بررسی ارتباط عفونت هلیکوباکتر پیلوری با آترواسکلروزیس

فرزانه دهقان [۱] دکتر امید آثار [۲] دکتر عبدالعظیم نجاتی‌زاده [۳] دکتر محمد کارگر [۴]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی، [۴] دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم [۲] استادیار گروه جراحی، مرکز تحقیقات قلب و عروق، [۳] استادیار گروه ژنتیک و بیوتکنولوژی پزشکی، مرکز تحقیقات پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان

مجله پزشکی هرمزگان سال شانزدهم شماره اول فروردین و اردیبهشت ۹۱ صفحات ۱۶-۹

چکیده

مقدمه: *آترواسکلروزیس از شایع‌ترین علل مرگ و میر و ناتوانی در کشورهای صنعتی و در حال توسعه از جمله ایران می‌باشد. در سالهای اخیر دخالت عوامل عفونی از جمله هلیکوباکترپیلوری و کلامیدیاپنومونیه به عنوان عامل خطر برای آترواسکلروز مطرح شده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط عفونت هلیکوباکترپیلوری با آترواسکلروزیس با روش PCR ،همچنین ارتباط این فاکتور عفونی با دیگر عوامل خطر قلبی و عروقی بود.*

روش کار: *این مطالعه به صورت توصیفی- مقطعی بر روی ۸۵ بیمار مراجعه کننده برای پیوند بای پس عروق کرونر در بیمارستان شهید محمدی بندرعباس در سال ۱۳۹۰ انجام گرفت. در ابتدا نمونه های پلاک آترواسکلروتیک ائورت و بیوپسی عروق توراسیک داخلی پردازش شدند و سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام گرفت. علاوه بر آن با استفاده از پرسشنامه استاندارد خصوصیات دموگرافیک و بالینی بیماران ثبت گردید. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS وآزمون دقیق فیشر صورت گرفت.*

نتایج: *DNA هلیکوباکترپیلوری در ۴/۷٪ نمونه‌های پلاک آترواسکلروتیک و ۳/۵٪ بیوپسی‌های توراسیک شناسایی شد. میزان کلسترول در افراد دارای DNA هلیکوباکترپیلوری نسبت به افراد فاقد آن، ارتباط آماری معنی‌داری را نشان داد ($P<0/05$).*

نتیجه‌گیری: *در مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری بین عفونت هلیکوباکترپیلوری با آترواسکلروز به دست نیامد و نقش عفونت هلیکوباکترپیلوری به عنوان یک عامل خطر برای آترواسکلروزیس رد شد.*

کلیدواژه‌ها: *آترواسکلروزیس – هلیکوباکترپیلوری – PCR*

نویسنده مسئول:
دکتر امید آثار
معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان
بندرعباس – ایران
تلفن: ۳۳۳۷۱۹۲ ۷۶۱ ۹۸+
پست الکترونیکی:
omidasssasr@aim.com

دریافت مقاله: ۹۰/۶/۳۰ اصلاح نهایی: ۹۰/۱۰/۲۰ پذیرش مقاله: ۹۰/۱۰/۲۹

مقدمه:

بیماریهای قلبی عروقی مهمترین عامل مرگ و میر در کشورهای صنعتی و در حال توسعه (از جمله ایران) می‌باشند (۱). آترواسکلروز، که یک بیماری التهابی درگیرکننده دیواره شریان است و با تجمع پیش‌رونده لیپیدها در جداره عروق مشخص می‌شود، عامل اصلی ابتلا به بیماریهای قلبی عروقی می‌باشد (۲). عوامل خطر بسیاری از جمله دود سیگار، فشارخون بالا، دیابت، چاقی، هیپرکلسترولمی، سابقه فامیلی بیماریهای قلبی (۳) با درجات مختلف به طور مستقیم یا غیر مستقیم در ایجاد تغییرات آترواسکلروتیک عروق نقش دارند. اما در بعضی از افراد مبتلا به آترواسکلروز این عوامل خطر دیده نمی‌شود. در سالهای اخیر و طی چندین مطالعه مختلف، دخالت عفونت در بروز آترواسکلروز مطرح شده است. در این میان نقش باکتری‌هایی چون هلیکوباکترپیلوری و کلامیدیاپنومونیه و ویروس‌هایی مانند سیتومگالوویروس و هرپس ویروس در ایجاد آترواسکلروز مورد توجه می‌باشد (٤).

هلیکوباکترپیلوری عامل ایجاد بیماریهای معده‌ای نظیر گاستریت حاد فعال، بیماری اولسریپتیک، آتروفی مخاط

معده و آدنوکارسینوم معده می‌باشد (۵). تحقیقات زیادی نقش هلیکوباکترپیلوری را به عنوان یک عامل خطر احتمالی برای بیماریهای قلبی عروقی مورد بررسی قرار داده‌اند اما نتایج حاصل از این مطالعات متفاوت بوده است (۱۱-۶).

با توجه به شیوع بالای بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ و میر ناشی از آنها و وجود تناقض در مورد رابطه عفونت هلیکوباکترپیلوری و بیماری آترواسکلروز، در این مطالعه ارتباط بین عفونت هلیکوباکترپیلوری و آترواسکلروزیس، همچنین ارتباط بین این فاکتور عفونی با دیگر عوامل خطر قلبی و عروقی بررسی شدتا در صورت اثبات ارتباط بین عفونت هلیکوباکترپیلوری با آترواسکلروزیس و عوامل خطر قلبی و عروقی اقدامات پیشگیرانه و درمانی متناسب جهت کاهش هزینه‌های مالی اعمال شده بر وزارت بهداشت و درمان کشور اتخاذ گردد.

روش کار:

این مطالعه به روش توصیفی - مقطعی انجام شده است. نمونه‌گیری به روش تصادفی، از ۸۵ بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونر از آبان ماه ۱۳۸۹ تا خرداد ماه ۱۳۹۰ صورت گرفت. با استفاده از پرسشنامه مشخصات دموگرافیک و اطلاعات آزمایشگاهی بیماران از قبیل سن، جنس، سابقه خانوادگی ابتلا به بیماریهای قلبی، استعمال دخانیات، قندخون ناشتا (FBS)، کلسترول، LDL (لیپوپروتئین با چگالی پائین) و فشارخون ثبت و رضایت‌نامه کتبی از آنان دریافت شد. پیشنهاد اجرای پژوهش در کمیته اخلاق مرکز تحقیقات قلب و عروق بندرعباس نیز مورد تصویب قرار گرفت. سپس در حین عمل، توسط پزشک متخصص جراحی قلب و عروق، نمونه پلاک آترواسکلروتیک و بیوپسی عروق توراسیک داخلی جمع‌آوری و در لوله فالکون حاوی 5cc محلول-Tris EDTAبا PH=8 قرار گرفت و در فریزر۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد. ۸۵ نمونه پلاک آترواسکلروتیک (به عنوان گروه هدف) و همچنین ۸۵ بیوپسی عروق توراسیک داخلی (به علت اینکه دچار آترواسکلروز نمی‌شوند به عنوان گروه کنترل) مورد بررسی قرار گرفتند.

افراد دارای فشار خون ۱۴۰/۹۰ mmHg یا بالاتر و کسانی که داروهای ضد فشارخون مصرف می‌کردند به عنوان بیمار دارای فشارخون طبقه‌بندی شدند (۱۲). افراد دارای FBS بالاتر از ۱۲۶ میلی‌گرم درصد یا کسانی که سابقه دیابت داشته و داروهای کاهنده قندخون مصرف می‌کردند، به عنوان بیمار دیابتیک در نظر گرفته شدند (۱۳).سطح کلسترول بالاتر از ۲۰۰ میلی‌گرم درصد و LDL بالاتر از ۱۳۰ میلی‌گرم درصد به عنوان هیپرکلسترولمی و چاقی، شاخص توده بدنی بیشتر از ۳۰ میلی‌گرم درصد تعریف شد. کسانی که یک سال قبل از شروع این مطالعه مصرف سیگار را ترک کرده بودند و کسانی که در حال حاضر سیگار استعمال می‌کنند، فرد سیگاری قلمداد شدند.

استخراج DNA:

به منظور استخراج DNA از کیت عرضه شده توسط شرکت سیناژن ایران با نام Cinna Pure DNA Kit, استفاده شد. مراحل استخراج مطابق دستورالعمل ارائه شده همراه کیت انجام گردید. کیفیت DNA استخراج شده توسط ژل آگاروز ۱ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و با روش اسپکتروفتومتری در تعیین خلوص DNA، نتایج حاصل از ژل آگاروز تایید شد.

روشPCR:

برای تشخیص DNA هلیکوباکتر پیلوری از PCR یک مرحله‌ای با استفاده از پرایمرهای طراحی شده برای شناسایی ناحیه ژنی UreC (۱۶-۱۴) با توالی زیر استفاده شد:

HP1: 5'-AAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGGTTT- 3'

HP2: 5' -AAGCTTACTTTCTAACACTAACGC- 3'

برای این منظور ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده از پلاک آترواسکلروتیک و یا بیوپسی عروق توراسیک داخلی (نمونه کنترل) با ۱/۵میکرولیتر $Mgcl_2$ (۵۰ میلی‌مولار)، ۲/۵میکرولیتر Buffer 10x، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر ۰/۱۰،۵pmol/μl میکرولیتر dNTP (۱۰میلی مولار) و ۰/۲۵ میکرولیترآنزیم super Taqپلیمراز (۵u/μl) و

۱۶/۲۵میکرولیتر آب استریل دیونیزه به حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر رسانده شد.

PCR با استفاده از دستگاه mycycler Gradient) (BioRad با شرایط ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل با دمای دناتوره ۹٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای اتصال پرایمر ۵۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، دمای سنتز ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و دمای سنتز نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه انجام شد.

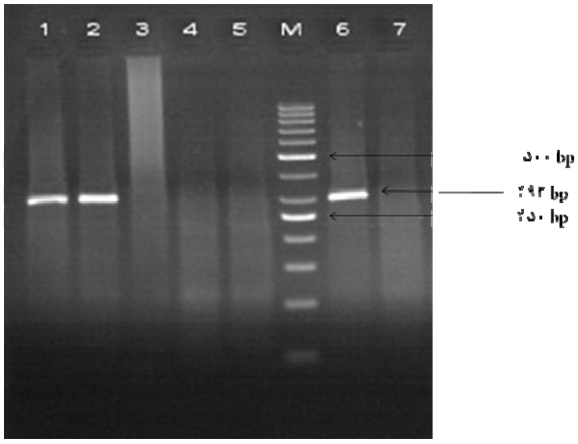
محصول PCR شامل ۲۹٤ جفت باز بود که با استفاده از الکتروفورز روی ژل آگارز ۲% حاوی اتیدیوم بروماید آشکار شد. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ و آزمون آماری دقیق فیشر انجام شد. سطح معنی‌داری $P \leq ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج:

از ۸۵ بیمار ٤۳ نفر زن (۵۰/٦) و ٤۲ نفر مرد (٤۹/٤) بودند. متوسط سن بیماران ٦۱ سال و دامنه تغییرات سنی آنها ٤۲ تا ۸۲ سال بود.

تمامی نمونه‌ها از نظر وجود DNA هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار گرفتند. DNA هلیکوباکترپیلوری با روش PCR در ٤ نمونه پلاک آترواسکلروتیک آئورت و ۳ بیوپسی عروق توراسیک داخلی تشخیص داده شد. در هیچ یک از بیماران به طور همزمان در هر دو نمونه پلاک آترواسکلروتیک آئورت و بیوپسی عروق توراسیک داخلی آنها ژنوم هلیکوباکتر پیلوری یافت نشد.

با استفاده از آزمون دقیق فیشر رابطه معنی‌داری بین نمونه مورد و شاهد از نظر حضور ژنوم هلیکوباکترپیلوری یافت نشد. به استثنا نه بیمار که فاقد عوامل خطر رایج برای آترواسکلروز بودند، بقیه بیماران دارای حداقل ۱ و حداکثر ۵ عامل خطر آترواسکلروز به طور همزمان بودند. همانطور که در جدول شماره ۱ مشاهده می‌شود در افراد دارای DNA هلیکو باکترپیلوری نسبت به افرادی که فاقد DNA هلیکوباکترپیلوری بودند افزایش کلسترول از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نشان داد. اما در مورد سایر ریسک فاکتورها، تفاوت معنی‌داری از نظر آماری ملاحظه نشد.



تصویر ۱-۱: PCR محصول ژن Ure C بر روی ژل آگارز ۲٪. ردیف ۱ و۲ نمونه های مثبت، ردیف ۳تا۵ نمونه های منفی، M سایز مارکر ۵۰bp، ردیف ٦ کنترل مثبت، ردیف ۷ کنترل منفی

جدول شماره ۱- یافته‌های دموگرافیک و بالینی بیماران بر اساس نتایج هیلکوباکتر پیلوری با روش PCR

متغیرها		هلیکوباکتر پیلوری در عروق توراسیک داخلی		هلیکوباکتر پیلوری در بلاک آترواسکلروتیک		P-value
		منفی (تعداد ۸۲ نفر)	مثبت (تعداد ۳ نفر)	منفی (تعداد ۸۱ نفر)	مثبت (تعداد ۴ نفر)	
سن (میانگین±انحراف معیار)		٦۱/٤±۹/۵	۵۷/۷±۵/۲	٦۱/۳±۹/۷	٦۰/۷±٤/٦	
جنس	زن	٤۲ (۵۱/۲)	۱ (۳۳/۳)	٤۱ (۵۰/٦)	۲ (۵۰)	۱
	مرد	٤۰ (٤۸/۸)	۲ (٦٦/۷)	٤۰ (٤۹/٤)	۲ (۵۰)	
استعمال دخانیات		۳٤ (٤۱/۵)	۰ (۰)	۳۷ (٤۵/۷)	۰ (۰)	۰/۰۸
دیابت		۳۲ (۳۹)	۱ (۳۳/۳)	۳۲ (۳۹/۵)	۱ (۲۵)	۰/٦۳
فشارخون		۳۷ (٤۵/۱)	۳ (۱۰۰)	۳۹ (٤۸/۱)	۱ (۲۵)	۰/٦۲
هیپرکلسترولمی		۱۸ (۲۲)	۰ (۰)	۱۵ (۱۸/۵)	۳ (۷۵)	۰/۰۳
چاقی		۳ (۳/۷)	۱ (۳۳/۳)	٤ (٤/۹)	۰ (٤)	۰/۳٦
سابقه خانوادگی		٦٦ (۸۰/۵)	۰ (۰)	۱۸ (۲۲/۲)	۱ (۷۵)	۱

بحث و نتیجه‌گیری:

عفونتهای مختلف باکتریایی و ویروسی می‌توانند با عوامل خطر قلبی عروقی کلاسیک مانند دود سیگار، فشارخون، دیابت، اختلالات لیپیدی و محرکهای پیش التهابی دیگر مانند هموسیستئین، رادیکالهای آزاد، سیتوکین‌ها و کموکین‌ها واکنش متقاطع داده و با همکاری هم، عفونت و التهاب داخل عروقی موضعی و سیستمیک را ایجاد کنند و منجر به آترواسکلروزیس و سپس ترومبوز شوند (۱۷).

در صورت اثبات وجود رابطه بین هلیکوباکتر پیلوری و بیماریهای قلبی، می توان با درمان ساده و موثر برای هلیکوباکتر پیلوری، میزان بروز این بیماریها را کاهش داد. از سوی دیگر، احتمال تهیه واکسن هلیکوباکتر پیلوری نیز وجود دارد که می‌توان در کودکی جهت پیشگیری از آن استفاده کرد (۱۸).

با توجه به شیوع بالای عفونت هلیکوباکتر پیلوری در کشورمان و بی‌ارزش بودن مطالعات سرولوژیک در مطالعه حاضر از روش PCR استفاده شد و DNA هلیکوباکترپیلوری در ٤/٧٪ نمونه‌های پلاک آترواسکلروتیک و ٣/٥٪ بیوپسی های عروق توراسیک داخلی شناسایی گردید و اختلاف معنی‌داری بین این دو نمونه یافت نشد، بنابراین نمی‌توان عفونت با هلیکوباکتر پیلوری را در کنار دیگر عوامل زمینه سازآترواسکلروزیس از جمله دیابت، فشارخون، هیپرکلسترولمی و ... قرار داد.

تحقیقات زیادی نقش هلیکوباکترپیلوری را به عنوان عوامل خطر احتمالی برای بیماری عروق کرونر مورد بررسی قرار داده‌اند که در اغلب آنها نقش این عفونت از نظر آماری معنی‌دار نبود. Sulewska (لهستان،۲۰۰۳)، T.w weiss (استرلیا، ۲۰۰٦)، Dore (ایتالیا،۲۰۰۳) Kaklikkaya (ترکیه، ۲۰۰٦) وPeter W.Radke (آلمان، ۲۰۰۰) قادر به شناسایی ژنوم هلیکوباکترپیلوری در پلاک آترواسکلروز نبودند (۲۳-۱۹). در حالی که تعداد کمی از مطالعات از جمله Iriz (ترکیه ۲۰۰۸)، Sepastian (آرژانتین،۲۰۰۱)، Kaplan(ترکیه،۲۰۰٦)، Kowalski(آلمان،۲۰۰۱) برخلاف مطالعه ما، ارتباط معنی‌داری بین حضور هلیکوباکترپیلوری و بیماریهای قلبی عروقی مشاهده کردند و شیوع بالاتر هلیکوباکترپیلوری را نسبت به مطالعه ما گزارش نمودند (۲۷-۲٤).

نتایج حاصل از مطالعه حاضر از میان عوامل اتیولوژیک رایج آترواسکلروزیس (هیپرکلسترولمی، جنسیت، گروه سنی، چاقی، استعمال دخانیات، سابقه خانوادگی بیماری قلبی)، تنها ارتباط هیپرکلسترولمی را با حضور هلیکوباکتر پیلوری تائید کرد.

در مطالعه کاپلان و همکاران در سال ۲۰۰٦ نقش هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز آترواسکلروزیس اثبات شد اما ارتباط معنی‌داری بین عوامل خطر قلبی و عروقی با این ارگانیسم یافت نشد (۲٦).

در مطالعه اسلامی و همکاران در سال ۱۳۸۲ نتیجه گرفته شد هلیکوباکتر پیلوری در توسعه آترواسکلروزیس نقش دارد و وجود این ارگانیسم با افزایش LDL در سرم خون افراد تحت بررسی ارتباط معنی‌داری دارد (۲۸).

در مطالعه‌ای که توسط جورج و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام شد، نقش هلیکوباکترپیلوری در ایجاد آترواسکلروزیس و ارتباط این ارگانیسم با کاهش سطح HDL (لیپوپروتئین با چگالی بالا) در سرم خون افراد بررسی شده تائید شد (۲۹).

کینجو و همکاران در سال ۲۰۰۲ ارتباط عفونت هلیکوباکتر پیلوری را با بیماریهای قلبی و عروقی اثبات کردند اما ارتباط معنی‌داری بین عفونت هلیکوباکترپیلوری و عوامل خطر رایج قلبی و عروقی پیدا نکردند (۳۰).

یکی از دلایل متفاوت بودن نتایج مطالعات مشابه این مطالعه در نقاط مختلف جهان می‌تواند از کلونیزاسیون موقتی یا قرار گرفتن هلیکوباکترپیلوری در جای به خصوصی در بافت ها ناشی شود. مکانیسم کلونیزاسیون باکتری در رگهای خونی تاکنون آشکار نشده است. چون باکتری در سرم خون کشته می‌شود و DNA آزاد در گردش می‌تواند نتایج مثبت کاذب را در بافت نشان دهد. حضور ژنوم این باکتری شاید دلیلی برای درگیری مستقیم باکتری در پروسه پاتوژنیک نباشد و باکتری، یک کومانسال بی‌ضرر باشد که خودش را در بافت‌های تغییر یافته پاتولوژیک متمرکز می‌کند (۱۹،۳۱). دلایل دیگر می‌تواند در نتیجه استفاده از روشهای مختلف برای شناسایی عفونت و یا حتی وارد کردن جمعیت های مختلف در

مطالعه باشد. موضوع دیگر، شیوع متفاوت عفونت هلیکوباکترپیلوری در نواحی جغرافیایی مختلف و سطح اقتصادی اجتماعی کشورهای بررسی شده می‌باشد (۳۲).

از محدودیت‌های مطالعه حاضر، به علت شناسایی DNA هلیکوباکترپیلوری با ناحیه ژنی UreC و انجام PCR یک مرحله‌ای قادر به شناسایی مقادیر کم DNA این باکتری و خنثی کردن اثر بازدارنده‌های PCR در نمونه‌های بالینی نبودیم.

در مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری بین عفونت هلیکوباکترپیلوری با آترواسکلروز بدست نیامد و نقش عفونت هلیکوباکترپیلوری به عنوان یک عامل خطر برای آترواسکلروزیس رد شد. پیشنهاد می‌گردد جهت اثبات ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و آترواسکلروزیس مطالعاتی مشابه با روشهای دیگر مانند nested PCR و real- PCR time و بررسی آنتی ژن های اختصاصی‌تر مانند Heat Shock Protein انجام گیرد.

سپاسگزاری:

نویسندگان این مقاله از حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان به دلیل حمایت های مالی و اجرائی، همچنین از همکاری دکتر عباس دوستی در تأمین سویه مثبت این باکتری و جناب آقای نادر ذوالقدری در تجزیه و تحلیل آماری قدردانی می نماید.

References منابع

1. Sung KC, Rhee EJ, Ryu SH, Beck SH. Prevalence of helicobacter pylori infection and its association with cardiovascular risk factors in Korean adults. *Intern J Cardiol*. 2005;102:411-417.
2. Gaudio E, Carpino G, Grassi M, Musca A. Morphological aspect of atherosclerosis lesion: Past and Present. *Clin Ter*. 2006;157:135-142.
3. Paul M, Ridker MD. Risk factors for atherothrombotic disease. Libby: Elsevier Saunders Press; 2005:939.
4. Raygan F, Khorasanifar H, Momen Heravi M, Arj A, Akbari H. The association between acute myocardial infarction and anti helicobacter pylori antibody. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciernces*. 2009;11:31-36. [Persian]
5. Huang B, Chen Y, Xie Q, Lin G, Wu Y, Feng Y, et al. Cag A–Positive Helicobacter pylori strains enhanced coronary atherosclerosis by increasing serum OxLDL and HsCRP in Patients with Coronary Heart Disease. *Dig Dis Sci*. 2010;56:109-114.
6. Davoudi SS, Omran A, Boroumand MA, Rahimian N, Saadat S. Association between Helicobacter pylori and coronary artery disease. *Cent Eur J Med*. 2010;6:107-112.
7. Arias E, Martinetto H, Schultz M, Ameriso S, Rivera S, Lossetti O, Sevlever G. Seminested polymerase chain reaction (PCR) for detecting Helicobacter pylori DNA in carotid atheromas. *Diagn Mol Pathol*. 2006;15:174-179.
8. Kiwalski M, Pawlik M, Konturek JW, Konturek SJ. Helicobacter pylori infection in coronary artery disease. *J Physiol Pharmacol*. 2006;57:101-111.
9. Iriz E, Cirak MY, Engin ED, Zor MH, Erer D, Ozdogan ME,Turet S,Yener A. Dtection of Helicobacter pylori DNA in aortic and left internal mammary artery biopsies. *Texas Heart Inst J*. 2008;35:130-135.
10. Farsak B,Yildirir A, Akyön Y, Pinar A, Oc M, Böke E, et al. Detection of Chlamydia pneumonia and Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques by PCR. *J Clin Microbiol*. 2000;38:4408-4411.
11. Cammarota G, Figura N, Cianci R, Pasceri V, Fedeli P, Lenzi GC, et al. Is there an antigenic mimicry between arteriosclerotic lesions and H.pylori antigens? *Clin Biochem*. 2000;33:419-421.
12. Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2003;26:5-20.
13. Cushman WC, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo J, et al. Seventh report of the joint national committee on prevention, detection, evaluation, and treatment of high blood pressure. *J of Am Heart Association*. 2003;43:1206-1252.
14. Sinth V, Mishra S, Rao GR, Jain AK, Dixit VK, Gulati AK, et al. Evaluation of nested PCR in detection of Helicobacter pylori targeting a highly conserved gene: HSP60. *Helicobacter*. 2008;13:30-34.
15. Reszka E, Jegier B, Wasowicz W, Lelonek M, Banach M, Jaszewski R. Detection of infectious agents by polymerase chain reaction in human aortic wall. *Cardiovasc Pathol*. 2008;17:297-302.
16. Smith SI, Oyedeji KS, Arigbabu AO, Cantet F, Megraud F, Coker AO. Comparison of three PCR methods for detection of Helicobacter pylori DNA and detection of cagA gene in gastric biopsy specimens. *World J Gastroenterol*. 2004;10:1958-1960.
17. Ngeh J, Anand V, Gupta S. Chlamydia pneumonia and atherosclerosis – what we know and what we don' t. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8:2-13.
18. Bahar MA, Faghihi Kashani AH, Haghighat P, Kabir A, Poor Eslami M. Association between Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Tehran University of Medical Sciences Journal*. 2004;11:13-22.
19. Sulewska A, Modrzejewski W, Kovalchuk O, Kasacka I, Jackowski R, Hirnle T, et al. Attempts to detect Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques. *Rocz Akad Med Biolymst*. 2004;49:239-241.

20. Weiss TW, Kvakan H, Kaun C, Prager M, Speidl WS, Zorn G, et al. No evidence for a direct role of Helicobacter pylori and Mycoplasma pneumonia in carotid artery atherosclerosis. *J Clin Pathol*. 2006;59:1186-1190.

21. Dore MP, Sepulveda AR, Bacciu PP, Biasi F, Simula L, Murras L, et al. Detection of Chlamydiae pneumonia but Not Helicobacter pylori DNA in Atherosclerosis Plaques. *Digcst Dis Sci*. 2003;48:945-951.

22. Kaklikkaya I, Kaklikkaya N, Buruk K, Pulathan Z, Koramaz I, Aydin, F, et al. Investigation of chlamydia pneumonia DNA, chlamydial lipopolisaccharide antigens, and Helicobacter pylori DNA in atherosclerotic plaques of patients with aortoiliac occlusive disease. *Cardiovasc Pathol*. 2006;15:105-109.

23. Radke PW, Merkelbach-Bruse S, Messmer BJ, Vom Dahi J, Dörge H, Naami A, et al. Infectious agents in coronary lesions obtained by endatherectomy: pattern of distribution coinfection and clinical. *Findings Coron Artery Dis*. 2001;12:1-6.

24. Iriz E, Cirak MY, Engin ED, Zor MH, Erer D, Imren Y, et al. Effects of atypical pneumonia agents on progression of atherosclerosis and a coronary syndrome. *Acta Cardiol*. 2007;62:593-596.

25. Ameriso S, Fridman E, Leiguarda R, Sevleverand G, Spence JD. Detection of Helicobacter pylori in Human Carotid atherosclerotic Plaques. *Stroke*. 2001;32:385-391.

26. Kaplan M, Yavuz SS, Cinar B, Koksal V, Kut MS, Yapici F, et al. Detection of Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques of carotid artery by polymerase chain reaction. *Int J Infect Dis*. 2006;10:116-123.

27. Kowalski M. Helicobacter pylori (H. pylori) infection in coronary artery disease: influence of H.pylori eradication on coronary artery lumen after persutaneous transluminal coronary angioplasty. The detection of H.pylori specific DNA in human coronary atherosclerotic plaque. *J Physiol Pharmacol*. 2001;525:3-31.

28. Eslami GH, Falah F, Kazemi B, Ghodarzi H, Taheri S, Taremian F, et al. Detection of cytomegalovirus and Helicobacter pylori in atherosclerotic plaques in patients with coronary artery disease at academic centers. *Premedical Sciences Journal*. 2003;1:97-102. [Persian]

29. Georges JL, Rupprecht HJ, Blaukenberg S, Poirier O, Bickel C, Hafner G, et al. Impact pathogen burden in patient with coronary artery disease in relation to systemic inflammation and variation in genes encoding cytokines. *Am J Cardiol.* 2003;92:515-521.

30. Kinjo K, Sato H, Shiotani I, Kurotobi T, Ohnishi Y, Hishida E, et al. Prevalence of Helicobacter pylori infection and its link to coronary risk factors in Japanese patients with acute myocardial infarction. *Circ* J. 2002;66:805-810.

31. Dore MP, Realdi G, Sepulveda AR, Graham DY. Detection of genomic Helicobacter pylori DNA in the blood of patients positive for the infection. *Dig Liver Dis*. 2003;35:839-840.

32. Farshad SH, Japoni A, Alborzi AV, Zarenezhad M, Ranjbar R. Changing prevalence of Helicobacter pylori in south of Iran. *Iranian J of Clin Infect Dis*. 2010;5:65-69.

Effect of Helicobacter pylori DNA in human atherosclerotic plaques

F. Dehghan, MSc [1] O. Asar, MD [2] A. Nejatizadeh, PhD [3] M. Kargar, PhD [4]

MSc Student of Microbiology [1] , Associate Professor Department of Microbiology [4] , Islamic Azad University Jahrom Branch, Jahrom, Iran. Assistant Professor Department of Surgery, Cardiovascular Research Center [2] , Assistant Professor Department of Biotechnology & Genetics , Research Center for Molecular Medicine [3] , Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

(Received 21 Sep, 2011 Accepted 19 Jan, 2012)

ABSTRACT

Introduction: A number of studies have demonstrated that infectious mico organisms like helicobacter pylori may play a role in the process of atherosclerosis. We, here, aimed to investigate the effect of Helicobacter pylori DNA in atherosclerotic plaques in patients with coronary artery disease.

Methods: In a cross-sectional study, 85 patients undergoing coronary artery bypass graft (CABG) in Jorjani heart center, Bandar Abbas, were enrolled. Using standard questionnaire, demographic and clinical data were gathered. Obtained specimens were processed and polymerase chain reaction (PCR) was carried out. Statistical analysis was performed with SPSS.

Results: Helicobacter pylori DNA was detected within atherosclerotic plaques, in only 4 out of 85 patients (4.7%), where as, 3 out of 85 control specimens from internal mammary artery were positive for presence of the mentioned bacteria. There was no difference between atherosclerotic plaque and thoracic biopsy in terms of Helicobacter pylori DNA positivity.

Conclusion: We did not find any association between the presence of Helicobacter pylori and development of atherosclerosis.

Correspondence:
O. Asar, MD.
Office of Vice-chancellor for Research, Hormozgan University of Medical Sciences.
Bandar Abbas, Iran
Tel:+98 761 3337192
Email:
omidassar@aim.com

Key words: Atherosclerosis – Helicobacter Pylori – Polymerase – Chain reaction