مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۷، شماره۲، خرداد و تیر ۱۳۹۱(شماره پی در پی ۶۸)

تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری بر تغییرات سلول‌های پاریتال در معده موش صحرایی

فاطمه آئینی[۱]، محمدجعفر رضایی[۲*]، یوسف مطهری‌نیا[۳]، محمدعلی رضایی[۴]

[۱] دانشگاه آزاد اسلامی‌زنجان، دانشکده پزشکی، گروه میکروب شناسی، [۲]دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی،[۳]دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی،گروه میکروب شناسی، [۴]دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه ایمنی‌شناسی

تاریخ دریافت : ۱۳۹۰/۹/۱٤ تاریخ پذیرش:۱۳۹۰/۱۲/۱۵

چکیده

زمینه و هدف: سلول‌های پاریتال نقش مهمی‌در تولید اسید و عملکرد بافت معده دارند. کلونیزه شدن هلیکوباکترپیلوری در معده می‌تواند بر عملکرد این سلول‌ها مؤثر باشد. هدف از این مطالعه بررسی تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری بر تغییرات سلول‌های پاریتال در معده موش صحرایی بود.

روش‌بررسی: در این مطالعه تجربی ۱۰ سر موش صحرایی به صورت تصادفی در ۲ گروه مساوی آزمایش و کنترل قرار گرفتند. به مدت ۲۰ هفته گروه آزمایش و کنترل به ترتیب؛ هلیکوباکترپیلوری و PBS را از طریق گاواژ دریافت کردند. پس از این زمان، کلونیزاسیون باکتری و تغییرات سلول‌های پاریتال بافت معده با روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی و هم‌چنین آپوپتوزیس این سلول‌ها با روش TUNEL بررسی شد.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که طی ۲۰ هفته پس از گاواژ کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری صورت گرفت. کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری سبب ایجاد تغییرات تخریبی و ساختاری در سلول‌های پاریتال معده شد. تغییرات تخریبی سلول‌های پاریتال و الگوی DNA Laddering سلول‌های پاریتال تأیید شدند.

نتیجه‌گیری: هلیکوباکتر پیلوری در طی بیست هفته سبب ایجاد تغییرات ساختاری و تخریبی در سلول‌های پاریتال معده موش صحرایی شده است و نوع مرگ سلولی ایجاد شده می تواند آپوپتوزیس باشد.

واژه‌های کلیدی: هلیکوباکترپیلوری، سلول پاریتال، موش صحرایی

نویسنده مسئول: دکتر محمد جعفر رضایی، سنندج، دانشگاه علوم پزشکی کردستان، دانشکده پزشکی، گروه آناتومی
Email:rezaiemj@muk.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

سرطان معده از عوامل مرگ و میر در سراسر جهان محسوب شده و یکی از شایع‌ترین سرطان‌ها در جهان می‌باشد(۲و۱). گزارش‌ها نشان داده است که سرطان معده در ایران نسبت به کشور های غربی چند برابر بیشتر است(۱)، عوامل بسیاری در سرطان معده نقش دارند که یکی از مهم‌ترین این عوامل نقش هلیکوباکتر پیلوری در ایجاد سرطان معده می‌باشد(۴-۱). هلیکوباکتر پیلوری یک باسیل مارپیچی شکل گرم منفی و میکروآئروفیلیک است که در معده اکثر افراد جامعه وجود دارد. این باکتری بیشتر از نصف جمعیت دنیا را آلوده نموده و عامل بیماری‌های گوارشی هم چون زخم معده، التهاب مزمن معده و سوء هاضمه است که در ۱۰ درصد جمعیت آلوده به این باکتری رخ می‌دهد(۱). در طول بیست سال اخیر شواهدی مبنی بر نقش این باکتری در ایجاد سرطان معده به دست آمده است، به همین دلیل در سال ۱۹۹۴ سازمان جهانی بهداشت هلیکوباکتر پیلوری را در ردیف اول عوامل سرطان‌زا معرفی کرد و گزارش شد که بیش از ۶۳ درصد از سرطان‌های معده و در حدود ۸۰ درصد زخم های دئودنوم و زخم معده به وسیلهٔ این باکتری ایجاد می‌شود(۵). در کشورهای در حال توسعه مانند ایران میزان عفونت به این باکتری بسیار بالا می‌باشد، چنان که در بعضی از مناطق ۹۰ درصد جمعیت بالغ را در بر می‌گیرد(۸-۵). از طرفی دیگر هلیکوباکتر پیلوری باعث تغییرات تخریبی بافت معده می‌شود(۱۰ و۹).

بر اساس مطالعه‌های انجام شده کلونیزاسیون باکتری در محیط اسیدی معده انجام نمی‌گیرد و از سوی دیگر سلول‌های پاریتال تولید کننده اسید معده هستند. عملکرد صحیح سلول‌های پاریتال مانع از کلونیزاسیون این باکتری و عوارض ناشی از آن می‌شود(۱۲ و۱۱). بنابراین بررسی زمانی که در طی آن سلول‌های پاریتال معده دچار تغییرات تخریبی می‌شوند، اهمیت زیادی در مطالعه‌های مربوط به سرطان معده و زخم‌های معده دارد. هدف این مطالعه بررسی تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری بر تغییرات سلول‌های پاریتال در معده موش صحرایی بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی تعداد ۱۰ سر موش صحرایی ماده بالغ نژاد اسپراگ- دوالی ۸-۶ هفته‌ای در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم از مؤسسه رازی خریداری شدند و در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت تاریکی ۱۲ ساعت روشنایی و با شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتی گراد در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی کردستان تا زمان آزمایش نگهداری شدند. موش‌ها به طور تصادفی به دو گروه مساوی کنترل و آزمایش تقسیم شدند و در قفس‌های کوچک حاوی آب و مواد غذایی اتوکلاو شده نگهداری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

پروتکل این تحقیق بر اساس قوانین بین‌المللی در مورد حیوانات آزمایشگاهی انجام شد و در کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی کردستان به تصویب رسید.

سویه هلیکوباکتر پیلوری دارای CagA و VacA مثبت از مرکز انستیتو پاستور تهران تهیه شد. سویه هلیکوباکتر پیلوری مورد نظر را روی پلیت‌های بروسلا آگار حاوی ۷ـ۵ درصد خون گوسفندی و آنتی‌بیوتیک‌های مربوطه کشت داده و تحت شرایط میکروآئروفیل در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ـ۵ روز انکوبه شدند(۱۳).

از کشت تازه هلیکوباکتر پیلوری رشد نموده بر روی محیط بروسلا آگار دارای ۵ درصد خون گوسفندی برای تهیه ی سوسپانسیونی به میزان 1×10^{9} CFU[1] در بافر PBS[2] استفاده گردید. ۰/۱ میلی‌لیتر از این سوسپانسیون برای گاواژ به معده موش صحرایی در نظر گرفته شد(۱۴ و۱۳).

به موش‌های صحرایی گروه آزمایش، ۰/۱ میلی‌لیتر از سوسپانسیون هلیکوباکتر پیلوری سه بار در روز، یک روز در میان برای مدت ۲۰ هفته گاواژ شد. گروه کنترل نیز با همین روش با محلول PBS گاواژ شدند(۱۴ و۱۳). بعد از بیست هفته از انجام آزمایش، موش‌ها با استفاده از اتر بیهوش شدند و سپس تحت شرایط بی‌هوشی از معده موش‌های صحرایی کنترل و آزمایش برای انجام آزمایش‌های بعدی نمونه‌برداری شد.

برای تأیید عفونت موش‌های گروه آزمایش با هلیکوباکتر پیلوری، حدود ۳ میلی‌متر مکعب از انحنای بزرگ‌تر معده برداشته شد و با استفاده از ۰/۱ مول بر لیتر بافر فسفات استریل، هموژنیزه شد. بخشی از نمونه یکنواخت شده بر روی محیط بروسلا آگار با ۵ درصد خون گوسفندی دارای آنتی‌بیوتیک‌های وانکومایسین ۲۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، نالیدیکسیک اسید ۱۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر، باکتریوسین ۳۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و آمفوتریسین B ۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر کشت داده شد و به مدت ۵ روز در شرایط کم هوازی انکوبه شدند. برای تشخیص هلیکوباکترپیلوری از رنگ‌آمیزی گرم استفاده شد. هم‌چنین جهت تأیید بیشتر، فعالیت اوره‌آزی، فعالیت کاتالازی، فعالیت اکسیدازی، مقاومت در برابر نالیدیکسیک اسید، عدم تولید SH_2 و تست اندول بررسی شدند(۱۴ و۱۳).

برای مطالعه‌های بافت‌شناسی یک برش طولی از معده در امتداد خم بزرگ معده از مری تا دوازدهه زده شد و نمونه‌ها در فرمالین ۱۰ درصد تثبیت شدند. در نهایت نمونه‌ها در برش‌های ۶ میکرومتری جهت مطالعات بافت‌شناسی تهیه شدند. اسلایدها با رنگ‌های هماتوکسیلین- ائوزین و گیمسا جهت مطالعه التهاب و وجود باکتری رنگ‌آمیزی شدند(۱۵ و۱۳).

1-Colony Forming Unit (CFU)
2-Phosphate Buffer Saline(PBS)

Archive of SID

www.SID.ir

نمونه‌های معده سریعاً با ۱ درصد گلوتار آلدئید و ۴درصد پارافرمالدئید به مدت بیش از شش ساعت در ۴ درجه سانتی‌گراد فیکس شدند. سپس در بافر کاکودیلات ۰/۱ مولار یک شبانه روز قرار داده شدند. سپس بافت‌ها در محلول ۱ درصد تترا اکسیداسمیوم قرار داده شدند و در رزین- اپون ذخیره شدند. سپس با کمک دستگاه الترا میکروتوم قطعات نیمه نازک تهیه شده و پس از انجام مرحله برش‌گیری با رنگ‌های لیدسیترات و اورانیل استات رنگ‌آمیزی صورت گرفته و سپس برش‌ها با میکروسکوپ الکترونی بررسی شدند(۱۱).

در روش TUNEL[1] نمونه‌ها در فرمالین فیکس و بعد از انکوباسیون در پروتئیناز K و PBS، بافر را دور ریخته و محلول کار TdT [2] به برش اضافه گردیده و سپس در محلول Digoxigemin peroxidase conjugated انکوبه نموده و برش‌ها با میکروسکوپ نوری بررسی شدند(۱۰).

یافته‌ها

پس از ۲۰ هفته از شروع آزمایش نمونه‌های آنتروم معده هر دو گروه در کیت سریع اوره آز در دمای اتاق به مدت ٦ ساعت قرار داده شد. در گروه آزمایش تست اوره آز مثبت شد، ولی در گروه کنترل هیچ تغییری در رنگ کیت اوره آز مشاهده نشد. فعالیت اکسیدازی و کاتالازی کلنی‌های حاصل از کشت معده گروه آزمایش مثبت بودند، همچنین بررسی مورفولوژی باکتری‌ها، رنگ‌آمیزی گرم و عدم تولید SH_2 و تست اندول منفی دلیل بر وجود هلیکوباکترپیلوری در گروه آزمایش بود، اما در گروه کنترل موارد فوق الذکر مشاهده نشد.

در گروه آزمایش، کلونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری در مخاط معده به وسیله رنگ‌آمیزی گیمسا مشاهد شد. در رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین- ائوزین شواهدی از پرخونی لایه مخاطی معده، دیس ارگانیزاسیون اپی تلیومی، واکوئلیزاسیون اپی‌تلیومی، تکثیر سلول‌های گلاندولار، ریزش سلول‌های اپی تلیومی در فضای معده، بی‌نظمی در مرز بین لامینا پروپریا و اپی‌تلیوم معده و تهاجم سلول‌های غددی به ویژه در قسمت قاعده‌ای به لامینا پروپریا و لایه عضله مخاطی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. در این بررسی‌ها همچنین ارتشاح لکوسیت‌های تک هسته‌ای و چند هسته‌ای در لایه مخاطی مشاهده شد. همچنین در گروه آزمایشی سلول‌های پاریتال تغییرات تخریبی را نشان می‌دهند که این تغییرات شامل افزایش دانسیته سیتوپلاسم و همچنین تکه تکه شدن هسته و ویژگی شبیه به اجسام آپوپتیک را نشان می‌دهند. به علاوه نتایج بیانگر این است که سلول‌های پاریتال ویژگی یک سلول آتروفی شده را نیز نشان می‌دهند. در نمونه‌های بررسی شده از موش‌های صحرایی گروه کنترل هیچ کدام از علایم فوق مشاهد نشدند و اپی تلیوم نمای طبیعی داشت.

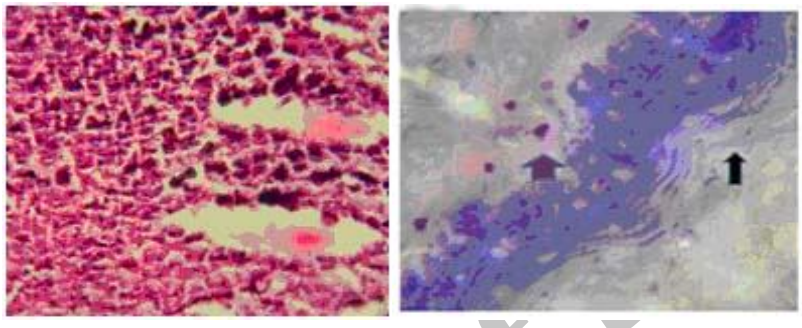
1-**T**erminal Deoxynucleotidyl Transferase d**U**TP **N**ick **E**nd **L**abeling(TUNEL)
2-**T**erminal **D**eoxynucleotidyl **T**ransferase(TdT)

Archive of SID

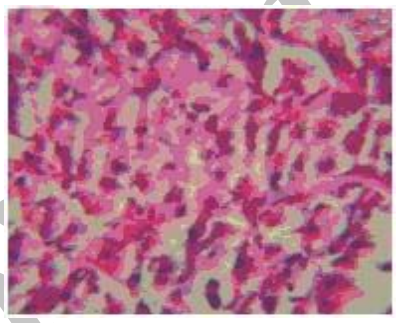
www.SID.ir

سلول‌های پاریتال در گروه‌های کنترل سیتوپلاسم اسیدوفیل و هسته مرکزی داشتند(تصویر۱).

نتایج بررسی‌ها به وسیله میکروسکوپ الکترونی نشان داد که در گروه آزمایش تغییرات تخریبی در سلول‌های پاریتال ایجاد شد. این تغییرات تخریبی در سیتوپلاسم سلول با واکوئلیزاسیون سلول مشاهده شد و ارگانل‌های سلول تخریب شده بود. این تغییرات با میکروسکوپ الکترونی قابل مشاهده است(تصویر۲). نتیجه استفاده از روش TUNEL در بررسی بافت معده ی گروه آزمایش در تصویر ۳ نشان داده شده است.

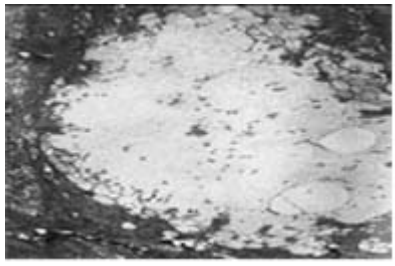


الف ب

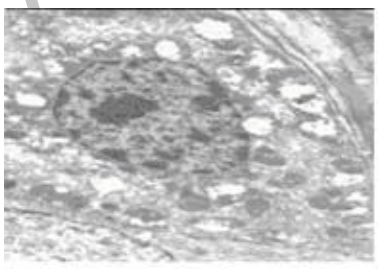


ج

تصویر ۱): الف؛ نمای بافت معده ناحیه گروه آزمایش، کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری(فلش تیره) از لایه سطحی مخاط دیده می‌شود. حضور سلول‌های مهاجر(به رنگ ارغوانی)، در زیر مخاط نشان داده شده است، ب؛ نمای هیستولوژیک ناحیه معده گروه آزمایش. واکوئلیزاسیون و دیس ارگانیزاسیون اپی تلیومی‌در لایه مخاطی دیده می‌شود، ج؛ نمونه بافت معده گروه کنترل. شکل طبیعی بافت معده مشخص می‌باشد(رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ـ ائوزین، میکروسکوپ نوری، بزرگنمایی ۴۰)



الف

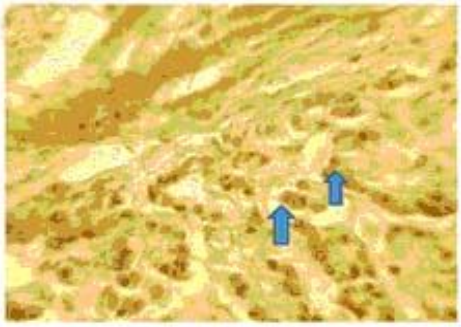


ب

تصویر ۲): الف؛ فتومیکروگراف سلول پاریتال معدی در حال تخریب در گروه آزمایش. سیتوپلاسم سلول پاریتال نمای واکوئله دارند و ارگانل‌ها قابل تشخیص نیستند ب؛ فتومیکروگراف سلول پاریتال گروه آزمایش، افزایش هتروکروماتینی هسته و واکوئله شدن ارگانل‌ها مشاهده می‌شود(رنگ‌آمیزی اورانیل استات لید سیترات، میکروسکوپ الکترونی، بزرگنمایی ۵۸۰۰).

Archive of SID

www.SID.ir



تصویر ۳): معده گروه آزمایش را نشان می‌دهد. سلول‌های TUNEL مثبت به رنگ قهوه ای مشاهده می‌شود. در این گروه تعداد سلول‌های TUNEL با پیکان مشاهده می‌شود(رنگ آمیزی ایمونوهسیتوشیمیایی TUNEL میکروسکوپ نوری، بزرگنمایی ۴۰).

بحث

با توجه به تأثیر کلونیزاسیون میکروب هلیکوباکترپیلوری بر عملکرد سلول‌های پاریتال معده(۱۲و۱۱)، هدف از این مطالعه بررسی تأثیر کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری بر تغییرات سلول‌های پاریتال در معده موش صحرایی بود.

نتایج نشان داد که در مدل موش صحرایی، عفونت هلیکوباکتر پیلوری پس از بیست هفته سبب ایجاد تغییراتی تخریبی در سلول‌های پاریتال معده می‌شود. مطالعه‌ها نشان دادند که هلیکوباکتر پیلوری نقش مهمی در تغییرات تخریبی سلول‌های اپیتلیال معده و تشکیل ضایعات، در دراز مدت دارد(۱۶و۱۵).

نکته مهم در این مطالعه تعیین ماهیت تغییرات تخریبی سلول‌های پاریتال است. مطالعات فراساختاری انجام شده شامل؛ بررسی واکوئله شدن ارگانل هایی مانند میتوکندری، شبکه اندوپلاسمی خشن و افزایش هتروکروماتینی هسته سلول‌های پاریتال است که این یافته‌ها نشان دهنده پیش‌روی سلول‌ها به سمت آپوپتوزیس می‌باشد. تکنیک TUNEL جهت تشخیص الگوی تکه تکه شدن DNA به وسیله آنزیم اندونوکلئاز به کار می‌رود. در سلول‌های TUNEL مثبت الگوی تکه تکه شدن DNA نردبانی است، این تکنیک به عنوان روش پذیرفته شده‌ای جهت تشخیص مرگ سلولی به کار می‌رود(۱۷و۱۲) .

هلیکوباکترپیلوری باعث پیشروی سلول‌ها به سمت مرگ سلولی می‌شود. در نتیجه به دلیل تخریب سلول‌های پاریتال محیط معده، شرایط اسیدی خود را از دست می‌دهد. در مطالعه‌ای که به وسیله فوکس و همکاران[1](۱۹۹۹) انجام شد، تأثیر نمک و کلونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری بر سلول‌های پاریتال در معدهٔ موش مدل C57BL/5 بررسی شدند. نتایج نشان داد که کلونیزاسیون هلیکوباکترپیلوری باعث آسیب دیدن سلول‌های پاریتال معده شده است. در مطالعهٔ حاضر نیز مشخص شد که کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در معده باعث تخریب سلول‌های پاریتال و در نتیجه کاهش اسید معده و ایجاد فرصت برای کلونیزاسیون بیشتر شده است. این محققین به ماهیت تغییرات تخریبی و نوع مرگ سلولی اشاره

1-Fox et al

Archive of SID

www.SID.ir

نکرده‌اند(۱۸). در مطالعهٔ دیگری که به وسیله بوک و همکاران[1] صورت گرفت، تأثیر تخریبی سویه‌های هلیکوباکتر فلیس وهلیکو باکتر بیزوزرونی و رژیم غذایی با نمک بالا بر سلول‌های پاریتال خوکچه بررسی شد. نتایج این مطالعه ثابت کرد، این دو سویه هلیکوباکتر، ۳ هفته پس از تلقیح به خوکچه هندی باعث تخریب سلول‌های پاریتال، در سلول‌های معده شده‌اند(۱۹)، اما به نوع و روند تغییرات تخریبی سلول‌های پاریتال اشاره‌ای نشد. در مطالعه حاضر نتایج نشان داد که تغییرات تخریبی سلول‌های پاریتال بدون وجود نمک که در مطالعه فوق به آن اشاره شده است، نیز روی می‌دهد و تا کنون در این خصوص گزارشی وجود ندارد. در مطالعه دیگری که به وسیله نئو و همکاران[2](۲۰۰۲) انجام شده است، تأثیر هلیکوباکترپیلوری بر تحریک آپوپتوزیس سلول‌های پاریتال موش صحرایی در شرایط آزمایشگاهی بررسی شده است. در این مطالعه سلول‌های پاریتال از معده موش صحرایی جدا سازی شده و پس از کشت در شرایط آزمایشگاهی در مواجهه با هلیکوباکترپیلوری قرار گرفتند. آپوپتوزیس سلول‌های پاریتال با استفاده از روش TUNEL و میکروسکوپ الکترونی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که سلول‌های پاریتال ۴ ساعت پس از مواجهه با هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی دچار آپوپتوزیس شده اند. مطالعات فراساختاری سلول‌های پاریتال متراکم شدن هسته سلول‌های پاریتال را تأیید کرد(۱۲). در مطالعهٔ حاضر نشان داده شد که الگوی مرگ سلولی، سلول‌های پاریتال از نوع آپوپتوزیس است اما به دلیل این که مطالعه فوق در محیط کشت و مطالعه حاضر در بدن موجود زنده صورت گرفته است، زمان‌های گزارش شده برای تغییرات تخریبی سلول‌های پاریتال متفاوت است .

نتیجه‌گیری

در مجموع این مطالعه نشان داد، سلول‌های پاریتال در هفتهٔ بیستم پس از گاواژ هلیکوباکتر پیلوری دچار تغییرات تخریبی و مرگ سلولس شدند و نوع مرگ سلولی آپوپتوز است. پیشنهاد می‌شود که مطالعه‌های بعدی بر روی شناسایی مکانیسم‌های درگیر در روند مرگ سلولی سلول‌های پاریتال انجام شود و همچنین عوامل مؤثر در روند مهار مرگ سلولی پس از کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری در معده مورد توجه قرار گیرد.

تقدیر وتشکر

این مطالعه در قالب طرح تحقیقاتی مصوب و با حمایت معاونت پژوهشی، گروه آناتومی، میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی کردستان انجام شد.

1-Bock et al
2-Neu et al

Archive of SID

www.SID.ir

REFERENCES:

1.Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006; 12(3): 354-62.
2.Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011; 61(2): 69.
3.Kandulski A, Selgrad M, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* infection: A clinical overview. Dig Liver Dis 2008; 40 619–26.
4.Tatematsu M, Nozaki K, Tsukamoto T. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinogenesis in animal models. Gastric Cancer 2003; (6): 1–7.
5.Wen S, Moss SF. *Helicobacter pylori* virulence factor in gastric carcinogenesis. Cancer Letters 2009; 282(1): 1-8.
6.Saberi-Firoozi M, Nejabat M. Experiences with *Helicobacter pylori* treatment in iran. IJMS 2006; 31(4): 181-185.
7.Lochhead P, El-Omar EM. *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. Best Practice & Re Clinic Gastroenterol 2007; 42(6): 281–97.
8.Kuipers EJ, Janssen MJ, de Boer WA. Good bugs and bad bugs: indications and therapies for *H. pylori* eradication. CurrOpin Pharmacol 2003;(3): 480-5.
9.Herbay AV, Rudi J. Role of apoptosis in gastric epithelial turnover. Microscopy Research and Technique 2000; 48: 303-11.
10.Targa AC, César AC, Cury PM, Silva AE. Apoptosis in different gastric lesions and gastric cancer: relationship with *Helicobacter pylori*, overexpression of p53 and aneuploidy. Genet Mol Res 2007; 6(3): 554-65.
11.Hasegawa C, Ihara T, Sugamata T. Ultrastructural evaluation of apoptosis induced by *Helicobacter pylori* infection in human gastric mucosa: novel remarks on laminapropria mucosae. Med Electron Microsc 2000; 33: 82–8.
12. Neu B, Randlkofer P, Neuhofer M, Voland P, Mayerhofer A, Gerhard M, Schepp W, Prinz C. *Helicobacter pylori* induces apoptosis of rat gastric parietal cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 2002; 283(2): 309-18.
13.Aeini F, Rezaie MJ, Ramazani R, Pouladi A, Nikkhou B. Study of Cyclooxygenase-2 expression in sprague dawley rat gastiric cancer induced by *H. pylori*. Qom Univers of Medical Sciences J 2011; 4(4): 3-9.
14.Tsukamoto T, Mizoshita T, Tatematsu M. Animal models of stomach carcinogenesis. Toxicol Pathol 2007; 35: 636–48.
15.Xia HH, Talley NJ. Apoptosis in gastric epithelium induced by *Helicobacter pylori* infection implications in gastric carcinogenesis. Gastroenterol 2001; 96(1): 16-26.
16.Nam KT, Hahm KB, Oh SY, Yeo M, Han SU, Ahn B, et al. The selective cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide prevents *Helicobacter pylori*-associated gastric cancer development in a mouse model. Clin Cancer Res 2004; 10(23): 8105-13.
17.Díaz-Ruiz C, Montaner B, Pérez-Tomás R. Prodigiosin induces cell death and morphological changes indicative of apoptosis in gastric cancer cell line HGT-1. Histol Histopathol 2001; 16: 415-21.
18.Fox JG, Dangler CA, Taylor NS, King A, Koh TJ, Wang TC. High-salt diet induces gastric epithelial hyperplasia and parietal cell loss, and enhances *Helicobacter pylori* colonization in C57BL/6 mice. Cancer Research 1999; 59: 4823–8.
19.Bock MD, Decostere A, Hellemans A, Haesebrouck F, Ducatelle R. *Helicobacter felis* and *Helicobacter bizzozeronii* induce gastric parietal cell loss in mongolian gerbils. Microbes and Infection 2006; 8: 503–10.

Archive of SID

www.SID.ir

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

The Effect of Helicobacter pylori Colonization on Parietal Cells Alteration in Rat Stomach

Aeini F[1], Rezaie MJ[2*], [3]Motaharinia Y[3], Rezaee MA[4]

[1]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Zanjan Islamic azad university, Zanjan, Iran, [2]Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, [3]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran, [4]Department of Immunology, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran

Received: 05 Dec 2011 Accepted: 05 Mar 2012

Abstract

Background & Aim: Parietal cells have an important role in the production of stomach acid and function. *Helicobacter pylori* colonization in the stomach may affect the function of these cells. The aim of this study was to evaluate the effect of *Helicobacter pylori* colonization of rat stomach parietal cells.

Methods: In this study, 10 rats in two experimental and control groups were divided. Animals were fed by *Helicobacter pylori* or PBS in the experimental and control groups respectively for 20 weeks. Afterwards, bacterial colonization and parietal cells alterations were evaluated in the stomach tissue, using different staining methods. Furthermore, apoptosis in these cells were evaluated by TUNEL method.

Results: *Helicobacter pylori* colonization in rat stomach was confirmed. In addition, degradation and ultra-structural changes of parietal cells in the experimental group was determined after 20 weeks. TUNEL staining results were indicative of parietal cells apoptosis in the experimental group.

Conclusion: This study confirmed that *Helicobacter pylori* in 20 weeks duration causes degradation and structural changes in rat stomach parietal cells and cell death could be through apoptosis.

Key words: Helicobacter pylori, Parietal cell, Rat

Archive of SID

Corresponding Author: Rezaie MJ, Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Kurdistan University of Medical Sciences, Sanandaj, Iran
Email: ***rezaiemj@muk.ac.ir***

www.SID.ir