

بررسی ارتباط عفونت هلیکوباکتر پیلوری با آترواسکلروزیس

فرزانه دهقان^۱ دکتر امید آثار^۲ دکتر عبدالعظیم نجاتی زاده^۳ دکتر محمد کارگر^۴

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد گروه زیست‌شناسی، ^۲ دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم ^۳ استادیار گروه جراحی، مرکز تحقیقات قلب و عروق، ^۴ 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 ۹-۱۶

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 هلیکوباکتر پیلوری و کلامیدیا پنومونیه به عنوان عامل خطر برای آترواسکلروز مطرح شده است. هدف از این مطالعه بررسی ارتباط عفونت هلیکوباکتر پیلوری 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 انورت و بیوپسی عروق توراسیک داخلی پردازش شدند و سپس واکنش زنجیره‌ای پلیمرز 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 و آزمون دقیق فیشر صورت گرفت.

نتایج: DNA هلیکوباکتر پیلوری در ۴۷٪ نمونه‌های پلاک آترواسکلروتیک و ۳٪ بیوپسی‌های توراسیک شناسایی شد. میزان کسترویل در افراد دارای DNA هلیکوباکتر پیلوری نسبت به افراد فاقد آن، ارتباط آماری معنی‌داری را نشان داد ($P < 0.05$).

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

کلیدواژه‌ها: آترواسکلروزیس - هلیکوباکتر پیلوری - PCR

نویسنده مسئول:

دکتر امید آثار

معاونت پژوهشی دانشگاه علوم

پزشکی هرمزگان

بندرعباس - ایران

تلفن: +۹۸ ۷۱۱ ۳۳۳۷۹۲

پست الکترونیکی:

omidassasr@aim.com

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

مقدمه:

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 هلیکوباکتر پیلوری و کلامیدیا پنومونیه و ویروس‌هایی مانند سیتومگالوویروس و هرپس ویروس در ایجاد آترواسکلروز مورد توجه می‌باشد (۴).

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

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

آترواسکلروز نمی‌شوند به عنوان گروه کنترل) مورد بررسی قرار گرفتند.

افراد دارای فشار خون $mmHg$ $140/90$ یا بالاتر و کسانی که داروهای ضد فشارخون مصرف می‌کردند به عنوان بیمار دارای فشارخون طبقه‌بندی شدند (۱۲). افراد دارای FBS بالاتر از 126 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 200 میلی‌گرم درصد و LDL بالاتر از 130 میلی‌گرم درصد به عنوان هیپرکلسترولمی و چاقی، شاخص توده بدنی بیشتر از 30 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 1% درصد مورد ارزیابی قرار گرفت و با روش اسپکتروفتومتری در تعیین خلوص DNA، نتایج حاصل از ژل آگاروز تایید شد.

روش PCR:

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 2 میکرولیتر DNA استخراج شده از پلاک آترواسکلروتیک و یا بیوپسی عروق توراسیک داخلی (نمونه کنترل) با $1/5$ میکرولیتر $MgCl_2$ (50 میلی‌مولار)، $2/5$ میکرولیتر $10x$ Buffer، 1 میکرولیتر از هر پرایمر $0.1/10$ میکرولیتر dNTP (10 میلی‌مولار) و $0.25/25$ میکرولیتر آنزیم super Taq پلیمرز ($ou/\mu l$) و

معه و آدنوکارسینوم معده می‌باشد (۵). تحقیقات زیادی نقش هلیکوباکتر پیلوری 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).

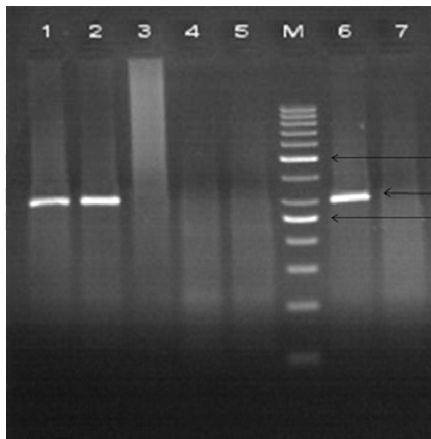
با توجه به شیوع بالای بیماری‌های قلبی عروقی و مرگ و میر ناشی از آنها و وجود تناقض در مورد رابطه عفونت هلیکوباکتر پیلوری و بیماری آترواسکلروز، در این مطالعه ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و آترواسکلروزیس، همچنین ارتباط بین این فاکتور عفونی با دیگر عوامل خطر قلبی و عروقی بررسی شد تا در صورت اثبات ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری 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 85 بیمار مبتلا به بیماری عروق کرونر از آبان ماه 1389 تا خرداد ماه 1390 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 فالكون حاوی $5cc$ محلول Tris-EDTA با $PH=8$ قرار گرفت و در فریزر -70 درجه سانتی‌گراد تا زمان استخراج DNA نگهداری شد. 85 نمونه پلاک آترواسکلروتیک (به عنوان گروه هدف) و همچنین 85 بیوپسی عروق توراسیک داخلی (به علت اینکه دچار

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 هلیکوباکتر پیلوری 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 باکتر پیلوری نسبت به افرادی که فاقد DNA هلیکوباکتر پیلوری بودند افزایش کلاسترول 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 و ۲ نمونه‌های مثبت، ردیف ۳ تا ۷ نمونه‌های منفی، M سایز مارکر ۵۰ bp، ردیف ۶ کنترل مثبت، ردیف ۷ کنترل منفی

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

PCR با استفاده از دستگاه (mycycler Gradient BioRad) با شرایط ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل با دمای دناتوره ۹۴ 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 ۲۹۴ 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 $P \leq 0/05$ در نظر گرفته شد.

نتایج:

از ۸۵ بیمار ۴۳ نفر زن (۵۰/۶) و ۴۲ نفر مرد (۴۹/۴) بودند. متوسط سن بیماران ۶۱ سال و دامنه تغییرات سنی آنها ۴۲ تا ۸۲ سال بود.

تمامی نمونه‌ها از نظر وجود DNA هلیکوباکتر پیلوری مورد بررسی قرار گرفتند. DNA هلیکوباکتر پیلوری با روش PCR در ۴ 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

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

P-value	هلیکوباکتر پیلوری در بلاک آترواسکلروتیک		هلیکوباکتر پیلوری در عروق توراسیک داخلی		متغیرها
	مثبت (تعداد ۴ نفر)	منفی (تعداد ۸۱ نفر)	مثبت (تعداد ۳ نفر)	منفی (تعداد ۸۲ نفر)	
	۶۰/۷±۴/۶	۶۱/۳±۹/۷	۵۷/۷±۵/۲	۶۱/۴±۹/۵	سن (میانگین±انحراف معیار)
۱	(۵۰) ۲	(۵۰/۶) ۴۱	(۳۲/۳) ۱	(۵۱/۲) ۴۲	جنس
	(۵۰) ۲	(۴۹/۴) ۴۰	(۶۶/۷) ۲	(۴۸/۸) ۴۰	مرد
۰/۰۸	(۰) ۰	(۴۵/۷) ۳۷	(۰) ۰	(۴۱/۵) ۳۴	استعمال دخانیات
۰/۶۳	(۲۵) ۱	(۳۹/۵) ۳۲	(۳۲/۳) ۱	(۳۹) ۳۲	دیابت
۰/۶۲	(۲۵) ۱	(۴۸/۱) ۳۹	(۱۰۰) ۳	(۴۵/۱) ۳۷	فشارخون
۰/۰۳	(۷۵) ۳	(۱۸/۵) ۱۵	(۰) ۰	(۲۲) ۱۸	هیپرکلسترولمی
۰/۳۶	(۴) ۰	(۴/۹) ۴	(۳۲/۳) ۱	(۳/۷) ۳	چاقی
۱	(۷۵) ۱	(۲۲/۲) ۱۸	(۰) ۰	(۸۰/۵) ۶۶	سابقه خانوادگی

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، می‌توان 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 هلیکوباکتر پیلوری در ۴/۷٪ نمونه‌های پلاک آترواسکلروتیک و ۳/۵٪ بیوپسی‌های عروق توراکیک داخلی شناسایی گردید و اختلاف معنی‌داری بین این دو نمونه یافت نشد، بنابراین نمی‌توان عفونت با هلیکوباکتر پیلوری را در کنار دیگر عوامل زمینه ساز آترواسکلروزیس از جمله دیابت، فشارخون، هیپرکلسترولمی و ... قرار داد.

تحقیقات زیادی نقش هلیکوباکتر پیلوری 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 (استرالیا، ۲۰۰۶)، Dore (ایتالیا، ۲۰۰۳) Kaklikkaya (ترکیه، ۲۰۰۶) و Peter W.Radke (آلمان، ۲۰۰۰) قادر به شناسایی ژنوم هلیکوباکتر پیلوری در پلاک آترواسکلروز نبودند (۲۳-۱۹). در حالی که تعداد کمی از مطالعات از جمله Iriz (ترکیه، ۲۰۰۸)، Sepastian (آرژانتین، ۲۰۰۱)، Kaplan (ترکیه، ۲۰۰۶)، Kowalski (آلمان، ۲۰۰۱) برخلاف مطالعه ما، ارتباط معنی‌داری بین حضور هلیکوباکتر پیلوری و بیماریهای قلبی عروقی

مشاهده کردند و شیوع بالاتر هلیکوباکتر پیلوری را نسبت به مطالعه ما گزارش نمودند (۲۷-۲۴).

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 تأیید کرد.

در مطالعه کاپلان و همکاران در سال ۲۰۰۶ نقش هلیکوباکتر پیلوری در پاتوژنز آترواسکلروزیس اثبات شد اما ارتباط معنی‌داری بین عوامل خطر قلبی و عروقی با این ارگانسیم یافت نشد (۲۶).

در مطالعه اسلامی و همکاران در سال ۱۳۸۲ نتیجه گرفته شد هلیکوباکتر پیلوری در توسعه آترواسکلروزیس نقش دارد و وجود این ارگانسیم 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 هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد آترواسکلروزیس و ارتباط این ارگانسیم با کاهش سطح HDL (لیپوپروتئین با چگالی بالا) در سرم خون افراد بررسی شده تأیید 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 هلیکوباکتر پیلوری 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 هلیکوباکتر پیلوری در جای به خصوصی در بافت‌ها 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 (۳۱، ۱۹). دلایل دیگر می‌تواند در نتیجه استفاده از روشهای مختلف برای شناسایی عفونت و یا حتی وارد کردن جمعیت‌های مختلف در

مشابه با روشهای دیگر مانند nested PCR و real-PCR time و بررسی آنتی ژن های اختصاصی تر 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.

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

از محدودیت های مطالعه حاضر، به علت شناسایی DNA هلیکوباکترپیلوری با ناحیه ژنی UreC و انجام PCR یک مرحله ای قادر به شناسایی مقادیر کم DNA این باکتری و خنثی کردن اثر بازدارنده های PCR در نمونه های بالینی نبودیم.

در مطالعه حاضر، ارتباط معنی داری بین عفونت هلیکوباکترپیلوری با آترواسکروز بدست نیامد و نقش عفونت هلیکوباکترپیلوری به عنوان یک عامل خطر برای آترواسکروزیس رد شد. پیشنهاد می گردد جهت اثبات ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و آترواسکروزیس مطالعاتی

Archiv

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 Sciencnes.* 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, Yildirim 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, Haghghat 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 Biolymsst.* 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 *Chlamydia pneumonia* but Not *Helicobacter pylori* DNA in Atherosclerosis Plaques. *Digst 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, Koksall 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 plaquesF. Dehghan, MSc¹ O. Asar, MD² A. Nejatizadeh, PhD³ M. Kargar, PhD⁴

MSc Student of Microbiology¹, Associate Professor Department of Microbiology⁴, Islamic Azad University Jahrom Branch, Jahrom, Iran. Assistant Professor Department of Surgery, Cardiovascular Research Center², Assistant Professor Department of Biotechnology & Genetics, Research Center for Molecular Medicine³, 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 microorganisms 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.

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

*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*