**Medical Science Journal of Islamic Azad University Vol. 33, No. 3, Autumn 2023** **REVIEW ARTICLE**

# The association of thioredoxin novel virulence factor in highly virulent *Helicobacter pylori* and gastric cancer and the anti-biofilm effects of natural bioactive compounds

***Abdolmajid Ghasemian[1], Seyyed Khalil Shokouhi Mostafavi[2], Mahrokh Marzi[1,] Mahsa Rostami Chijan[3], Maryam Kazemi[1], Elham Zarenezhad[1]***

*[1] Noncommunicable Diseases Research Center, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran*
*[2]Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Tehran Medical Sciences, Islamic Azad University, Tehran, Iran*
*[3]Department of Persian Medicine, School of Medicine, Fasa University of Medical Sciences, Fasa, Iran*

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

## Abstract

**Background**: *Helicobacter pylori (H. pylori*) plays an indispensable role in the gastric cancer. Antibacterial and anti-biofilm effects of herbal medicines have been outlined in various studies.
**Materials and methods**: In this review study, the association of *H. pylori* with gastric cancer and antibacterial effects of herbal medicines was evaluated using previous published data. Key words included *Helicobacter pylori*, virulence factors, gastric cancer, thioredoxin-1 and herbal medicines. Searching engines included “Google”, “Google Scholar”, “PubMed”, “SCOPUS” and “Web of Science”.
**Results**: Virulence factors of the *H. pylori* alongside the host and environmental factors cause various gastric outcomes. Some of natural compounds have the potential of bactericidal effects, particularly those with multi-drug resistance and anti-biofilm effects against *H. pylori*. Antibiofilm agents have been mainly isolated from natural products, many of which are "secondary" metabolites and can be produced by microorganisms, such as phytochemicals, biosurfactants, antimicrobial peptides and microbial enzymes, etc.
**Conclusion**: This study revealed that *H. pylori* virulence factors such as recently identified thioredoxin-1 play substantial role in gastric ulcers and cancer. Herbal medicines contain various bioactive compounds which have potential antibacterial and anti-biofilm effects. Formulation of these compounds can enhance bioavailability and stability within the gastrointestinal tract.
**Keywords**: *Helicobacter pylori, Virulence, Biofilm, Natural compounds.*

**Cited as:** Ghasemian A, Shokouhi Mostafavi SKH, Marzi M, Rostami Chijan M, Kazemi M, Zarenezhad E. The association of thioredoxin novel virulence factor in highly virulent *Helicobacter pylori* and gastric cancer and the anti-biofilm effects of natural bioactive compounds. Medical Science Journal of Islamic Azad University, Tehran Medical Branch 2023; 33(3): **205-218.**

**Correspondence to:** Elham Zarenezhad
***Tel:*** *+98 9177321562*
***E-mail:*** el.zarenezhad@gmail.com
**ORCID ID:** 0000-0003-2805-1910
**Received:** 27 Jan 2023; **Accepted:** 19 Apr 2023

مجله علوم پزشکی دانشگاه آزاد اسلامی
دوره ۳۳، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۲، صفحات ۲۰۵ تا ۲۱۸

Review Article

# ارتباط فاکتور ویرولانس جدید تیوردوکسین در سویه های دارای بیماریزایی بالای هلیکوباکتر پیلوری و سرطان معده و اثرات ضد بیوفیلمی ترکیبات زیست فعال طبیعی

عبدالمجید قاسمیان[۱]، سید خلیل شکوهی مصطفوی[۲]، ماهرخ مرزی[۱]، مهسا رستمی چایجان[۳]، مریم کاظمی[۱]، الهام زارع نژاد[۱]

[۱] مرکز تحقیقات بیماریهای غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران
[۲] گروه میکروبیولوژی، دانشکده پزشکی، علوم پزشکی تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
[۳] گروه طب ایرانی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

## چکیده

**سابقه و هدف**: *هلیکوباکتر پیلوری (H. pylori) نقش مهمی در سرطان معده دارد. اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی داروهای گیاهی در مطالعات مختلف مشخص شده است که در این مطالعه مورد بررسی قرار می‌گیرد.*

**روش بررسی**: *در این مطالعه مروری، ارتباط هلیکوباکتر پیلوری با سرطان معده و اثرات ضد باکتریایی داروهای گیاهی با استفاده از داده‌های منتشر شده قبلی بررسی شد. واژگان کلیدی شامل هلیکوباکتر پیلوری، فاکتورهای حدت، سرطان معده، تیوردوکسین-۱ و داروهای گیاهی بود. موتورهای جستجو شامل «Google»، «Google Scholar»، «PubMed»، «SCOPUS» و «Web of Science» بودند.*

**یافته‌ها**: *عوامل بیماریزای هلیکوباکتر پیلوری در کنار میزبان و عوامل محیطی باعث ایجاد پیامدهای مختلف در معده می‌شوند. برخی از ترکیبات طبیعی دارای پتانسیل اثرات ضدباکتریایی هستند، به ویژه آنهایی که دارای مقاومت چند دارویی نشان داده و نیز دارای اثرات ضد بیوفیلمی علیه هلیکوباکتر پیلوری هستند. عوامل آنتی بیوفیلم عمدتاً از محصولات طبیعی جدا شده‌اند که بسیاری از آنها متابولیت‌های "ثانویه" مانند فیتوکمیکال‌ها، بیوسورفکتانت‌ها، پپتیدهای ضد میکروبی و آنزیم‌های میکروبی و غیره هستند و می‌توانند توسط میکروارگانیسم‌ها تولید شوند.*

**نتیجه‌گیری**: *در این مطالعه مشخص شد که فاکتورهای حدت هلیکوباکتر پیلوری مانند تیوردوکسین-۱ که اخیراً شناسایی شده است، نقش اساسی در زخم معده و سرطان دارد. داروهای گیاهی دارای ترکیبات فعال زیستی مختلفی هستند که اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی دارند. فرمولاسیون این ترکیبات می تواند فراهمی زیستی و پایداری در دستگاه گوارش را افزایش دهد.*

***واژگان کلیدی:*** *هلیکوباکتر پیلوری، ویرولانس، بیوفیلم، ترکیبات طبیعی.*

## مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری (*H. pylori*) نوعی باکتری گرم منفی و یکی از رایج‌ترین باکتری‌های بیماری‌زا است که تقریباً در ۵۰٪ از جمعیت بالغ در سراسر جهان کلونیزه شده است. شیوع عفونت هلیکوباکتر پیلوری در کشورها و مناطق مختلف بسیار متغیر است. به عنوان مثال، شیوع بالا در جنوب و شرق اروپا (۷۲/۱-۸۴٪/۲) مشاهده می‌شود، در مقابل میزان شیوع پایینی در ژاپن (۳۹٪/۹) و ایالات متحده (۱۷/۱٪) گزارش شده است (۱, ۲). در یک مطالعه از چین که بر روی شهروندان مسن (بالاتر از ۶۰ سال) متمرکز بود، شیوع بالایی (۸۳/۴ درصد) یافت شد (۳). ثابت شده است که عفونت مزمن با هلیکوباکتر پیلوری به شدت با چندین بیماری معده مانند گاستریت آتروفیک، بیماری زخم معده، لنفوم بافت لنفاوی مرتبط با مخاط (MALT) و سرطان

**آدرس نویسنده مسئول**: فسا، مرکز تحقیقات بیماریهای غیرواگیر، دانشگاه علوم پزشکی فسا، الهام زارع نژاد (**email**: el.zarenezhad@gmail.com)
**ORCID ID:** 0000-0003-2805-1910
**تاریخ دریافت مقاله**: ۱۴۰۱/ ۱۱/۷
**تاریخ پذیرش مقاله**: ۱۴۰۲/۱/۳۰

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

معده مرتبط است (۴). پیامدهای بیماری‌های مختلف معده توسط فعل و انفعالات پیچیده بین حدت باکتریایی، ژنتیک میزبان، میکروبیوم معده و عوامل محیطی ایجاد می‌شود. شناسایی نقش بیماریزایی فاکتورهای حدت هلیکوباکتر پیلوری به توسعه واکسن‌های جدید و درمان‌های جایگزین خواهد انجامید (۵، ۶). فاکتورهای ویرولانس مختلفی از این باکتری در پیشرفت سرطان معده و روده باریک نقش دارند. تیوردوکسین (Trx1) پروتئینی با عملکرد چندگانه و وزن مولکولی پایین است که در بدن انسان و باکتری حضور داشته و فعالیت آنتی اکسیدانی دارد. Trx شامل دو نوع Trx1,Trx2 است. در پروتئین Trx1 سایت فعال ردوکس پروتئین Cys-Gly-Pro-Cys است که پیوندهای دی سولفیدی را احیا می‌کند (دهنده هیدروژن به آنزیم آلکیل هیدروپراکسید ردوکتاز) و این سیستم در مقاومت باکتری در برابر گونه های واکنش گر اکسیژن و نیتروژن ناشی از التهاب نقش دارد. این سیستم چاپرون آرژینازی تا چندین دهه به هلیکوباکتر پیلوری کمک می‌کند تا در مخاط معده فرد باقی بماند. بیان این پروتئین در سویه‌هایی که از سرطان جدا شده‌اند بالاتر از افراد سالم بوده است (۷). پژوهش‌ها نشان داده-اند که Trx1 با اثر بر پروتئین‌های سیکلین D1 (کاهش شدید) و p21 (افزایش شدید) موجب راه‌اندازی چرخه سلولی و تقسیم سلول می‌شود. تیوردوکسین در شرایط درون تنی نیز موجب افزایش رشد سلولی و سرطان در ژربیل شده است (۸). مطالعه دیگری نشان داد که Trx1 از مسیر IL6/STAT3 موجب التهاب و پیشرفت سرطان می‌شود (۹). بنابراین Trx به عنوان یک فاکتور ویرولانس دارای اهمیت در باکتری هلیکوباکتر پیلوری مطرح است و پژوهش‌های بیشتری در مورد درک مکانیسم‌های عملکرد باکتری و مسیرهای سلولی تحت تاثیر آن که موجب پیشرفت سلول ها به سمت سرطانی شدن می‌گردد نیاز است. از طرفی، گسترش مقاومت آنتی بیوتیکی توسط این سویه‌های بیماری‌زا که به عنوان یک بحران در نظر گرفته می‌شود، موجب حرکت به سمت استفاده از روش‌های درمانی طبیعی با عوارض و هزینه‌های پایین‌تر مانند گیاهان دارویی و ترکیبات مشتق شده از آنها شده است (۱۰). ترکیبات گیاهی مختلفی در مهار باکتری یا ویرولانس فاکتورهای هلیکوباکتر پیلوری نقش داشته‌اند که بیشتر آنها در مسیرهای کنترل التهاب نیز نقش داشته و در بهبود علایم ناشی از باکتری تاثیرگذار بوده‌اند (۱۱).

## عوامل اصلی بیماریزای هلیکوباکتر پیلوری

نشانگرهای حدت هلیکوباکتر پیلوری با آسیب شناسی شدید مرتبط هستند (۱۲). هلیکوباکتر پیلوری از فاکتورهای حدت احتمالی مختلف مانند ژن A مرتبط با سیتوتوکسین (CagA)، سیتوتوکسین A واکوئل کننده (VacA) و پروتئین های غشای خارجی (OMPs)، مانند پروتئین ۱۸ غشای خارجی (Omp18)، و اتصالی آنتی ژنی گروه خونی (BabA) و اسید سیالیک (SabA) و پروتئین التهابی خارجی (OipA) و غیره (۱۳, ۱۴) استفاده می‌کند. هلیکوباکتر پیلوری با حدت بالا می‌تواند باعث ایجاد آبشاری از ضایعات پیش سرطانی معده و در نهایت منجر به سرطان معده شود.

وجود CagA به عنوان یک نشانگر حیاتی برای سویه‌های بسیار بیماری‌زای هلیکوباکتر پیلوری در نظر گرفته شده است (۱۵). CagA پس از اتصال به سلول‌های اپیتلیال به سیتوپلاسم سلول معده میزبان منتقل می‌شود (۱۶) و با بسیاری از مولکول‌های میزبان مانند SHP-2، GKN1، SIRT1 و گیرنده فاکتور رشد کبدی میزبان (۱۹-۱۷) برهمکنش می‌کند؛ بنابراین بر چسبندگی سلولی، تقسیم، آپوپتوز، تکثیر، اتوفاژی، مهاجرت و التهاب تأثیر می‌گذارد (۲۰). مطالعات برون تنی، درون تنی و اپیدمیولوژیک همگی ارتباط نزدیک CagA را با سرطان‌زایی معده ناشی از هلیکوباکتر پیلوری نشان داده‌اند (۲۱). مسیرهای سیگنالینگ مختلفی در مکانیسم‌های سرطان زایی معده ناشی از CagAهلیکوباکتر پیلوری نقش دارند.VacA یک سیتوتوکسین ایجاد کننده منفذ است که با تعامل با سلول‌های اپیتلیال معده، نقش مهمی در بیماری‌زایی پیلوری ایفا می‌کند. به عنوان یک توکسین چند منظوره، VacA به هلیکوباکتر پیلوری کمک می‌کند تا در معده کلونیزه شود، از لایه سلول‌های اپی تلیال عبور و بر سیستم ایمنی اثر گذارد. با در نظر گرفتن تنوع آللی توکسین، شکل s1 VacA نقش فزاینده‌ای در ایجاد زخم معده و سرطان معده دارد (۲۱). اهداف متمایز درون سلولی VacA شامل اندوزوم‌ها، میتوکندری‌ها، دستگاه گلژی و شبکه آندوپلاسمی است. همچنین، سلول‌های اپی‌تلیال و هم سلول‌های ایمنی، مانند سلول‌های T، سلول‌های B و ماکروفاژها، تحت تأثیر VacA (۲۲) گزارش شده‌اند. اخیراً گزارش شده که VacA در داخل سلولی، ساختاری درون سلولی ایجاد می‌کند که از باکتری‌ها در برابر درمان آنتی‌بیوتیکی محافظت می‌کند و منجر به ایجاد عفونت مجدد پس از درمان می‌شود. کانال غشایی بالقوه گیرنده میزبان گذرا، موکولیپین ۱(TRPML1)، به عنوان یک کانال کلسیمی لیزوزومی، ممکن است یک هدف درمانی برای عفونت هلیکوباکتر پیلوری باشد (۲۳). غشاهای خارجی یا OMP ها دارای انواع عملکردهای بیولوژیکی ، نه تنها در حفظ ساختار غشای خارجی و تامین حمل و نقل مواد، بلکه در ایفای نقش اساسی فرآیند اتصال به میزبان هستند (۲۴). بسیاری از OMPهای هلیکوباکتر پیلوری

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

در چسبندگی باکتری‌ها نقش دارند (۲۵). OMPهای هلیکوباکتر پیلوری همچنین در افزایش جابجایی CagA از طریق فعالیت سیستم ترشحی نوع IV نقش دارند (۲۶). OMPها به عنوان عوامل مهمی در التهاب سلولی مخاطی شدید و افزایش خطر پیامدهای بالینی مانند بیماری زخم پپتیک و سرطان معده در نظر گرفته شده‌اند (۲۷). برخی از عوامل بیماری‌زای دیگر نیز وجود دارند که در هلیکوباکتر پیلوری شناسایی شده‌اند و گزارش شده‌اند که با ایجاد بیماری‌های گوارشی مرتبط هستند (۲۸).

## ضرورت بررسی سایر فاکتورهای بیماریزایی

شیوع CagA در کشورهای آسیایی بالا است. جالب توجه اینکه مطالعات اخیر شواهدی کافی را ارائه کرده‌اند مبنی بر اینکه انتقال CagA به سلول‌های میزبان توسط زنجیره تنفسی باکتری که از $H_2$ استفاده می‌کند، تقویت می‌شود (۲۹) علاوه بر این، بیان بیش از حد سرین پروتئاز HtrAof هلیکوباکتر پیلوری نیز باعث افزایش ترشح نوع IV CagA (30) می‌شود، که نشان می‌دهد در حالی که هیچ یک از فاکتورهای حدت احتمالی هلیکوباکتر پیلوری که تا به امروز شناسایی شده‌اند، مختص بیماری نبوده‌اند. ترکیبی از عوامل حدت ممکن است پیامدهای بیماری‌های معده را افزایش دهد (۳۱). بنابراین، لازم است تحقیقاتی در مورد سایر عوامل بیماریزای بالقوه برای کشف رابطه بین آنها انجام شود. فاکتورهای بیماریزایی مختلف دیگری مانند OipA, Bab A, Sab A در گسترش سرطان معده توسط این باکتری نقش دارند و در کنار مقاومت آنتی بیوتیکی درمان باکتری را با مشکل مواجه کرده‌اند (۳۲, ۳۳).

اخیراً، توسعه روش‌های غربالگری در مقیاس بزرگ، از جمله ابزارهای پروتئومی و ترانسکریپتومیک، برای تعیین شبکه‌های پیچیده تنظیمی ژنتیکی در هلیکوباکتر پیلوری استفاده شده است. با حرکت رو به جلو، یک پایگاه داده ژنومی به راحتی قابل دسترسی و کامل از سویه های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به بیماری های مختلف گوارشی در سراسر جهان قطعا برای شناسایی این باکتری مفید خواهد بود (۳۴).

## تجزیه و تحلیل غربالگری با کارایی بالا از عوامل ویرولانس هلیکوباکتر پیلوری

انباشت اطلاعات ژنومی، همراه با پیشرفت‌ها در تکنیک‌های جداسازی و شناسایی پروتئین، شناسایی پروتئین تام بیان‌شده توسط یک ارگانیسم را امکان‌پذیر کرده و جستجو برای سویه‌های بدخیم باکتری‌های بیماری‌زا و نشانگرهای خاص بیماری را تسهیل می‌کند. در ۲۰ سال اخیر، تکنیک‌های پروتئومیکس به طور گسترده‌ای برای تحقیقات میکروبیولوژیکی برای تجزیه و تحلیل سنتز پروتئین جهانی به عنوان شاخصی از بیان ژن مورد استفاده قرار گرفته است و نگرش‌های جدیدی را ارائه می‌دهد که تحقیقات مبتنی بر ژنوم را تکمیل می‌کند (۳۵). یک رویکرد پروتئومیک داده‌های همزمان و چندوجهی را برای تجزیه و تحلیل سطوح بیان پروتئین‌های باکتریایی فراهم می‌کند. اجزای پروتئوم هلیکوباکتر پیلوری برای شناسایی ژن‌های فعال عملکردی، پروتئین‌های درون سلولی، پروتئین‌های خاص بیماری و پروتئین‌های واکنش‌گر ایمنی مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۳۸-۳۶). پروتئین‌های شناسایی‌شده در میان مطالعات مختلف متفاوت است، و این فرضیه را تأیید می‌کند که در واقع تفاوت‌هایی در پروتئین‌های بیان‌شده توسط سویه‌های مختلف هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد. مهمتر از آن، پس از شناسایی اجزای پروتئوم، ارزیابی بیشتر باید انجام شود تا ارتباط آنها با بیماری های معده مشخص شود.

## نمونه‌ای از مطالعات روی فاکتورهای حدت بالقوه هلیکوباکتر پیلوری: تیوردوکسین-۱ (thioredoxin 1)

برای بررسی پتانسیل نشانگرهای زیستی هلیکوباکتر پیلوری که نشان دهنده ناهمگنی باکتری‌ها هستند، ژانگ و همکارانش (۳۹) از الکتروفورز ژل دو بعدی برای تجزیه و تحلیل سویه-های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران مبتلا به سرطان معده، زخم معده و التهاب معده استفاده کردند. نتایج نشان داد که بیان تیوردوکسین (Trx) در هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از نمونه‌های بافت سرطان معده نسبت به گاستریت و زخم معده بیشتر بود. پروتئین Trx اولین بار توسط Laurent و همکارانش از E. coli B در سال ۱۹۶۴ (۴۰) جدا شد. این نوعی پروتئین چند منظوره با جرم مولکولی کم است و به طور گسترده در یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها یافت می‌شود (۴۱). دو ایزوفرم به نام های Trx1 و Trx2 وجود دارد. Trx1 حاوی موتیف کاتالیزوری بسیار حفاظت شده (Cys-Gly-Pro-Cys) است که پروتئین‌های اکسید شده و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را کاهش می‌دهد (۴۲). نوع سیتوزولی Trx1، که به عنوان پروتئین دی سولفید ردوکتاز سلول عمل می‌کند، خود برگشت پذیر است. ردوکس از طریق سه باقیمانده ساختاری

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

Cys تنظیم می‌شود (۴۱). در هلیکوباکتر پیلوری، Trx1 یکی از آنتی اکسیدان‌ها است (۴۳). هلیکوباکتر پیلوری Trx1 شبیه یک سیستم احیای پراکسیداز یوکاریوتی است که حاوی یک سایت فعال ردوکس Cys-Gly-Pro-Cys است و به عنوان یک آنزیم در همه فرایندها موثر است و کاهش پیوندهای دی سولفید را کاتالیز می‌کند (۴۴). مطالعات نشان داده‌اند که بیان Trx1 در هلیکوباکتر پیلوری در پاسخ به تنش‌های خارج سلولی مختلف تنظیم می‌شود که نشان می‌دهد Trx1 به عنوان یک عنصر پاسخ استرس در هلیکوباکتر پیلوری عمل می‌کند (۴۵). پروتئین نوترکیب Hp Trx1 دارای فعالیت دی سولفید ردوکتاز در شرایط آزمایشگاهی است (۴۶). به ویژه، عدم وجود یک سیستم GSH-Grx در هلیکوباکتر پیلوری، سیستم Trx را برای بقای تحت استرس اکسیداتیو ضروری می‌کند. این فرصتی برای کشتن هلیکوباکتر پیلوری با هدف قرار دادن سیستم TrxR-Trx فراهم می‌کند (۴۷).

نتایج توالی‌یابی نشان داد که Trx1 هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بافت‌های معده، دارای موتیف فعال ردوکس Cys-Gly-Pro-Cys است. جهش‌های Trx1 همگی جهش‌های بی‌معنی بودند (۴۸). بر اساس بررسی متون و تعیین توالی ژن، Trx1 *H. pylori* به عنوان یک آنتی اکسیدان مهم در هلیکوباکتر پیلوری پیشنهاد می‌شود. بیان Trx1 در بافت‌های سرطان معده و بافت‌های گاستریت آلوده به هلیکوباکتر پیلوری، و همچنین در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بافت‌های بالینی اندازه‌گیری شد. مطابق با نتایج قبلی ما از تجزیه و تحلیل پروتئوم (۳۹)، سطح بیان mRNA Trx1 در هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بافت‌های سرطان معده به طور قابل توجهی بالاتر از بافت‌های گاستریت بود. علاوه بر این، رده سلولی اپیتلیال معده GES-1 و رده سلولی سرطان معده BGC823 با هلیکوباکتر پیلوری آلوده شدند؛ بنابراین توانایی سرطان زایی هلیکوباکتر پیلوری Trx1 را بیشتر تایید کرد. در شرایط آزمایشگاهی، هلیکوباکتر پیلوری که سطوح بالای Trx1را بیان می‌کند، زنده‌مانی سلولی را کاهش داده و آپوپتوز را در GES-1 و تکثیر سلولی را در BGC823 القا می‌کند (۷). مطالعات گزارش کرده‌اند که کارسینوم معده فرآیندی چند مرحله‌ای است که به مدل Correa معروف است و از التهاب فعال و دیسپلازی تا سرطان‌زایی را شامل می‌شود (۴۹). عفونت هلیکوباکتر پیلوری ابتدا باعث آپوپتوز و واکنش التهابی در اپیتلیوم مخاط معده می‌شود (۵۰). پس از این فرآیند، سلول‌های باقی‌مانده ممکن است تحت رویدادهای جهش ژنتیکی قرار گیرند که منجر به توسعه سرطان‌زایی معده می‌شود (۵۱).

عفونت مداوم هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند منجر به تغییرات بدخیم در مخاط معده شود (۵۲). لیو و همکارانش برای روشن شدن بیشتر سرطان زایی هلیکوباکتر پیلوری که سطوح بالایی از Trx1 را بیان می‌کند، یک مدل ژربیل مغولی با استفاده از عفونت هلیکوباکتر پیلوری ایجاد کردند. در گروه عفونت *H. pylori* با Trx1 بالا، مخاط معده ضایعات زودتر و جدی‌تری را نشان داد (۸).

## ارتباط بین Trx1 و سایر آنتی اکسیدان‌های هلیکوباکتر پیلوری

به نظر می‌رسد سیستم‌های آنتی اکسیدانی هلیکوباکتر پیلوری برای کلونیزاسیون پایدار در میزبان ضروری است. به جز Trx1، بسیاری از اجزاء در سیستم‌های آنتی اکسیدانی دخیل هستند، از جمله آلکیل هیدروپراکسید ردوکتاز (AhpC) و تیول-پراکسیداز (۵۳). AhpC آنزیمی است که پراکسیدها را کاهش می‌دهد و می‌تواند از باکتری‌ها در برابر واسطه‌های نیتروژن فعال محافظت کند (۵۴). هوانگ و همکارانش تنظیم مثبت هلیکوباکتر پیلوری AhpC را پس از درمان با پراکسید هیدروژن گزارش کردند که نشان می‌دهد که AhpC ممکن است نقشی در محافظت از ارگانیسم‌ها در برابر آسیب گونه‌های اکسیژن فعال داشته باشد (۵۵). AhpC ممکن است نقش مهمی در مبارزه با پراکسیدهای اگزوژن ناشی از التهاب مزمن داشته باشد (۵۶). AhpC هلیکوباکتر پیلوری به عنوان یک نشانگر زیستی برای تظاهرات مختلف پاتولوژیک معده در نظر گرفته می‌شود (۵۵). نتیجه آنالیز پروتئومی نشان داد که AhpC در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از سه بیمار مبتلا به سرطان معده بیشتر از سه بیمار مبتلا به گاستریت بیان می‌شود (۵۷). در مدل موش عفونت هلیکوباکتر پیلوری، AhpC به عنوان یک واکسن بالقوه در برابر هلیکوباکتر پیلوری (۵۸) دیده شده است. با این حال، تفاوت آماری معنی‌داری در بیان AhpC در هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از ۱۳ بیمار مبتلا به سرطان معده، ۱۳ بیمار مبتلا به زخم معده و ۱۴ بیمار مبتلا به گاستریت پیدا نشده است (۵۹). اگرچه Trx1 می‌تواند الکترون را به H. pylori Trx1 و AhpC خالص شده با Ahp Cusing در شرایط آزمایشگاهی (۶۰) منتقل کند، هیچ رابطه-ای بین بیان Trx1 و AhpC در ایزوله‌های بالینی هلیکوباکتر پیلوری یافت نشد. برخی گزارش‌ها همچنین نشان دادند که

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

سطوح بالای AhpC چه برای رشد هلیکوباکتر پیلوری در شرایط آزمایشگاهی و چه برای کلونیزاسیون اولیه معده مورد نیاز نیست (۵۶). عملکرد AhpC مشخص نیست و رابطه بین Trx1 و AhpC باید بیشتر مورد مطالعه قرار گیرد. آرژیناز (RocF) آنزیمی در آخرین مرحله از چرخه اوره است، جایی که هیدرولیز ال-آرژنین را برای تولید-L اورنیتین و اوره کاتالیز می‌کند (۶۱). چندین گزارش نشان داده‌اند که مسیر آنزیمی هلیکوباکتر پیلوری آرژیناز برای تولید اورنیتین و اوره نیز می‌تواند به عنوان مکانیزمی برای فقدان اثر محافظتی پاسخ ایمنی و کلونیزاسیون هلیکوباکتر پیلوری با مهار تکثیر سلول‌های T و کاهش آن عمل کند (۶۲). تحقیقات بر روی بینش‌های ساختاری و عملکردی در تنظیم فعالیت آرژیناز هلیکوباکتر پیلوری، موتیفی از جمله Cys163را یافت و امکان مهندسی این موتیف را در آرژینازهای انسانی برای درمان در برابر سرطان‌ها ارائه کرد (۶۳). یک پیوند دی سولفید حیاتی برای پایداری آرژیناز هلیکوباکتر پیلوری وجود دارد که توسط Trx1تعدیل می‌شود. هلیکوباکتر پیلوری Trx1 یک چپرون آرژیناز به دلیل محل فعال آن دی تیول/دی سولفید است. هلیکوباکتر پیلوری Trx1 بازسازی آرژیناز را پس از ترجمه تحریک کرد. این ماده دارای فعالیت همراه است که آرژیناز اوره یا حرارت دناتوره شده را به حالت فعال کاتالیزوری برمی‌گرداند. فعالیت آرژیناز توسط اکثر واسطه‌های اکسیژن و نیتروژن فعال مهار می‌شود. این آسیب برای آرژیناز را می‌توان با Trx1 معکوس کرد. Trx1 و آرژیناز به هلیکوباکتر پیلوری کمک می‌کنند تا بر استرس‌های واکنشی نیتروزاتیو و اکسیداتیو فراوان غلبه کند و ماندگاری در محیط معده متخاصم را ممکن می‌سازد (۶۴). مطالعات نشان داده که بیان RocF هلیکوباکتر پیلوری در بافت‌های سرطان معده بیشتر از بافت‌های زخم پپتیک و گاستریت بود. علاوه بر این، بیان هلیکوباکتر پیلوری Trx1 و RocF یک همبستگی مثبت و خطی داشت (۵۹). این یافته‌ها نشان می‌دهد که RocF و Trx1 آنتی اکسیدان‌های مهم هلیکوباکتر پیلوری هستند. آنها نقش مهمی در بقای پاسخ‌های التهابی و گونه‌های فعال اکسیژن یا نیتروژن تولید شده در بافت‌ها دارند.

## مکانیسم مقاومت دارویی در بیوفیلم هلیکوباکتر پیلوری

در حال حاضر، مکانیسم‌های مقاومت بیوفیلم هلیکوباکتر پیلوری به طور کامل مشخص نشده است و جای قابل توجهی برای شک و شواهد وجود دارد. با این حال، با توجه به تحقیقات فعلی، آنها بیشتر مربوط به مکانیسم‌های مقاومتی هستند که در زیر توضیح داده شده است.

### حفاظت از سد EPS

EPS نقش اصلی را در مقاومت بیوفیلم هلیکوباکتر پیلوری ایفا می‌کند. از آنجایی که هدف آنتی‌بیوتیک‌ها معمولاً در داخل سلول باکتری قرار دارد و EPS در بیرونی‌ترین لایه بیوفیلم قرار دارد، EPS در اطراف باکتری قرار می‌گیرد و از تعامل مستقیم سلول‌های ایمنی بدن با باکتری‌ها جلوگیری می‌کند و نفوذ آنتی بیوتیک را کاهش می‌دهد (۶۵). علاوه بر این، از آنجا که EPS به طور کلی دارای بار منفی است و برخی از آنتی بیوتیک‌ها دارای بار مثبت هستند، جزء EPS بیوفیلم همچنین یک سد بار طبیعی را تشکیل می‌دهد که انتقال عوامل ضد میکروبی را محدود می‌کند (۶۶).

## تشکیل کوکوئید هلیکوباکتر پیلوری

دو شکل از هلیکوباکتر پیلوری زنده وجود دارد، شکل مارپیچی که بسیار قابل کشت و استعمار است و شکل کوکوئید زنده اما غیرقابل کشت (VBNC) که به شکل پایدار نیز معروف است، که حالت خفته باکتری است (۶۷). هنگامی که محیط خارجی برای رشد و تولید مثل هلیکوباکتر پیلوری نامطلوب باشد، مانند کمبود مواد مغذی، تغییر در غلظت اکسیژن یا pH و مداخله دارویی ضد میکروبی، هلیکوباکتر پیلوری بیوفیلم‌هایی را تشکیل می‌دهد و از شکل مارپیچی به شکل کوکوئیدی تبدیل می‌شود (۶۸). به طور کلی، داروهای ضد میکروبی دارای اثرات بازدارنده و ضد باکتری عالی فقط بر روی باکتری در فاز فعال خود هستند، در حالی که باکتری‌های خفته واقع در عمق بیوفیلم به سختی از بین می‌روند. لوئیس مشاهده کرد که در حالی که اکثر سلول‌های بیوفیلم به آنتی بیوتیک‌ها حساس هستند، بخش کوچکی از سلول‌های پایدار مستقل از غلظت آنتی بیوتیک زنده می‌مانند. سلول‌های محافظت شده با بیوفیلم می‌توانند دوزهای زیادی از آنتی بیوتیک‌ها و همچنین مکانیسم‌های دفاعی ایمنی را تحمل کنند (۶۹). هنگامی که غلظت آنتی بیوتیک کاهش می‌یابد، کوکوئید هلیکوباکتر پیلوری دوباره به یک مارپیچ قابل تکرار تبدیل می‌شود و بیوفیلم را دوباره پر می‌کند یا از آن پراکنده می‌شود تا یک بیوفیلم جدید تشکیل دهد.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

**جدول ۱.** عوامل طبیعی ضد بیوفیلم که عفونت هلیکوباکتر پیلوری را هدف قرار می‌دهند.

| عوامل طبیعی ضد بیوفیلم | سویه های هلیکوباکتر پیلوری | درون تنی/ برون تنی | فعالیت ضد باکتریایی | آنتی بیوتیک های سینرژیک (هم افزایی) | منابع |
|---|---|---|---|---|---|
| عصاره‌های گیاه مامیران و بهارک | هلیکوباکتر پیلوری ۸۰۶۴ | برون تنی | √ | AMX | (۸۹) |
| روغن های فرار اترکتیلودس | NCTC 11637 | برون تنی | √ | | (۹۰) |
| اولئورزین پسته اهلی | سویه های بالینی | برون تنی و درون تنی | √ | LVX | (۷۸) |
| دی هیدرو تستوسترون I | G27<br>ATCC 43504 26,695 NSH57<br>سویه های بالینی | برون تنی و درون تنی | √ | MTZ | (۷۹) |
| ارمنیا اسپیرول A | BHKS159<br>G27<br>Hp159<br>سویه های بالینی | برون تنی و درون تنی | √ | | (۸۲) |
| کورکومین | BHKS159<br>ATCC 43504 | برون تنی | | | (۹۱) |
| ۳-بروموپیرووات یا سرترالین | ATCC 51932<br>هلیکوباکتر پیلوری۸۰۶۴ | برون تنی | √ | | (۹۲) |
| پپتید ضد میکروبی کاتلسیدین | SS1<br>هلیکوباکتر پیلوری۱۰/۷۸۳ | برون تنی | √ | | (۹۳) |
| آلژینات لیاز | ATCC 43629 | برون تنی | | CLR | (۹۴) |
| ژل داخلی آلوئه ورا | هلیکوباکتر پیلوری3/2013/A<br>هلیکوباکتر پیلوری21/2011/A هلیکوباکتر پیلوری16/2012/A | برون تنی | √ | | (۸۳) |
| Amu-ru 7 | ATCC 43629<br>ATCC 43503 NCTC 11638<br>سویه های بالینی | برون تنی و درون تنی | √ | | (۸۰) |
| گل ختمی | ATCC 43504 ATCC 51932<br>سویه های بالینی | برون تنی | √ | | (۹۵) |
| رامنولیپید | SS1 | برون تنی | √ | CLR, AMX | (۹۶) |
| سدیم لوریل سولفات | SS1 | برون تنی | √ | | (۹۷) |
| لاکتوباسیلوس سالیواریوس LN12 | SS1<br>ATCC43504<br>سویه های بالینی | برون تنی | √ | CLR, AMX | (۸۷) |
| رزوراترول | ATCC 43629<br>سویه های بالینی | برون تنی | √ | LVX | (۹۸) |
| میریستین | ATCC 700824 ATCC 51932 | برون تنی | √ | CLR, AMX<br>LVX, MTZ, TET | (۸۸) |
| مشتقات برگ Casearia sylvestris | ATCC 43504 | برون تنی و درون تنی | √ | | (۸۱) |
| لاکتوباسیلوس پلانتاروم LN66 | ATCC 43504 | برون تنی | | CLR, LVX | (۹۹) |
| نیمبولاید | G27<br>26,695<br>HPAG1<br>SS1<br>J99<br>7.13<br>USU101 USU103UA1182 (ATCC 700684)<br>NCTC 11637 (ATCC 43504) | برون تنی | √ | | (۱۰۰) |
| کارواکرول و تیمول | | برون تنی | | | (۱۰۱) |
| دیوسین | هلیکوباکتر پیلوری J99 | برون تنی | √ | CLR, MTZ, LVX | (۱۰۲) |

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

## دخالت پمپ‌های جریان

پمپ جریان نوعی پروتئین ناقل چند دارویی است که بر روی غشای سلولی باکتری یافت می‌شود. پمپ داروهای ضد میکروبی را از باکتری خارج می‌کند و در نتیجه غلظت داخل سلولی داروهای ضد میکروبی را کاهش می‌دهد که باعث افزایش مقاومت دارویی می‌شود. این عامل اصلی مقاومت چند دارویی در هلیکوباکتر پیلوری است. یک مطالعه قبلی نشان داد که وقتی بیوفیلم‌ها در معرض کلاریترومایسین قرار گرفتند، در مقایسه با سلول‌های پلانکتونیک مقاومت قابل‌توجهی ایجاد کردند و بیان قابل‌توجهی از ژن‌های پمپ خروجی در این سلول‌های بیوفیلم شناسایی شد (۷۰).

## سایر مکانیسم‌های مقاومت دارویی

تحقیقات نشان داده‌اند که افزایش انتشار ژن‌های مقاومت آنتی بیوتیکی در بیوفیلم‌ها از طریق انتقال افقی ژن، ادغام عناصر مزدوج و تبدیل طبیعی منجر به مقاومت دارویی می‌شود (۷۱). جهش‌های نقطه‌ای در موقعیت‌های ۲۱۴۲ یا ۲۱۴۳ در حوزه ساختاری V از 23S rRNA در بیوفیلم‌ها منجر به ایجاد مقاومت دارویی می‌شود. هاتروبی و همکارانش دریافتند که تشکیل بیوفیلم باعث تغییراتی در پروتئین های غشای خارجی مرتبط با مقاومت آنتی بیوتیکی می‌شود و افزایش سطح پروتئیناز K می‌تواند مقاومت به کلاریترومایسین را کاهش دهد (۷۲). علاوه بر این، eDNA در بیوفیلم‌ها باعث افزایش چسبندگی میکروبی، مهار انتشار آنتی‌بیوتیک و کلات کردن کاتیون‌ها می‌شود. برخی از آنزیم های خارج سلولی موجود در بیوفیلم ممکن است اثرات هیدرولیتیکی روی آنتی بیوتیک‌ها داشته باشند (۷۳).

## عوامل ضد بیوفیلم در برابر هلیکوباکتر پیلوری

### ترکیبات طبیعی

همان طور که در جدول ۱ نشان داده شده است، اکثر عوامل آنتی بیوفیلم عمدتاً از محصولات طبیعی جدا شده‌اند که بسیاری از آنها متابولیت‌های "ثانویه" هستند و می‌توانند توسط میکروارگانیسم‌ها (۷۴) مانند فیتوکمیکال‌ها، بیوسورفکتانت‌ها، پپتیدهای ضد میکروبی و آنزیم‌های میکروبی و غیره تولید شوند (۷۵). علاوه بر این، چندین مهارکننده سنجش حد نصاب و پروبیوتیک‌ها مشخص شده‌اند که فعالیت ضد بیوفیلم را نشان می‌دهند (۷۶, ۷۷). جالب است که تمامی محصولات طبیعی جدول ۱ دارای فعالیت بیوفیلم ضد هلیکوباکتر پیلوری بوده و تقریباً تمامی آنها دارای قابلیت ضدباکتریایی نیز هستند. این محصولات طبیعی توانایی‌های ضد بیوفیلم و ضد باکتری خوبی در شرایط آزمایشگاهی دارند، در حالی که برخی از محصولات طبیعی مانند اولئورزین پستهٔ اهلی (*Pistacia vera L. oleoresin*)، دی هیدرو تستوسترون (DHT) I، Amu-ru 7 و مشتقات برگ Casearia sylvestris در برابر هلیکوباکتر پیلوری هم در شرایط درون تنی و هم برون تنی موثر هستند (۷۸-۸۱). شایان ذکر است که برخی از محصولات طبیعی آزمایش شده برای توانایی ضد بیوفیلم و ضد باکتریایی با استفاده از سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری که به یک یا چند دارو مقاوم بودند انجام شد (۷۸, ۸۲, ۸۳). این نشان می‌دهد که برخی از محصولات طبیعی پتانسیل کاهش مقاومت چند دارویی هلیکوباکتر پیلوری را دارند. شواهد از مطالعات قبلی نشان می‌دهد که درمان ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری به ترکیبی از آنتی بیوتیک‌های مختلف مانند کلاریترومایسین (CLR)، لووفلوکساسین (LVX)، آموکسی سیلین (AMX)، مترونیدازول (MTZ) و تتراسایکلین (TET) نیاز دارد (۸۴-۸۶). ترکیبی از آنتی بیوتیک‌های کلاسیک مورد استفاده با محصولات طبیعی می‌تواند به طور هم افزایی با هلیکوباکتر پیلوری مبارزه کند. Pistacia vera L. oleoresin برای سرکوب مقاومت دارویی در سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری با لووفلوکساسین همکاری می‌کند (۷۸). هنگامی که مایع رویی بدون سلول لاکتوباسیلوس سالیواریوس LN12 (CFS) در ترکیب با AMX و CLR استفاده شد، ساختار بیوفیلم برخی از سویه‌ها را بسیار موثرتر از زمانی که هر عامل به تنهایی استفاده می‌شد، مختل کرد (۸۷). Myricetin تنها محصول طبیعی بود که با هر پنج آنتی‌بیوتیک‌های ضد هلیکوباکتر پیلوری برای مختل کردن انتقال هلیکوباکتر پیلوری از شکل‌های مارپیچی به کوکوئید هم افزایی داشت (۸۸). در مقایسه، به نظر می‌رسد چندین عامل ضد بیوفیلم در ریشه کنی هلیکوباکتر پیلوری موثرتر از ترکیبی از برخی آنتی بیوتیک‌ها هستند. ارمنستان اسپیرول A (ARM1) فعالیت ضد باکتریایی قوی علیه هلیکوباکتر پیلوری (از جمله سویه‌های مقاوم به چند دارو) اعمال کرد. علاوه بر این، ترکیبی از ARM1 و امپرازول به طور موثرتری هلیکوباکتر پیلوری را در مقایسه با درمان سه گانه استاندارد در مدل موش عفونت هلیکوباکتر پیلوری مقاوم به چند دارو از بین برد (۸۲). ترکیب DHT و امپرازول همچنین اثر کشنده بهتر هلیکوباکتر پیلوری را نسبت به درمان سه گانه استاندارد نشان داد که نشان می‌دهد DHT ممکن است داروی ضد هلیکوباکتر پیلوری

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

مناسب باشد، وقتی با یک مهارکننده پمپ پروتون ترکیب شود (۷۹). از موارد فوق، نتیجه‌گیری می‌شود که محصولات طبیعی پتانسیل زیادی برای مبارزه با بیوفیلم های هلیکوباکتر پیلوری و رفع مشکل مقاومت دارویی در هلیکوباکتر پیلوری دارند.

در مطالعه‌ای اخیرا اثرات گیاهان دارویی بر ضد هلیکوباکتر پیلوری بررسی شده است. در این مطالعه بیان شده که مکانیسم اثر ترکیبات فعال زیستی مختلف مشتق شده از گیاهان دارویی (کورکومین، رسویراترول، آلیسین، الاژیک اسید) شامل مهار آنزیم های باکتری، مهار اتصال ادهزین های باکتری به سلول میزبان و مهار فاکتورهای التهابی و در نتیجه کاهش التهاب مخاط معده می باشند. همچنین عصاره گیاهان بنه، پسته، برگ چای، شیرین بیان، چای، کلم وحشی، سیر و سیاهدانه در مهار رشد باکتری موثر بوده‌اند (۱۰).

## نتیجه گیری

سرطان معده یکی از علل اصلی مرگ و میر ناشی از سرطان در سراسر جهان است. هلیکوباکتر پیلوری عامل خطر اصلی برای سرطان زایی معده است. تفاوت در ژنوتیپ‌های هلیکوباکتر پیلوری ممکن است تغییرات جغرافیایی در بروز سرطان معده و میزان عفونت هلیکوباکتر پیلوری را توجیه کند. برخی از عوامل بیماریزا مانند CagA، VacA و غیره وجود دارند که به عنوان نشانگرهای بیماریزایی هلیکوباکتر پیلوری تعریف شده‌اند. بررسی بیشتر عوامل دیگر در هلیکوباکتر پیلوری که توسعه سرطان معده را تسهیل می‌کنند، ضروری است. فناوری‌های پیشرفته به جز آنالیز پروتئومی قابل انجام است. آنتی اکسیدان‌های موجود در هلیکوباکتر پیلوری نیز با سرطان معده مرتبط هستند. عفونت هلیکوباکتر پیلوری می‌تواند پاسخ‌های التهابی و به دنبال آن گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن و آسیب DNA در بافت‌ها را القا کند. آنتی اکسیدان‌ها می‌توانند به هلیکوباکتر پیلوری برای زنده ماندن در این شرایط کمک کنند که پس از کلونیزه شدن باکتری در مخاط معده به طور مزمن موجب التهاب مخاطی، زخم و سرطان معده شوند. تاکنون هیچ واکسنی برای عفونت هلیکوباکتر پیلوری ارائه نشده است. پژوهش‌های بیشتر در مورد عوامل بیماری‌زای اصلی باکتری اطلاعات کافی را برای ساخت واکسن ارائه خواهد داد. مطالعات بیشتری باید برای بررسی فاکتورهای حدت هلیکوباکتر پیلوری و مکانیسم‌های بیماری‌زایی در عفونت هلیکوباکتر پیلوری انجام شود. از طرفی، با توجه به گسترش روز افزون مقاومت آنتی بیوتیکی توسط سویه‌های بیماری زا، توسعه روش‌های درمانی کمکی مانند گیاهان دارویی حائز اهمیت است. برخی ترکیبات زیست فعال گیاهی اثرات ضد باکتریایی و ضد بیوفیلمی را بر ضد این باکتری نشان داده‌اند. ترکیبات فعال زیستی مختلفی که در گیاهان دارویی وجود دارند، به نسبت‌های مختلف موجب اثر گذاری می‌شوند. بنابراین، فرموله کردن این ترکیبات برای حفظ پایداری، افزایش دسترسی زیستی و افزایش کارایی در محیط گوارشی کمک کننده خواهد بود.

## تقدیر و تشکر

این پژوهش توسط مرکز تحقیقات بیماریهای غیر واگیر دانشگاه علوم پزشکی فسا پشتیبانی شد.

## *REFERENCES*

1. Mentis A, Lehours P, Mégraud F. Epidemiology and Diagnosis of Helicobacter pylori infection. Helicobacter 2015;20:1-7.

2.Calvet X, Ramírez Lázaro MJ, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis and Epidemiology of Helicobacter pylori Infection. Helicobacter 2013;18:5-11.

3.Zhang M, Zhou Y-Z, Li X-Y, Tang Z, Zhu H-M, Yang Y, et al. Seroepidemiology of Helicobacter pylori infection in elderly people in the Beijing region, China. World J Gastroenterol 2014;20:3635.

4.Valenzuela MA, Canales J, Corvalán AH, Quest AF. Helicobacter pylori-induced inflammation and epigenetic changes during gastric carcinogenesis. World J Gastroenterol 2015;21:12742.

5.Eslami M, Yousefi B, Kokhaei P, Arabkari V, Ghasemian A. Current information on the association of Helicobacter pylori with autophagy and gastric cancer. J Cell Physiol 2019;234:14800-11.

6.Yousefi B, Eslami M, Kokhaei P, Valizadeh S, Ghasemian A. Role of autophagy associated with Helicobacter pylori CagA and VacA toxins in gastric cancer. Koomesh 2019;21.

7.Shi Y, Liu L, Zhang T, Shen L, Liu L, Zhang J, et al. The involvement of Helicobacter pylori thioredoxin-1 in gastric carcinogenesis. J Med Microbiol 2013;62:1226-34.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

8.Liu L-n, Ding S-g, Shi Y-y, Zhang H-j, Zhang J, Zhang C. Helicobacter pylori with high thioredoxin-1 expression promotes stomach carcinogenesis in Mongolian gerbils. Clin Res Hepatol Gastroenterol 2016;40:480-6.

9.Guo Y, Ding S. Helicobacter pylori Thioredoxin1 May Play a Highly Pathogenic Role via the IL6/STAT3 Pathway. Gastroenterol Res Pract 2022;2022.

10.Sathianarayanan S, Ammanath AV, Biswas R, B A, Sukumaran S, Venkidasamy B. A new approach against Helicobacter pylori using plants and its constituents: A review study. Microb Pathog 2022;168:105594.

11.Ghasemian A, Fattahi A, Shokouhi Mostafavi SK, Almarzoqi AH, Memariani M, Ben Braiek O, et al. Herbal medicine as an auspicious therapeutic approach for the eradication of Helicobacter pylori infection: A concise review. J Cell Physiol 2019;234:16847-60.

12.da Costa DM, dos Santos Pereira E, Rabenhorst SHB. What exists beyond cagA and vacA? Helicobacter pylori genes in gastric diseases. World J Gastroenterol 2015;21:10563.

13.Al-Maleki AR, Loke MF, Lui SY, Ramli NSK, Khosravi Y, Ng CG, et al. Helicobacter pylori outer inflammatory protein A (O ip A) suppresses apoptosis of AGS gastric cells in vitro. Cell Microbiol 2017;19:e12771.

14.Thi Huyen Trang T, Thanh Binh T, Yamaoka Y. Relationship between vacA types and development of gastroduodenal diseases. Toxins 2016;8:182.

15.Hatakeyama M. Helicobacter pylori CagA and gastric cancer: a paradigm for hit-and-run carcinogenesis. Cell Host Microbe 2014;15:306-16.

16.Odenbreit S, Püls Jr, Sedlmaier B, Gerland E, Fischer W, Haas R. Translocation of Helicobacter pylori CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science 2000;287:1497-500.

17.Yoon JH, Seo HS, Choi SS, Chae HS, Choi WS, Kim O, et al. Gastrokine 1 inhibits the carcinogenic potentials of Helicobacter pylori CagA. Carcinogenesis 2014;35:2619-29.

18.Shi Y, Yang Z, Zhang T, Shen L, Li Y, Ding S. SIRT1-targeted miR-543 autophagy inhibition and epithelial–mesenchymal transition promotion in Helicobacter pylori CagA-associated gastric cancer. Cell Death Dis 2019;10:1-14.

19.Guo Y, Zhang T, Shi Y, Zhang J, Li M, Lu F, et al. Helicobacter pylori inhibits GKN1 expression via the CagA/p-ERK/AUF1 pathway. Helicobacter 2020;25:e12665.

20.Mimuro H, Suzuki T, Nagai S, Rieder G, Suzuki M, Nagai T, et al. Helicobacter pylori dampens gut epithelial self-renewal by inhibiting apoptosis, a bacterial strategy to enhance colonization of the stomach. Cell Host Microbe 2007;2:250-63.

21.Takahashi-Kanemitsu A, Knight CT, Hatakeyama M. Molecular anatomy and pathogenic actions of Helicobacter pylori CagA that underpin gastric carcinogenesis. Cell Mol Immunol 2020;17:50-63.

22.Chauhan N, Tay ACY, Marshall BJ, Jain U. Helicobacter pylori VacA, a distinct toxin exerts diverse functionalities in numerous cells: An overview. Helicobacter 2019;24:e12544.

23.Capurro MI, Greenfield LK, Prashar A, Xia S, Abdullah M, Wong H, et al. VacA generates a protective intracellular reservoir for Helicobacter pylori that is eliminated by activation of the lysosomal calcium channel TRPML1. Nature Microbiol 2019;4:1411-23.

24.Egan AJ. Bacterial outer membrane constriction. Mol Microbiol 2018;107:676-87.

25.Xu C, Soyfoo DM, Wu Y, Xu S. Virulence of Helicobacter pylori outer membrane proteins: an updated review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2020;39:1821-30.

26.Matsuo Y, Kido Y, Yamaoka Y. Helicobacter pylori outer membrane protein-related pathogenesis. Toxins 2017;9:101.

27.Bugaytsova JA, Björnham O, Chernov YA, Gideonsson P, Henriksson S, Mendez M, et al. Helicobacter pylori adapts to chronic infection and gastric disease via pH-responsive BabA-mediated adherence. Cell Host Microbe 2017;21:376-89.

28.Chang W-L, Yeh Y-C, Sheu B-S. The impacts of H. pylori virulence factors on the development of gastroduodenal diseases. J Biomed Sci 2018;25:1-9.

29.Wang G, Romero-Gallo J, Benoit SL, Piazuelo MB, Dominguez RL, Morgan DR, et al. Hydrogen metabolism in Helicobacter pylori plays a role in gastric carcinogenesis through facilitating CagA translocation. MBio 2016;7:e01022-16.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

30.Harrer A, Boehm M, Backert S, Tegtmeyer N. Overexpression of serine protease HtrA enhances disruption of adherens junctions, paracellular transmigration and type IV secretion of CagA by Helicobacter pylori. Gut Pathog 2017;9:1-12.

31.Miftahussurur M, Yamaoka Y, Graham DY. Helicobacter pylori as an oncogenic pathogen, revisited. Expert Rev Mol Med 2017;19:e4.

32.Sharndama HC, Mba IE. Helicobacter pylori: an up-to-date overview on the virulence and pathogenesis mechanisms. Braz J Microbiol 2022;53:33-50.

33.Salvatori S, Marafini I, Laudisi F, Monteleone G, Stolfi C. Helicobacter pylori and Gastric Cancer: Pathogenetic Mechanisms. Int J Mol Sci 2023;24.

34.Kao C-Y, Sheu B-S, Wu J-J. Helicobacter pylori infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. Biomed J 2016;39:14-23.

35.Jeske R, Reininger D, Turgu B, Brauer A, Harmel C, Fernández de Larrea-Baz N, et al. Development of Helicobacter pylori Whole-Proteome Arrays and Identification of Serologic Biomarkers for Noncardia Gastric Cancer in the MCC-Spain Study. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2020;29:2235-42.

36.Liu L, Zhang J, Ding S, Zhong LJ, Li G, Shi Y, et al. A comparison of proteomic analysis of Helicobacter pylori in patients with gastritis and gastric cancer between areas of high and low incidence of gastric cancer. Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2011;43:827-32. [In Chinese]

37.Song L, Song M, Rabkin CS, Williams S, Chung Y, Van Duine J, et al. Helicobacter pylori immunoproteomic profiles in gastric cancer. J Proteome Res 2020;20:409-19.

38.Snider CA, Voss BJ, McDonald WH, Cover TL. Growth phase-dependent composition of the Helicobacter pylori exoproteome. J Proteomics 2016;130:94-107.

39.Zhang J, Ding S, Zhong L, Lin S, Yang B, Peng J, et al. Difference analysis on proteome of Helicobacter pylori in patients with peptic ulcer, gastritis, and gastric cancer. Zhonghua yi xue za zhi 2006;86:2690-4.

40.Laurent TC, Moore EC, Reichard P. Enzymatic synthesis of deoxyribonucleotides: IV. Isolation and characterization of thioredoxin, the hydrogen donor from Escherichia coli B. J Biol Chemistry 1964;239:3436-44.

41.Holmgren A, Lu J. Thioredoxin and thioredoxin reductase: current research with special reference to human disease. Biochem Biophys Res Commun 2010;396:120-4.

42.Dunn LL, Buckle AM, Cooke JP, Ng MK. The emerging role of the thioredoxin system in angiogenesis. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2010;30:2089-98.

43.Comtois SL, Gidley MD, Kelly DJ. Role of the thioredoxin system and the thiol-peroxidases Tpx and Bcp in mediating resistance to oxidative and nitrosative stress in Helicobacter pylori. Microbiology 2003;149:121-9.

44.Alamuri P, Maier RJ. Methionine sulfoxide reductase in Helicobacter pylori: interaction with methionine-rich proteins and stress-induced expression. J Bacteriol 2006;188:5839-50.

45.Kuhns LG, Wang G, Maier RJ. Comparative roles of the two Helicobacter pylori thioredoxins in preventing macromolecule damage. Infect Immun 2015;83:2935-43.

46.Shi Y, Ding S, Zhang T, Lu F, Zhang J, Wang Y. Cloning of the Helicobacter pylori thioredoxin-1 gene and characterization. Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2014;46:190-4.

47.Lu J, Holmgren A. The thioredoxin antioxidant system. Free Radical Biol Med 2014;66:75-87.

48.Shi Y, Ding S, Lu F, Zhang J, Chen X, Liu L, et al. Sequence analysis of two different subtypes of thioredoxin gene of Helicobacter pylori. Zhonghua yi xue za zhi. 2010;90:2830-3.

49.Correa P. Helicobacter pylori and gastric carcinogenesis. Am J Surg Pathol 1995;19:S37-43.

50.Okano K, Ivey K, Sugimoto T, Hata Y, Ota S, Terano A, et al. Stimulation of prostaglandin E2 release from cultured rabbit gastric cells by sodium deoxycholate. Prostaglandins 1994;47:423-36.

51.David S, Meltzer SJ. Stomach–genetic and epigenetic alterations of preneoplastic and neoplastic lesions. Cancer Biomark 2011;9:493-507.

52.Zhao J, Wen S, Wang X, Zhang Z. Helicobacter pylori modulates cyclooxygenase-2 and 15-hydroxy prostaglandin dehydrogenase in gastric cancer. Oncol Lett 2017;14:5519-25.

53.Wang G, Alamuri P, Maier RJ. The diverse antioxidant systems of Helicobacter pylori. Mol Microbiol 2006;61:847-60.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]

[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

54.Chen L, Xie Q-w, Nathan C. Alkyl hydroperoxide reductase subunit C (AhpC) protects bacterial and human cells against reactive nitrogen intermediates. Mol Cell 1998;1:795-805.

55.Huang C-H, Chuang M-H, Lo W-L, Wu M-S, Wu Y-H, Wu D-C, et al. Alkylhydroperoxide reductase of Helicobacter pylori as a biomarker for gastric patients with different pathological manifestations. Biochimie 2011;93:1115-23.

56.Croxen MA, Ernst PB, Hoffman PS. Antisense RNA modulation of alkyl hydroperoxide reductase levels in Helicobacter pylori correlates with organic peroxide toxicity but not infectivity. J Bacteriol 2007;189:3359-68.

57.Huang C-H, Chiou S-H. Proteomic analysis of upregulated proteins in Helicobacter pylori under oxidative stress induced by hydrogen peroxide. Kaohsiung J Med Sci 2011;27:544-53.

58.O'Riordan AA, Morales VA, Mulligan L, Faheem N, Windle HJ, Kelleher DP. Alkyl hydroperoxide reductase: a candidate Helicobacter pylori vaccine. Vaccine 2012;30:3876-84.

59.Shi Y-y, Chen M, Zhang Y-x, Zhang J, Ding S-g. Expression of three essential antioxidants of Helicobacter pylori in clinical isolates. J Zhejiang Univ Sci B 2014;15:500-6.

60.Baker LM, Raudonikiene A, Hoffman PS, Poole LB. Essential thioredoxin-dependent peroxiredoxin system from Helicobacter pylori: genetic and kinetic characterization. J Bacteriol 2001;183:1961-73.

61.Zhang X, Zhang J, Zhang R, Guo Y, Wu C, Mao X, et al. Structural, enzymatic and biochemical studies on Helicobacter pylori arginase. Int J Biochem Cell Biol 2013;45:995-1002.

62.Gobert AP, McGee DJ, Akhtar M, Mendz GL, Newton JC, Cheng Y, et al. Helicobacter pylori arginase inhibits nitric oxide production by eukaryotic cells: a strategy for bacterial survival. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:13844-9.

63.Srivastava A, Meena SK, Alam M, Nayeem SM, Deep S, Sau AK. Structural and functional insights into the regulation of Helicobacter pylori arginase activity by an evolutionary nonconserved motif. Biochemistry 2013;52:508-19.

64.McGee DJ, Kumar S, Viator RJ, Bolland JR, Ruiz J, Spadafora D, et al. Helicobacter pylori thioredoxin is an arginase chaperone and guardian against oxidative and nitrosative stresses. J Biol Chem 2006;281:3290-6.

65.Penesyan A, Paulsen IT, Gillings MR, Kjelleberg S, Manefield MJ. Secondary effects of antibiotics on microbial biofilms. Front Microbiol 2020;11:2109.

66.Tseng BS, Zhang W, Harrison JJ, Quach TP, Song JL, Penterman J, et al. The extracellular matrix protects P seudomonas aeruginosa biofilms by limiting the penetration of tobramycin. Environ Microbiol 2013;15:2865-78.

67.Krzyżek P, Gościniak G. A proposed role for diffusible signal factors in the biofilm formation and morphological transformation of Helicobacter pylori. Turk J Gastroenterol 2018;29:7.

68.El Mortaji L, Tejada-Arranz A, Rifflet A, Boneca IG, Pehau-Arnaudet G, Radicella JP, et al. A peptide of a type I toxin− antitoxin system induces Helicobacter pylori morphological transformation from spiral shape to coccoids. Proc Natl Acad Sci U S A 2020;117:31398-409.

69.Lewis K. Persister cellules, la dormance et les maladies infectieuses. Nature 2007;5:48-56.

70.Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Ochiai K, Kamiya S. Impact of Helicobacter pylori biofilm formation on clarithromycin susceptibility and generation of resistance mutations. PloS One 2013;8:e73301.

71.Cai J, Huang H, Song W, Hu H, Chen J, Zhang L, et al. Preparation and evaluation of lipid polymer nanoparticles for eradicating H. pylori biofilm and impairing antibacterial resistance in vitro. Int J Pharm 2015;495:728-37.

72.Hathroubi S, Zerebinski J, Clarke A, Ottemann KM. Helicobacter pylori biofilm confers antibiotic tolerance in part via a protein-dependent mechanism. Antibiotics 2020;9:355.

73.Ma J-F, Hager PW, Howell ML, Phibbs PV, Hassett DJ. Cloning and characterization of the Pseudomonas aeruginosa zwf gene encoding glucose-6-phosphate dehydrogenase, an enzyme important in resistance to methyl viologen (paraquat). J Bacteriol 1998;180:1741-9.

74.Clardy J, Fischbach MA, Currie CR. The natural history of antibiotics. Curr Biol 2009;19:1-8.

75.Melander RJ, Basak AK, Melander C. Natural products as inspiration for the development of bacterial antibiofilm agents. Nat prod Rep 2020;37:1454-77.

76.Carradori S, Di Giacomo N, Lobefalo M, Luisi G, Campestre C, Sisto F. Biofilm and quorum sensing inhibitors: The road so far. Expert Opin Ther Pat 2020;30:917-30.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

77.Maccelli A, Carradori S, Puca V, Sisto F, Lanuti P, Crestoni ME, et al. Correlation between the antimicrobial activity and metabolic profiles of cell free supernatants and membrane vesicles produced by Lactobacillus reuteri DSM 17938. Microorganisms 2020;8:1653.

78.Di Lodovico S, Napoli E, Di Campli E, Di Fermo P, Gentile D, Ruberto G, et al. Pistacia vera L. oleoresin and levofloxacin is a synergistic combination against resistant Helicobacter pylori strains. Sci Rep 2019;9:1-10.

79.Luo P, Huang Y, Hang X, Tong Q, Zeng L, Jia J, et al. Dihydrotanshinone I is effective against drug-resistant Helicobacter pylori in vitro and in vivo. Antimicrob Agents Chemother 2021;65:e01921-20.

80.Bai CL, Osaki T, Yonezawa H, Hanawa T, Zaman C, Kurata S, et al. In vitro and in vivo effects of the Mongolian drug Amu-ru 7 on Helicobacter pylori growth and viability. Microbiol Immunol 2010;54:508-15.

81.Spósito L, Oda FB, Vieira JH, Carvalho FA, dos Santos Ramos MA, de Castro RC, et al. In vitro and in vivo anti-Helicobacter pylori activity of Casearia sylvestris leaf derivatives. J Ethnopharmacol 2019;233:1-12.

82.Jia J, Zhang C, Liu Y, Huang Y, Bai Y, Hang X, et al. Armeniaspirol A: a novel anti-Helicobacter pylori agent. Microb Biotechnol 2022;15:442-54.

83.Cataldi V, Di Bartolomeo S, Di Campli E, Nostro A, Cellini L, Di Giulio M. In vitro activity of Aloe vera inner gel against microorganisms grown in planktonic and sessile phases. Int J Immunopathol Pharmacol 2015;28:595-602.

84.Graham DY. Efficient identification and evaluation of effective Helicobacter pylori therapies. Clin Gastroenterol Hepatol 2009;7:145-8.

85.Mégraud F, Lehours P. Helicobacter pylori detection and antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 2007;20:280-322.

86.Vagarali M, Metgud S, Bannur H, Karadesai S, Nagmoti J. Clinical significance of various diagnostic techniques and emerging antimicrobial resistance pattern of Helicobacter pylori from gastric biopsy samples. Indian J Med Microbiol 2015;33:560-4.

87.Jin F, Yang H. Effects of Lactobacillus salivarius LN12 in Combination with amoxicillin and clarithromycin on Helicobacter pylori biofilm in vitro. Microorganisms 2021;9:1611.

88.Krzyżek P, Migdał P, Paluch E, Karwańska M, Wieliczko A, Gościniak G. Myricetin as an antivirulence compound interfering with a morphological transformation into coccoid forms and potentiating activity of antibiotics against Helicobacter pylori. Int J Mol Sci 2021;22:2695.

89.Krzyżek P, Junka A, Słupski W, Dołowacka-Jóźwiak A, Płachno BJ, Sobiecka A, et al. Antibiofilm and antimicrobial-enhancing activity of Chelidonium majus and Corydalis cheilanthifolia extracts against multidrug-resistant Helicobacter pylori. Pathogens 2021;10:1033.

90.Yu M, Wang X, Ling F, Wang H, Zhang P, Shao S. Atractylodes lancea volatile oils attenuated helicobacter pylori NCTC11637 growth and biofilm. Microb Pathog 2019;135:103641.

91.Vetvicka V, Vetvickova J, Fernandez-Botran R. Effects of curcumin on Helicobacter pylori infection. Ann Transl Med 2016;4.

92.Krzyżek P, Gościniak G, Fijałkowski K, Migdał P, Dziadas M, Owczarek A, et al. Potential of bacterial cellulose chemisorbed with anti-metabolites, 3-bromopyruvate or sertraline, to fight against helicobacter pylori lawn biofilm. Int J Mol Sci 2020;21:9507.

93.Zhang L, Wu WK, Gallo RL, Fang EF, Hu W, Ling TK, et al. Critical role of antimicrobial peptide cathelicidin for controlling Helicobacter pylori survival and infection. J Immunol 2016;196:1799-809.

94.Bugli F, Palmieri V, Torelli R, Papi M, De Spirito M, Cacaci M, et al. In vitro effect of clarithromycin and alginate lyase against Helicobacter pylori biofilm. Biotechnol Prog 2016;32:1584-91.

95.Trung HT, Huynh HTT, Thuy LNT, Van Minh HN, Nguyen M-NT, Thi MNL. Growth-inhibiting, bactericidal, antibiofilm, and urease inhibitory activities of Hibiscus rosa sinensis L. flower constituents toward antibiotic sensitive- and resistant-strains of Helicobacter pylori. ACS Omega 2020;5:20080.

96.Chen X, Li P, Shen Y, Zou Y, Yuan G, Hu H. Rhamnolipid-involved antibiotics combinations improve the eradication of Helicobacter pylori biofilm in vitro: A comparison with conventional triple therapy. Microb Pathog 2019;131:112-9.

97.Shen Y, Li P, Chen X, Zou Y, Li H, Yuan G, et al. Activity of sodium lauryl sulfate, rhamnolipids, and N-acetylcysteine against biofilms of five common pathogens. Microb Drug Resist 2020;26:290-9.

98.Di Fermo P, Di Lodovico S, Amoroso R, De Filippis B, D'Ercole S, Di Campli E, et al. Searching for new tools to counteract the Helicobacter pylori resistance: the positive action of resveratrol derivatives. Antibiotics 2020;9:891.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]
[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]
[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]

99.Zamani H, Rahbar S, Garakoui SR, Afsah Sahebi A, Jafari H. Antibiofilm potential of Lactobacillus plantarum spp. cell free supernatant (CFS) against multidrug resistant bacterial pathogens. Pharmaceut Biomed Res 2017;3:39-44.

100.Wylie MR, Windham IH, Blum FC, Wu H, Merrell DS. In vitro antibacterial activity of nimbolide against Helicobacter pylori. J Ethnopharmacol 2022;285:114828.

101.Grande R, Carradori S, Puca V, Vitale I, Angeli A, Nocentini A, et al. Selective inhibition of helicobacter pylori carbonic anhydrases by carvacrol and thymol could impair biofilm production and the release of outer membrane vesicles. Int J Mol Sci 2021;22:11583.

102.Spiegel M, Krzyżek P, Dworniczek E, Adamski R, Sroka Z. In silico screening and in vitro assessment of natural products with anti-virulence activity against Helicobacter pylori. Molecules 2021;27:20.

[ Downloaded from tmuj.iautmu.ac.ir on 2026-02-22 ]

[ DOR: 20.1001.1.10235922.1402.33.3.10.6 ]

[ DOI: 10.61186/iau.33.3.205 ]