراثية (LL SL, SS). إذ ظهر النمط الوراثي LL في القطعة 450 زوج قاعدي ، النمط الوراثي SL في القطعة 400 زوج قاعدي و النمط الوراثي SS ظهر في القطعة 310 زوج قاعدي كما موضح بالشكل (4-10) .



شكل رقم (4-10) الترحيل الكهربائي للتغاير الوراثي للجين *Pepsinogen-II* من نوع الحذف/ إضافة المسار M يمثل معلم حجمي 100 زوج قاعدي : المسارات 1 و 11 و 13 و 14 و 29 و 31 تمثل الطرز الوراثية المتمائل للآليلات الطويلة : المسارات 2 و 3 و 6 و 9 و 10 و 20 و 26 و 28 و 33 يمثل الطراز الوراثي للآليل القصير المسارات 4 و 5 و 7 و 8 و 15 و 16 و 17 و 18 و 19 تمثل الطراز الوراثي غير المتجانس الحاوي على كلا الآليلات القصيرة والطويلة مع المسارات 12 و 22 و 30 و 35 مسارات خالية.

أذ كشفت البيانات الأحصائية أن في حالة النموذج السائد المشترك هناك (17%) من المصابين بالحلزونية البوابية *H.pylori* ولديهم قرحة هضمية حملوا النمط الوراثي SL و 13(6.5%) من المرضى المصابين لديهم النمط SS ، في حين ان 3 مرضى (1.5%) لديهم النمط LL .

مقارنة مع مجموعة السيطرة (الأصحاء), إذ إن 31 (15.5%) تحتوي على النمط LL, و 13 (6.5%) تحتوي على النمط SL, و 6 (3%) تحتوي على النمط SS كما موضح بالشكل (8-4).

حيث أن في النموذج الأساس أظهر النمط الوراثي LL فرق معنوي لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من الأصابة . النموذج السائد كشف أن 37 (8%) من المصابين يحملون النمط الوراثي SL+LL, 13 (6.5%) من المصابين يحملون النمط SS . مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 44 (22%) يحملون الأنماط الوراثية SL+LL, و 6 (3%) يحملون النمط SS.

النموذج المتتحي كشف أن 47 من المصابين يحملون النمط SL+LL و 3 يحملون النمط LL . مقارنة مع مجموعة السيطرة إذ إن 31 تحتوي على النمط الوراثي LL و 19 تحتوي على النمط SL+LL, إذ أن النمط الوراثي LL يظهر فرق معنوي لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

أما في حالة الأليلات فإن 60 من المصابين يحملون الأليل S و 40 يحملون الأليل L . مقارنة مع مجموعة السيطرة حيث أن 75 تحتوي على الأليل L و 25 تحتوي على الأليل S . حيث ظهر فرق معنوي في الأليل L لذلك يكون بمثابة عامل وقاية من المرض .

وهذه النتائج جاءت مخالفة للدراسات السابقة كما في دراسة Azuma وجماعته (1993) التي تشير إلى ارتباط كبير بين تعدد الأشكال الجيني في PGC في موضع الجين وقرحة المعدة الهضمية وأن هناك أهمية لهذا الارتباط بين تعدد الأشكال الجيني في الموضع الجيني ومرض قرحة المعدة .

ذكر Sun وجماعته (2009) أن تعدد الأشكال PGC ارتبط بخطر الإصابة بالقرحة الهضمية و المرضى الذين يعانون من سرطان المعدة (GC) .

في السنوات الأخيرة ، توصل Kumar وجماعته (2016) إلى أن PGC قد يرفع الأليل 1 متمائل الزيجوت (homozygous) الذي ظهر في النمط الوراثي SS من مستويات PGC في المصل في المرضى الذين يعانون من GC ، وخاصة في المرضى المصابين بعدوى البكتيريا الحلزونية البوابية *H.pylori* ، القرحة والحؤول المعوي المعدي (Gastric Intestinal Metaplasia).

كذلك ، ذكر Pinto-Correia وجماعته (2006) أن PGC الأليل المتمائل (1 homozygous allele) والمتمثل بالنمط الوراثي SS كان متعلق بالتنظيم تعبير PGC ليكون بمثابة عامل وقائي في تطور مرض المعدة . تشير النتائج التي تم التوصل إليها إلى وجود ارتباط بين تعدد الأشكال الجينية في الجين PGC والقرحة في المعدة. كما موضح في الجدول (4-7).

يبين جدول (4-7) ترددات الأليل والنمط الجيني لتعدد الأشكال الجيني *Pepsinogen-II* بين المرضى والأصحاء.

النموذج (model)	السيطرة (control)	الأشخاص المصابين	OR	Ci 95	قيمة p (P value)
--------------------	----------------------	---------------------	----	-------	---------------------

Codominant model			النموذج السائد المشترك		
SS	6 (3%)	13 (6.5%)			
SL	13 (6.5%)	34 (17%)	1.20	(0.37-3.84)	0.48
LL	31 (15.5%)	3 (1.5%)	0.04	(0.01-0.20)	0.0001*
Dominant model			النموذج السائد		
SS	6 (3%)	13 (6.5%)			
SL+LL	44 (22%)	37 (18%)	0.38	(0.13-1.12)	0.06
Recessive model			النموذج المتنحي		
SS+SL	19 (9.5%)	47 (23.5%)			
LL	31 (15.5%)	3 (1.5%)	0.03	(0.01-0.14)	0.001*
Alleles					
S	25	60			الأليلات
L	75	40	2.00	(1.09-3.65)	0.017*

قد يكون هذا الاختلاف في النتيجة بين الدراسات السابقة بسبب الاختلاف في حجم العينة ، أو سوء تفسير نتيجة تفاعل البوليميراز المتسلسل أو بسبب الاختلاف في العرق ونمط حياة المريض .

اما في الدراسة الحالية تبين ان النمط الوراثي LL هو عامل وقاية من المرض وقد يفسر تتناقض هذه النتائج مع الدراسات السابقة ، كون الدراسة اقتصرت على بقعة جغرافية معينة ويتميز الأشخاص في هذه البقعة الجغرافية بهذا النمط الوراثي .

الاستنتاجات والتوصيات :

الاستنتاجات:

- 1 - قد يساهم تعدد الأشكال الجيني *PGC* في ارتباط الأليل S بخطر الإصابة، اما الأليل L يعمل بمثابة عامل وقاية من المرض.
- 2 - احتمال أن تعدد الأشكال الجيني لل *ILIR-86VNTR* اثبت ان الأليل 2* يعمل بمثابة عامل وقاية من المرض .
- 3- بالنسبة لتعدد الأشكال *IL-1B 511* لم تظهر الدراسة التي اجريناها أي احتمال ارتباط بمرض القرحة الهضمية.
- 4 - قد يساهم تعدد الأشكال الجيني لل *MUC1* بقابلية الإصابة بعدوى *H.pylori* .
- 5 - احتمال لم يكن لتعدد الأشكال الجيني *IL-1B+394* أي ارتباط معنوي بعدوى *H.pylori* لعينة الدراسة في محافظة بابل

التوصيات :

- 1- تطبيق هذه الدراسة على عدد كبير من المرضى من مناطق مختلفة من العراق لتحديد الفروق بين السكان .
- 2- اجراء دراسة باستعمال تعدد الأشكال الجيني للأنواع الأخر من السايبتوكينات وارتباطهم بعدوى *H.pylori* .
- 3- إيجاد العلاقة بين تمايز التعبير الجيني لكل تعدد الأشكال الجيني في هذه الدراسة مع عدوى *H.pylori* .
- 4- اجراء دراسة لتقصي العلاقة بين الإصابة ب *H.pylori* والظروف البيئية المختلفة .
- 5- دراسة التغيرات الوراثي للجينات المدروسة اعلاه مع دراسة مناعية لقياس تركيزها في الدم .

المصادر

Ahmed, S., & Belayneh, Y. M. (2019). Helicobacter pylori and duodenal ulcer: systematic review of controversies in causation. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, 12, 441.

Alikhani, R., Taravati, A., & Hashemi-Soteh, M. B. (2020). Association of MUC1 5 640G> A and PSCA 5057C> T polymorphisms with the risk of gastric cancer in Northern Iran. *BMC Medical Genetics*, 21(1), 1-8.

- Goodwin, M. A.** (1989). Cryptosporidiosis in birds-A review. *Avian Pathology*, 18(3), 365-384.
- Alkout, A. M., Blackwell, C. C., & Weir, D. M.** (2000). Increased inflammatory responses of persons of blood group O to *Helicobacter pylori*. *The Journal of infectious diseases*, 181(4), 1364-1369.
- Allen, A.** (2018). The structure and function of gastrointestinal mucus. In Attachment of Organisms to the gut Mucosa (pp. 3-12). CRC Press.
- Altamemi, I. A., Salim, R. M., & Muslim, O. T.** Role of IL-1 β gene polymorphism in Disease Susceptibility in *Helicobacter pylori* associated gastritis and gastric cancer. *European Journal of Molecular & Clinical Medicine*, 7(09), 2020.
- Al-Thahab, Azhar Omran, and Ghaidaa Raheem Lateef Al-Awsi.** 2018. "Detection of Helocobacter Pylori in Pregnant Women by Stool Culture Method." *Biochemical and Cellular Achieve* 18(1): 49–54.
- Aminu, A. I., & Aminu, B. M.** (2021). SEROPREVALENCE OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION AMONG DYSPEPTIC PATIENTS OF DIFFERENT BLOOD GROUPS SEEN AT AMINU KANO TEACHING HOSPITAL KANO, NIGERIA. *West Afr. J. Microbio* (2955-1633), 1(01), 30-37.
- Amorim, A., Fernandes, T., & Taveira, N.** (2019). Mitochondrial DNA in human identification: a review. *PeerJ*, 7, e7314.
- Ansari, S., & Yamaoka, Y.** (2022). Animal Models and *Helicobacter pylori* Inf. *J. Clinic. Med*, 11(11), 3141.
- Azuma, T., Teramae, N., Hayakumo, T., Yasuda, K., Nakajima, M., Kodama, T., ... & Kawai, K.** (1993). Pepsinogen C gene

polymorphisms associated with gastric body ulcer. *Gut*, 34(4), 450-455.

- Baek**, S. M., Kim, N., Kwon, Y. J., Lee, H. S., Kim, H. Y., Lee, J., ... & Lee, D. H. (2020). Role of serum pepsinogen II and *Helicobacter pylori* status in the detection of diffuse-type early gastric cancer in young individuals in South Korea. *Gut and Liver*, 14(4), 439.
- Baker**, K. J., Houston, A., & Brint, E. (2019). IL-1 family members in cancer; two sides to every story. *Frontiers in immunology*, 10, 1197.
- Banerjee**, M., & Saxena, M. (2012). Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. *Clinica chimica acta*, 413(15-16), 1163-1170.
- Banerjee**, M., & Saxena, M. (2012). Interleukin-1 (IL-1) family of cytokines: role in type 2 diabetes. *Clinica chimica acta*, 413(15-16), 1163-1170.
- Benson**, J. A., Fode-Vaughan, K. A., & Collins, M. L. P. (2004). Detection of *Helicobacter pylori* in water by direct PCR. *Letters in applied microbiology*, 39(3), 221-225.
- Brenner**, H., Rothenbacher, D., & Arndt, V. (2009). Epidemiology of stomach cancer. *Cancer epidemiology*, 467-477.
- Bürgers**, R., Schneider-Brachert, W., Reischl, U., Behr, A., Hiller, K. A., Lehn, N., ... & Ruhl, S. (2008). *Helicobacter pylori* in human oral cavity and stomach. *Eur. J. oral sci*, 116(4), 297-304..
- Chauhan**, Nidhi, Alfred Chin Yen Tay, Barry J Marshall, and Utkarsh Jain. 2019. "Helicobacter Pylori VacA, a Distinct Toxin Exerts Diverse Functionalities in Numerous Cells: An Overview." *Helicobacter* 24(1): e12544.

- Chen, H., Wilkins, L. M., Aziz, N., Cannings, C., Wyllie, D. H., Bingle, C., ... & Duff, G. W. (2006).** Single nucleotide polymorphisms in the human interleukin-1B gene affect transcription according to haplotype context. *Human molecular genetics*, 15(4), 519-529.
- Chmiela, M., Karwowska, Z., Gonciarz, W., Allushi, B., & Stączek, P. (2017).** Host pathogen interactions in *Helicobacter pylori* related gastric cancer. *World journal of gastroenterology*, 23(9), 1521.
- Cho, J. H., Chang, Y. W., Jang, J. Y., Shim, J. J., Lee, C. K., Dong, S. H., ... & Cho, J. Y. (2013).** Close observation of gastric mucosal pattern by standard endoscopy can predict *Helicobacter pylori* infection status. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 28(2), 279-284.
- Cover, T. L., & Blaser, M. J. (2009).** *Helicobacter pylori* in health and disease. *Gastroenterology*, 136(6), 1863-1873.
- de Mattos, C. C. B., & de Mattos, L. C. (2017).** Histo-blood group carbohydrates as facilitators for infection by *Helicobacter pylori*. *Infection, Genetics and Evolution*, 53, 167-174.
- De Vries, A. C., & Kuipers, E. J. (2007).** *Helicobacter pylori* eradication for the prevention of gastric cancer. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 26, 25-35.
- Derrien, M., van Passel, M. W., van de Bovenkamp, J. H., Schipper, R., de Vos, W., & Dekker, J. (2010).** Mucin-bacterial interactions in the human oral cavity and digestive tract. *Gut microbes*, 1(4), 254-268.
- Dinarello, C. A. (2011).** Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 117(14), 3720-3732.

- Dinarelo, C. A.** (2018). Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological reviews*, 281(1), 8-27.
- Dumoutier, L., Van Roost, E., Colau, D., & Renauld, J. C.** (2000). Human interleukin-10-related T cell-derived inducible factor: molecular cloning and functional characterization as an hepatocyte-stimulating factor. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 10144-10149.
- El Khadir, M., Alaoui Boukhris, S., Benajah, D. A., El Rhazi, K., Ibrahim, S. A., El Abkari, M., ... & Bennani, B.** (2017). VacA and CagA status as biomarker of two opposite end outcomes of *Helicobacter pylori* infection (gastric Cancer and duodenal ulcer) in a Moroccan population. *PloS one*, 12(1), e0170616.
- El-Deeb, N., & Al-Madboly, L.** (2021). Probiotics and GIT diseases/stomach ulcer. In *Probiotics, the Natural Microbiota in Living Organisms* (pp. 58-81). CRC Press.
- El-Omar, E. M., Carrington, M., Chow, W. H., McColl, K. E., Bream, J. H., Young, H. A., ... & Rabkin, C. S.** (2000). Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*, 404(6776), 398-402.
- El-Omar, E. M., Chow, W. H., & Rabkin, C. S.** (2001). Gastric cancer and *H. pylori*: Host genetics open the way. *Gastroenterology*, 121(4), 1002-1004.
- El-Omar, E. M., Rabkin, C. S., Gammon, M. D., Vaughan, T. L., Risch, H. A., Schoenberg, J. B., ... & Chow, W. H.** (2003). Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, 124(5), 1193-1201.
- Farahmand, L., Merikhian, P., Jalili, N., Darvishi, B., & Majidzadeh-**

- A, K. (2018). Significant role of MUC1 in development of resistance to currently existing anti-cancer therapeutic agents. *Current Cancer Drug Targets*, 18(8), 737-748.
- Fatahi**, G., Abadi, A. T. B., Peerayeh, S. N., & Forootan, M. (2019). Carrying a 112 bp-segment in *Helicobacter pylori* dupA may associate with increased risk of duodenal ulcer. *Infection, Genetics and Evolution*, 73, 21-25.
- Fedorowicz**, S. A., Radzikowska, K. J., Mende, K., Ferenc, S., & Gnus, J. (2020). *Helicobacter pylori*: Historical therapy and current treatment *Helicobacter pylori*–dotychczasowa terapia i leczenie współczesne .
- Figueiredo**, C. A., Marques, C. R., dos Santos Costa, R., da Silva, H. B. F., & Alcantara-Neves, N. M. (2014). Cytokines, cytokine gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection: friend or foe?. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(18), 5235.
- Furuta**, T., El-Omar, E. M., Xiao, F., Shirai, N., Takashima, M., & Sugimura, H. (2002). Interleukin 1 β polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology*, 123(1), 92-105.
- Furuta**, T., Shirai, N., Takashima, M., Xiao, F., Hanai, H., Sugimura, H., ... & Kaneko, E. (2001). Effect of genotypic differences in CYP2C19 on cure rates for *Helicobacter pylori* infection by triple therapy with a proton pump inhibitor, amoxicillin, and clarithromycin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 69(3), 158-168.
- Gangwer**, K. A., Mushrush, D. J., Stauff, D. L., Spiller, B., McClain, M. S., Cover, T. L., & Lacy, D. B. (2007). Crystal structure of the *Helicobacter pylori* vacuolating toxin p55

domain. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(41), 16293-16298 .

- Gebara, C. E., Faria, C. M., Pannuti, C., Chehter, L., Mayer, M. P. A., & Lima, L. A. P. A. (2006).** Persistence of *Helicobacter pylori* in the oral cavity after systemic eradication therapy. *Journal of clinical periodontology*, 33(5), 329-333.
- Gerhard, M., Lehn, N., Neumayer, N., Borén, T., Rad, R., Schepp, W., ... & Prinz, C. (1999).** Clinical relevance of the *Helicobacter pylori* gene for blood-group antigen-binding adhesin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(22), 12778-12783.
- Go, M. F. (2002).** Natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 16, 3-15.
- Gong, Y., Kang, J., Wu, R., Ge, F., Zheng, Y. S., & Zeng, Q. (2022).** Gastroscopic results for the asymptomatic, average-risk population in Northern China: a cross-sectional study of 60,519 adults. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 1-9.
- Goto, H. (2003).** *Helicobacter pylori* and gastric diseases. *Nagoya Journal of Medical Science*, 66(3-4), 77-85.
- Graham, D. Y., & Miftahussurur, M. (2018).** *Helicobacter pylori* urease for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: A mini review. *Journal of advanced research*, 13, 51-57.
- Graham, D. Y., Malaty, H. M., Evans, D. G., Evans Jr, D. J., Klein, P. D., & Adam, E. (1991).** Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States: effect of age, race, and socioeconomic status. *Gastroenterology*, 100(6), 1495-1501.
- Gu, L., & Yang, H. (2020).** Factors associated with failure of

Helicobacter pylori eradication. Zhong nan da xue xue bao. Yi xue ban Journal of Central South University. Medical Sciences, 45(1), 79-84.

- Hansson, G. C.** (2019). Mucus and mucins in diseases of the intestinal and respiratory tracts. *Journal of internal medicine*, 285(5), 479-490.
- He, C. Y., Sun, L. P., Xu, Q., Liu, J. W., Jiang, J. Y., Dong, N. N., & Yuan, Y.** (2014). PGC TagSNP and its interaction with H. pylori and relation with gene expression in susceptibility to gastric carcinogenesis. *PloS one*, 9(12), e115955.
- He, C., Tu, H., Sun, L., Xu, Q., Gong, Y., Jing, J., ... & Yuan, Y.** (2015). SNP interactions of Helicobacter pylori-related host genes PGC, PTPN11, IL1B, and TLR4 in susceptibility to gastric carcinogenesis. *Oncotarget*, 6(22), 19017.
- Hein, H. O., Suadicani, P., & Gyntelberg, F.** (1997). Genetic markers for peptic ulcer: a study of 3387 men aged 54 to 74 years: the Copenhagen Male Study. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 32(1), 16-21.
- Herrera, V., & Parsonnet, J.** (2009). Helicobacter pylori and gastric adenocarcinoma. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(11), 971-976.
- Hirukawa, S., Sagara, H., Kaneto, S., Kondo, T., Kiga, K., Sanada, T., ... & Mimuro, H.** (2018). Characterization of morphological conversion of Helicobacter pylori under anaerobic conditions. *Microbiology and immunology*, 62(4), 221-228.
- Hnatyszyn, A., Wielgus, K., Kaczmarek-Rys, M., Skrzypczak-Zielinska, M., Szalata, M., Mikołajczyk-Stecyna, J., ... & Słomski, R.** (2013). Interleukin-1 gene polymorphisms in chronic gastritis patients infected with Helicobacter pylori as

- risk factors of gastric cancer development. *Archivum immunologiae et therapeuticae experimentalis*, 61(6), 503-512.
- Hwang, I. R., Kodama, T., Kikuchi, S., Sakai, K., Peterson, L. E., Graham, D. Y., & Yamaoka, Y. (2002).** Effect of interleukin 1 polymorphisms on gastric mucosal interleukin 1 β production in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology*, 123(6), 1793-1803.
- Idris, A. B., Ataelmanan, A. E., Eltaher, S. M., Idris, E. B., Arbab, B. M. O., Idris, A. I., ... & Hassan, M. A. (2019).** Independently Carriage of IL-1RN* 2 Allele Associated with Increased Risk of Gastric Cancer in The Sudanese Population. *medRxiv*, 19013573.
- Israel, D. A., Salama, N., Krishna, U., Rieger, U. M., Atherton, J. C., Falkow, S., & Peek, R. M. (2001).** *Helicobacter pylori* genetic diversity within the gastric niche of a single human host. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 98(25), 14625-14630.
- Ito, L. S., Oba-Shinjo, S. M., Shinjo, S. K., Uno, M., Marie, S. K., & Hamajima, N. (2006).** Community-based familial study of *Helicobacter pylori* infection among healthy Japanese Brazilians. *Gastric Cancer*, 9(3), 208-216.
- Iunusova, Alfiia I, Irina S Litvinova, Polina A Karpenok, and Abolghasem Tohidpour. 2017.** "The Cytotoxin-Associated Gene A (CagA) of *Helicobacter Pylori*: The Paradigm of an Oncogenic Virulence Factor.
- Jaff, M. S. (2011).** Relation between ABO blood groups and *Helicobacter pylori* infection in symptomatic patients. *Clinical and experimental gastroenterology*, 4, 221.

- Jaff, M. S.** (2011). Relation between ABO blood groups and Helicobacter pylori infection in symptomatic patients. *Clinical and experimental gastroenterology*, 4, 221.
- Jayaraman, P., Sada-Ovalle, I., Nishimura, T., Anderson, A. C., Kuchroo, V. K., Remold, H. G., & Behar, S. M.** (2013). IL-1 β promotes antimicrobial immunity in macrophages by regulating TNFR signaling and caspase-3 activation. *The Journal of immunology*, 190(8), 4196-4204.
- Junaid, M., Shah, M., Khan, A., Li, C. D., Khan, M. T., Kaushik, A. C., ... & Wei, D. Q.** (2018). Structural-dynamic insights into the H. pylori cytotoxin-associated gene A (CagA) and its abrogation to interact with the tumor suppressor protein ASPP2 using decoy peptides. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*.
- Kabamba, E. T., Tuan, V. P., & Yamaoka, Y.** (2018). Genetic populations and virulence factors of Helicobacter pylori. *Infection, Genetics and Evolution*, 60, 109-116.
- Kanbay, M., Gür, G., Arslan, H., Yilmaz, U., & Boyacioğlu, S.** (2005). The relationship of ABO blood group, age, gender, smoking, and Helicobacter pylori infection. *Digestive diseases and sciences*, 50(7), 1214-1217.
- Karlsson, A., Ryberg, A., Dehnoei, M. N., Borch, K., & Monstein, H. J.** (2012). Association between cagA and vacA genotypes and pathogenesis in a Helicobacter pylori infected population from South-eastern Sweden. *BMC microbiology*, 12(1), 1-8
- Kato, S., Onda, M., Yamada, S., Matsuda, N., Tokunaga, A., & Matsukura, N.** (2001). Association of the interleukin-1 β genetic polymorphism and gastric cancer risk in Japanese. *Journal of gastroenterology*, 36(10), 696-699.
- Kawasaki, M., Kawasaki, T., Ogaki, T., Itoh, K., Kobayashi, S.,**

- Yoshimizu, Y., ... & Acharya, G. P. (1998). Seroprevalence of *Helicobacter pylori* infection in Nepal: low prevalence in an isolated rural village. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 10(1), 47-50.
- Kumar, S., Kumari, N., Mittal, R. D., & Ghoshal, U. C. (2016).** Pepsinogen-II 100 bp ins/del gene polymorphism and its elevated circulating levels are associated with gastric cancer, particularly with *Helicobacter pylori* infection and intestinal metaplasia. *Gastric Cancer*, 19(3), 808-816.
- Kumar, S., Kumari, N., Mohindra, S., Mittal, R. D., & Ghoshal, U. C. (2012, December).** IL-8-251 T/A gene polymorphism with their serum level influencing host's susceptibility to gastric cancer in *H. Pylori* endemic area. In *Journal of gastroenterology and hepatology* (Vol. 27, pp. 431-431). 111 RIVER ST, HOBOKEN 07030-5774, NJ USA: WILEY-BLACKWELL.
- Kupcinskis, J., Wex, T., Link, A., Bartuseviciute, R., Dedelaite, M., Kevalaite, G., ... & Malfertheiner, P. (2014).** PSCA and MUC1 gene polymorphisms are linked with gastric cancer and pre-malignant gastric conditions. *Anticancer research*, 34(12), 7167-7175.
- Kusters, J. G., Van Vliet, A. H., & Kuipers, E. J. (2006).** Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical microbiology reviews*, 19(3), 449-490.
- Lan, H. C., Chen, T. S., Li, A. F. Y., Chang, F. Y., & Lin, H. C. (2012).** Additional corpus biopsy enhances the detection of *Helicobacter pylori* infection in a background of gastritis with atrophy. *BMC gastroenterology*, 12(1), 1-10.
- Lee, J. H., Park, J., Park, M. R., Na, Y. H., & Cho, S. J. (2017).** A comparative study of *Helicobacter pylori* growth on different

- agar-based media. *The Korean Journal of Helicobacter and Upper Gastrointestinal Research*, 17(4), 208-212.
- Leker, K.,** Lozano-Pope, I., Bandyopadhyay, K., Choudhury, B. P., & Obonyo, M. (2017). Comparison of lipopolysaccharides composition of two different strains of *Helicobacter pylori*. *BMC microbiology*, 17(1), 1-9.
- Li, C.,** Xia, H. H. X., Xie, W., Hu, Z., Ye, M., Li, J., ... & Xia, B. (2007). Association between interleukin-1 gene polymorphisms and *Helicobacter pylori* infection in gastric carcinogenesis in a Chinese population. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 22(2), 234-239.
- Li, J.,** & Perez-Perez, G. I. (2018). *Helicobacter pylori* the latent human pathogen or an ancestral commensal organism. *Frontiers in microbiology*, 9, 609.
- Li, M.,** Huang, L., Qiu, H., Fu, Q., Li, W., Yu, Q., ... & Yuan, X. (2013). *Helicobacter pylori* infection synergizes with three inflammation-related genetic variants in the GWASs to increase risk of gastric cancer in a Chinese population. *PloS one*, 8(9), e74976.
- Linjawi, S.,** Li, T. C., Laird, S., & Blakemore, A. (2005). Interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-1 beta polymorphisms in women with recurrent miscarriage. *Fertility and sterility*, 83(5), 1549-1552.
- Liu, H. J.,** Guo, X. L., Dong, M., Wang, L., & Yuan, Y. (2003). Association between pepsinogen C gene polymorphism and genetic predisposition to gastric cancer. *World Journal of Gastroenterology*, 9(1), 50.
- Liu, Y. E.,** Gong, Y. H., Sun, L. P., Xu, Q., & Yuan, Y. (2012). The relationship between *H. pylori* virulence genotypes and gastric diseases. *Pol J Microbiol*, 61(2), 147-150.

- Low, J., Johnston, N., & Morris, C. (2008).** Epidural analgesia: first do no harm. *Anaesthesia*, 63(1), 1-3.
- Machado, J. C., Pharoah, P., Sousa, S., Carvalho, R., Oliveira, C., Figueiredo, C., ... & Sobrinho-simões, M. (2001).** Interleukin 1B and interleukin 1RN polymorphisms are associated with increased risk of gastric carcinoma. *Gastroenterology*, 121(4), 823-829.
- Malaty, H. M., El-Kasabany, A., Graham, D. Y., Miller, C. C., Reddy, S. G., Srinivasan, S. R., ... & Berenson, G. S. (2002).** Age at acquisition of *Helicobacter pylori* infection: a follow-up study from infancy to adulthood. *The Lancet*, 359(9310), 931-935.
- Mattos, D. E., Cintra, J. R., Mattos, C. C., Nakashima, F., Silva, R. C. M. A., Moreira, H. W., & de Mattos, L. C. (2010).** ABO blood groups and *Helicobacter pylori* cagA infection: evidence of an association. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 16, 87-95.
- Mattos, L. C. D., Cintra, J. R., Sanches, F. E., Silva, R. D. C. M. A. D., Ruiz, M. A., & Moreira, H. W. (2002).** ABO, Lewis, secretor and non-secretor phenotypes in patients infected or uninfected by the *Helicobacter pylori* bacillus. *Sao Paulo Medical Journal*, 120, 55-58.
- Mayerle, J., den Hoed, C. M., Schurmann, C., Stolk, L., Homuth, G., Peters, M. J., ... & Kuipers, E. J. (2013).** Identification of genetic loci associated with *Helicobacter pylori* serologic status. *Jama*, 309(18), 1912-1920.
- McGuckin, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011).** Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), 265-278.

- McGuckin**, M. A., Lindén, S. K., Sutton, P., & Florin, T. H. (2011). Mucin dynamics and enteric pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 9(4), 265-278.
- Mesa**, F., Lanza, E., García, L., Marfil-Alvarez, R., & Magan-Fernandez, A. (2017). Polymorphism IL-1RN rs419598 reduces the susceptibility to generalized periodontitis in a population of European descent. *PloS one*, 12(10), e0186366.
- Moorchung**, N., Srivastava, A. N., Gupta, N. K., Ghosha, U. C., Achyut, B. R., & Mittal, B. (2007). Cytokine gene polymorphisms and the pathology of chronic gastritis. *Singapore medical journal*, 48(5), 447.
- Nejati**, S., Karkhah, A., Darvish, H., Validi, M., Ebrahimpour, S., & Nouri, H. R. (2018). Influence of *Helicobacter pylori* virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders. *Microbial pathogenesis*, 117, 43-48 .
- Ng**, W., Loh, A. X. W., Teixeira, A. S., Pereira, S. P., & Swallow, D. M. (2008). Genetic regulation of MUC1 alternative splicing in human tissues. *British journal of cancer*, 99(6), 978-985.
- On**, S. L. (2001). Taxonomy of *Campylobacter*, *Arcobacter*, *Helicobacter* and related bacteria: current status, future prospects and immediate concerns. *Journal of Applied Microbiology*, 90(S6), 1S-15S.
- Palli**, D., Masala, G., Del Giudice, G., Plebani, M., Basso, D., Berti, D., ... & Gonzalez, C. A. (2007). CagA+*Helicobacter pylori* infection and gastric cancer risk in the EPIC-EURGAST study. *International journal of cancer*, 120(4), 859-867.
- Peek**, R. M., & Blaser, M. J. (2002). *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nature Reviews Cancer*, 2(1), 28-37.

- Peng, C.**, Li, N. S., Hu, Y., & Lu, N. H. (2019). Impact factors that modulate gastric cancer risk in *Helicobacter pylori*-infected rodent models. *Helicobacter*, 24(4), e12580.
- Perez-Perez, G. I.**, Brown, W. R., Cover, T. L., Dunn, B. E., Cao, P., & Blaser, M. J. (1994). Correlation between serological and mucosal inflammatory responses to *Helicobacter pylori*. *Clinical and diagnostic laboratory immunology*, 1(3), 325.
- Perez-Perez, G. I.**, Garza-Gonzalez, E., Portal, C., & Olivares, A. Z. (2005). Role of cytokine polymorphisms in the risk of distal gastric cancer development. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 14(8), 1869-1873.
- Persson, C.**, Engstrand, L., Nyrén, O., Hansson, L. E., Enroth, H., Ekström, A. M., & Ye, W. (2009). Interleukin 1- β gene polymorphisms and risk of gastric cancer in Sweden. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 44(3), 339-345.
- Pimentel-Nunes, P.**, Libânio, D., Marcos-Pinto, R., Areia, M., Leja, M., Esposito, G., ... & Dinis-Ribeiro, M. (2019). Management of epithelial precancerous conditions and lesions in the stomach (maps II): European Society of gastrointestinal endoscopy (ESGE), European *Helicobacter* and microbiota Study Group (EHMSG), European Society of pathology (ESP), and Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (SPED) guideline update 2019. *Endoscopy*, 51(04), 365-388.
- Pinto-Correia, A. L.**, Sousa, H., Fragoso, M., Moreira-Dias, L., Lopes, C., Medeiros, R., & Dinis-Ribeiro, M. (2006). Gastric cancer in a Caucasian population: role of pepsinogen C genetic variants. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 12(31), 5033.

- Puculek, M., Machlowska, J., Wierzbicki, R., Baj, J., Maciejewski, R., & Sitarz, R. (2018).** Helicobacter pylori associated factors in the development of gastric cancer with special reference to the early-onset subtype. *Oncotarget*, 9(57), 31146.
- Qin, Z., Lin, W. T., Zhu, S., Franco, A. T., & Liu, J. (2017).** Imaging the motility and chemotaxis machineries in Helicobacter pylori by cryo-electron tomography. *Journal of bacteriology*, 199(3), e00695-16.
- Rad, N. M., Rezaeishahmirzadi, M., Shakeri, S., Abbaszadegan, M. R., & Shekari, M. (2018).** Association of IL-1B+ 3954 and IL-1RN polymorphisms in chronic gastritis and peptic ulcer. *Iranian journal of public health*, 47(9), 1364.
- Ramírez-Lázaro, M. J., Lario, S., Casalots, A., Sanfeliu, E., Boix, L., García-Iglesias, P., ... & Calvet, X. (2011).** Real-time PCR improves Helicobacter pylori detection in patients with peptic ulcer bleeding. *PLoS One*, 6(5), e20009.
- Rimbara, E., Sasatsu, M., & Graham, D. Y. (2013).** PCR detection of Helicobacter pylori in clinical samples. In *PCR Detection of Microbial Pathogens* (pp. 279-287). Humana Press, Totowa, NJ.
- Sabbagh, P., Mohammadnia-Afrouzi, M., Javanian, M., Babazadeh, A., Koppolu, V., Vasigala, V. R., ... & Ebrahimpour, S. (2019).** Diagnostic methods for Helicobacter pylori infection: ideals, options, and limitations. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(1), 55-66.
- Saeki, N., Saito, A., Choi, I. J., Matsuo, K., Ohnami, S., Totsuka, H., ... & Sakamoto, H. (2011).** A functional single nucleotide polymorphism in mucin 1, at chromosome 1q22, determines susceptibility to diffuse-type gastric

- cancer. *Gastroenterology*, 140(3), 892-902.
- Salih, B. A.** (2009). *Helicobacter pylori* infection in developing countries: the burden for how long?. *Saudi journal of gastroenterology: official journal of the Saudi Gastroenterology Association*, 15(3), 201.
- Santos, J. C., Ladeira, M. S. P., Pedrazzoli Jr, J., & Ribeiro, M. L.** (2012). Relationship of IL-1 and TNF- α polymorphisms with *Helicobacter pylori* in gastric diseases in a Brazilian population. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 45, 811-817.
- Schwarz, S., Morelli, G., Kusecek, B., Manica, A., Balloux, F., Owen, R. J., ... & Suerbaum, S.** (2008). Horizontal versus familial transmission of *Helicobacter pylori*. *PLoS pathogens*, 4(10), e1000180.
- Shekarriz, R., Alikhani, R., Navaei, R. A., & Hashemi-Soteh, M. B.** (2021). Association Between MUC1 rs4072037 Polymorphism and *Helicobacter Pylori* in Patients With Gastric Cancer.
- Shen, S., Jiang, J., & Yuan, Y.** (2017). Pepsinogen C expression, regulation and its relationship with cancer. *Cancer Cell International*, 17(1), 1-12.
- Shrestha, R., Koirala, K., Raj, K. S., & Batajoo, K. H.** (2014). *Helicobacter pylori* infection among patients with upper gastrointestinal symptoms: prevalence and relation to endoscopy diagnosis and histopathology. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 3(2), 154.
- Sicinschi, L. A., Lopez-Carrillo, L., Camargo, M. C., Correa, P., Sierra, R. A., Henry, R. R., ... & Schneider, B. G.** (2006). Gastric cancer risk in a Mexican population: role of *Helicobacter pylori* CagA positive infection and

- polymorphisms in interleukin-1 and-10 genes. *International journal of cancer*, 118(3), 649-657.
- Sierra Ramos, R.**, Une, C. A., Ramírez Mayorga, V., Alpízar Alpízar, W., González, M. I., Ramírez, J. A., ... & Mégraud, F. (2008). Relation of atrophic gastritis with *Helicobacter pylori*-CagA+ and interleukin-1 polymorphisms.
- Silva, F.**, Carvalho, F., Peixoto, A., Seixas, M., Almeida, R., Carneiro, F., ... & David, L. (2001). MUC1 gene polymorphism in the gastric carcinogenesis pathway. *European Journal of Human Genetics*, 9(7), 548-552.
- Silva, F.**, Carvalho, F., Peixoto, A., Teixeira, A., Almeida, R., Reis, C., ... & David, L. (2003). MUC1 polymorphism confers increased risk for intestinal metaplasia in a Colombian population with chronic gastritis. *European journal of human genetics*, 11(5), 380-384.
- Singh, V.**, Trikha, B., Nain, C. K., Singh, K., & Vaiphei, K. (2002). Epidemiology of *Helicobacter pylori* and peptic ulcer in India. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 17(6), 659-665.
- Smoot, D. T.** (1997). How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Direct mechanisms. *Gastroenterology*, 113(6), S31-S34.
- Solnick, J. V.**, & Vandamme, P. (2001). Taxonomy of the *Helicobacter* genus. *Helicobacter pylori: physiology and genetics*, 39-51.
- Stefano, K.**, Marco, M., Federica, G., Laura, B., Barbara, B., & Gioacchino, L. (2018). *Helicobacter pylori*, transmission routes and recurrence of infection: state of the art. *Acta Bio Medica: Atenei Parmensis*, 89(Suppl 8), 72.
- Sun, L. P.**, Gong, Y. H., Dong, N. N., Wang, L., & Yuan, Y. (2009). Correlation of pepsinogen C (PGC) gene insertion/deletion

polymorphism to PGC protein expression in gastric mucosa and serum. *Ai Zheng= Aizheng= Chinese Journal of Cancer*, 28(5), 487-492.

- Takahashi, S.**, Keto, Y., Fujita, H., Muramatsu, H., Nishino, T., & Okabe, S. (1998). Pathological changes in the formation of *Helicobacter pylori*-induced gastric lesions in Mongolian gerbils. *Digestive diseases and sciences*, 43(4), 754-765.
- Takahashi-Kanemitsu, A.**, Knight, C. T., & Hatakeyama, M. (2020). Molecular anatomy and pathogenic actions of *Helicobacter pylori* CagA that underpin gastric carcinogenesis. *Cellular & molecular immunology*, 17(1), 50-63.
- Telford, J. L.**, Ghiara, P., Dell'Orco, M., Comanducci, M., Burroni, D., Bugnoli, M., ... & Xiang, Z. (1994). Gene structure of the *Helicobacter pylori* cytotoxin and evidence of its key role in gastric disease. *The Journal of experimental medicine*, 179(5), 1653-1658.
- Testerman, T. L.**, & Morris, J. (2014). Beyond the stomach: an updated view of *Helicobacter pylori* pathogenesis, diagnosis, and treatment. *World journal of gastroenterology: WJG*, 20(36), 12781.
- Thomson, A. B. R.** (1997). A suggested approach to patients with dyspepsia. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 11(2), 135-140.
- Tirado-Hurtado, I.**, Carlos, C., Lancho, L., Alfaro, A., Ponce, R., Schwarz, L. J., ... & Fajardo, W. (2019). *Helicobacter pylori*: history and facts in Peru. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 134, 22-30.
- Uno, M.**, Hamajima, N., Ito, L. S., Oba, S. M., Marie, S. K., Shinjo, S. K., ... & Tominaga, S. (2002). *Helicobacter pylori* seropositivity

and IL-1B C-31T polymorphism among Japanese Brazilians. *International Journal of Molecular Medicine*, 10(3), 321-326.

Van de Bovenkamp, J. H., Mahdavi, J., Korteland-Van Male, A. M., Büller, . A., Einerhand, A. W., Borén, T., & Dekker, J. (2003). The MUC5AC glycoprotein is the primary receptor for *Helicobacter pylori* in the human stomach. *Helicobacter*, 8(5), 521-532.

Van Keeken, N., Van Hattum, E., & De Boer, W. A. (2006). Validation of a new, commercially available dry rapid urease test for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in gastric biopsies. *Neth J Med*, 64(9), 329-33.

Vellozzi, E. M., & Giugliano, E. R. (2021). The Genus *Helicobacter*. In *Practical Handbook of Microbiology* (pp. 375-398). CRC Press.

Vu, C., & Ng, Y. Y. (2000). Prevalence of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease in a Singapore hospital. *Singapore medical journal*, 41(10), 478-481.

Waghray, M., Zavros, Y., Saqui-Salces, M., El-Zaatari, M., Alamelumangapuram, C. B., Todisco, A., ... & Merchant, J. L. (2010). Interleukin-1 β promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog. *Gastroenterology*, 138(2), 562-572.

Walduck, A. K., & Raghavan, S. (2019). Immunity and vaccine development against *Helicobacter pylori*. *Helicobacter pylori in Human Diseases*, 257-275.

Wang, L., Liu, W., Tang, J. W., Wang, J. J., Liu, Q. H., Wen, P. B., ... & Zhang, X. (2021). Applications of Raman spectroscopy in bacterial infections: principles, advantages, and

- shortcomings. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Wang, M.,** Flkuta, T., Takashima, M., Futami, H., Shirai, N., Hanai, H., & Kaneko, E. (1999). Relation between interleukin-1B messenger RNA in gastric fundic mucosa and gastric juice pH in patients infected with *Helicobacter pylori*. *Journal of gastroenterology*, 34.
- Wang, R. Q., & FANG, D. C.** (2006). Effects of *Helicobacter pylori* infection on mucin expression in gastric carcinoma and pericancerous tissues. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 21(2), 425-431.
- Wang, S. Y.,** Shen, X. Y., Wu, C. Y., Pan, F., Shen, Y. Y., Sheng, H. H., ... & Gao, H. J. (2009). Analysis of whole genomic expression profiles of *Helicobacter pylori* related chronic atrophic gastritis with IL-1B-31CC/-511TT genotypes. *Journal of Digestive Diseases*, 10(2), 99-106.
- Wang, Y. K.,** Kuo, F. C., Liu, C. J., Wu, M. C., Shih, H. Y., Wang, S. S., ... & Wu, D. C. (2015). Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection: Current options and developments. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(40), 11221.
- Wilkinson RJ,** Patel P, Llewelyn M, Hirsch CS, Pasvol G, Snounou G, DavidsonRN, Toossi Z: Influence of polymorphism in the genes for the interleukin (IL)-1 receptor antagonist and IL-1beta on tuberculosis. *J Exp Med* 1999, 189(12):1863–1874.
- Witkin, S. S.,** Gerber, S., & Ledger, W. J. (2002). Influence of interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism on disease. *Clinical Infectious Diseases*, 34(2), 204-209.
- Yan, T. L.,** Hu, Q. D., Zhang, Q., Li, Y. M., & Liang, T. B. (2013). National rates of *Helicobacter pylori* recurrence are significantly and inversely correlated with human development index. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 37(10), 963-

968.

- Yu, J., Zeng, Z., Wang, S., Tian, L., Wu, J., Xue, L., ... & Sung, J. J.** (2010). IL-1B-511 Polymorphism Is Associated With Increased Risk of Certain Subtypes of Gastric Cancer in Chinese: A Case–Control Study. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 105(3), 557-564.
- Zeng, Z. R., Hu, P. J., Hu, S., Pang, R. P., Chen, M. H., Ng, M., & Sung, J. J. Y.** (2003). Association of interleukin 1B gene polymorphism and gastric cancers in high and low prevalence regions in China. *Gut*, 52(12), 1684-1689.
- Zhang, J., Sun, X., Wang, J., Zhang, F., Li, X., & Han, J.** (2017). Association of the IL-1RN variable number of tandem repeat polymorphism and *Helicobacter pylori* infection: A meta-analysis. *PloS one*, 12(4), e0175052.
- Zhang, X. Y., Zhang, P. Y., & Aboul-Soud, M. A.** (2017). From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncology letters*, 13(2), 543-548.

Summary:

Helicobacter pylori is a genus belongs to the family Helicobacteriaceae, and has been associated with gastrointestinal diseases such as gastritis, peptic ulcer, duodenal ulcer, and stomach cancer in infected persons. The genetic variation of many immune and other genes influences the susceptibility of bacteria to infection.

This study aimed to investigate the relationship of *H.pylori* infection with the patient's gender, blood types and susceptibility to gastritis by bacterial infection, in addition to investigating the effectiveness of genetic polymorphisms of immune response genes such as *IL-1RN* 86 genes VNTR, *1L-1B511*, and *IL -1B + 3954* and other genes such as the *MUC1 5640G>A*, *Pepsinogen-II ins/del*. Peptic ulcer and severe gastritis associated with *H.pylori* infection are widespread in Iraq.

samples of 50 people infected with *H.pylori* were diagnosed in laboratories associated with gastroenterologists (Al-Kindi Laboratory) in Babylon Governorate in the period from September 2021 to November 2021, blood samples were collected in EDTA tubes for each patient and also 50 samples for uninfected people as a control group. The DNA was extracted using a DNA extraction kit (G-spin/ Korea), using the Promega/USA master mix, then PCR technique (in vivo DNA doubling), electrophoresis with agarose gel, where the DNA is decomposed Nuclear.

The results showed that most cases of peptic ulcers and chronic gastritis caused by *H.pylori* infection were more in women and also in a greater proportion in people with blood type O. The genetic polymorphisms of the genes (*IL-1B + 3954*, *1L-1B511*,

MUC1 5640G>A) had no significant association with peptic ulcer infection, as there was no significant difference between the genotypes and alleles, as the P values were respectively (P = 0.38, P = 0.38 , p = 0.38).

This study found an association between genetic polymorphisms at the Pepsinogen-II ins/del gene locus and gastric ulcers.

The LL genotype showed an increase in the control group, which provides protection, so it serves as a protective factor against peptic ulcer infection with H.pylori infection, where p = 0.0001 *).

There is also a significant association between the genetic polymorphisms in the gene locus (IL-1RN 86 VNTR) where the P values were, respectively, P = 0.001 and stomach ulcers.

The results summarized that the patient's gender and blood type affect the incidence of peptic ulcers with H. pylori infection.

In addition to genetic variation for many genes that affect infection, namely (IL-1RN 86 VNTR) that increase susceptibility to peptic ulcer, while IL-1B+3954 1L-1B511, MUC1 5640G>A gene polymorphism was not related to infection, as for the polymorphism at the Pepsinogen-II ins/del gene locus, the LL genotype appeared as a protective factor against infection.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and
Scientific Research
University of Babylon



**College of science for women
Biology Department**

**Role of Some Genetic Polymorphisms of
Individuals on Their Susceptibility to
Infection with *Helicobacter pylori***

A Thesis

**Submitted to the Council of the College of science for women,
Babylon University, in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master in biology**

By

Zahraa Muhammad Aliwi Kreidi

(B. Sc. Biology / University of Babylon / College of Science, 2006)

Supervised by

**Prof.
Dr. Israa Adnan Ibraheam**

**Assist. Prof.
Dr. Zainab Abd Alnabi**

2022 A.D

1444 A.H