

## بررسی اثر پروتئین فعال کننده نوتروفیلی هلیکوباکتر پیلوری بر میزان لکوترینهای C4, B4 و التهاب مجاری هوایی در موش مدل آسم آلرژیک

علیرضا خالقی خرمی<sup>۱</sup>، رسول شکری<sup>۲</sup>، ساناز مهمازی<sup>۳</sup>، هادی خدابنده لو<sup>۴</sup>، سید شمس الدین اطهاری<sup>۵</sup>

۱- دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۲- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران. نویسنده مسئول:

[rsh.bio42@gmail.com](mailto:rsh.bio42@gmail.com)

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه و فنی مهندسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران.

۴- استادیار دپارتمان بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران.

۵- استادیار دپارتمان ایمونولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، زنجان، ایران. نویسنده مسئول: [ss.athari@gmail.com](mailto:ss.athari@gmail.com)

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۶/۱۴

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۸/۲۴

### چکیده

**زمینه و هدف:** پروتئین فعال کننده نوتروفیلی هلیکوباکتر پیلوری (HP-NAP) به عنوان یک ایمونوژن برای برانگیختن پاسخ های آنتی ژنی یا یک تعدیل کننده ایمنی برای تنظیم ایمنی سلول های T عمل می کند. این پروتئین می تواند یک پاسخ Th2 منجر به پاسخ آلرژیک را به سمت پاسخ Th1 سوق دهد. همچنین احتمال می رود بر میزان تولید لکوترینهای C4, B4 و نهایتاً بیماری آسم نیز تاثیر بگذارد. هدف از این مطالعه بررسی تاثیر HP-NAP بر میزان لکوترینهای C4, B4 در موش های مدل آسم آلرژیک و مقایسه آن با تاثیرات خود هلیکو باکتر پیلوری (*Helicobacter pylori*) می باشد.

**مواد و روشها:** در ابتدا سویه استاندارد هلیکوباکتر پیلوری و پپتید HP-NAP طبق مطالعه قبلی تهیه شد. سپس ۴۰ سر موش نر بالغ Blab c ۶ تا ۸ هفته ای برای مدل سازی و ایجاد آسم آلرژیک تهیه و به ۴ گروه ۱۰ تایی تقسیم و برای مطالعه تغییرات لکوترینهای مذکور انتخاب شدند.

**نتایج:** در اندازه گیری سطح لکوترینهای C4, B4، با استفاده از روش الایزا مشاهده شد که سطح C4, B4 گروه آسمی به طور معناداری نسبت به گروه سالم افزایش دارد. در حالی که تیمارها با هلیکوباکتر و HP-NAP منجر به کاهش معنی داری در سطوح C4, B4 نسبت به گروه آسمی نشد.

**نتیجه گیری:** با توجه به اثرات قوی تر HP-NAP نسبت به خود هلیکو باکتر در کاهش سطح لکوترینهای C4, B4، HP-NAP توانست در حیوانات آسمی میزان لکوترینهای C4, B4 را کاهش دهد ولی میزان کاهش آن نسبت به گروه آسمی معنی دار نبود. بنابراین مطالعات بیشتر پیشنهاد می گردد.

**کلمات کلیدی:** هلیکوباکتر پیلوری، آسم آلرژیک، پروتئین فعال کننده نوتروفیلی، لکوترین

## مقدمه

آسم آلرژیک یک بیماری مزمن التهابی برونش ها ی ریه است که در پاسخ به آلرژنها و با ترشح بیش از حد موکوس در اپیتلیوم برونش ها و ضخیم شدن دیواره آنها و متاپلاژی سلولهای جامی شکل برونش همراه است. سیستم ایمنی در مقابل بیماریهای آسم بسیار پیچیده عمل می کند. بیشتر مطالعات بر روی گیرنده هایی مانند سلول های Th1, Th2, Th17, T-regs، و سلول های دندریتیک (DCs) انجام شده، که نشان می دهد این سلولها با هم تشکیل یک شبکه پیچیده بین سلولی را می دهند که این خود باعث ایجاد دیدگاه وسیعی برای تحقیقات ایمونولوژیکی آسم شده است (۱-۳). پیشگیری، شناخت، کنترل و درمان آسم برای همه جمعیت ها ضروری است و حمله آسم نتیجه اجتناب ناپذیر عملکرد نامناسب سیستم ایمنی است. در ارزیابی هیستوپاتولوژیک، تجمع و نفوذ ائوزینوفیل ها نشان دهنده التهاب برونش است. (۴-۶). مشاهده شده که متابولیت های میکروبی می توانند مستقیماً روی سلول های سیستم ایمنی ذاتی از جمله سلول های NK و DCs تأثیر گذاشته و ترشح اینترفرون  $\gamma$ -IFN، IL-12 و  $\alpha$ -IFN را تحریک نمایند و باعث سوپیچ عملکرد سلول های Th2 به سلولهای Th1 شوند. البته این فرآیندها هنوز نیاز به مطالعه بیشتری دارند (۷-۸). بنابراین، با تجویز باکتری ها یا اجزای آنها شاید بتوان از ایجاد آسم جلوگیری کرد (۹). جالب توجه است، ارتباط بین عفونت هلیکوباکتر پیلوری و کاهش خطر آسم آلرژیک مشاهده شده است (۱۰-۱۱). هلیکوباکتر پیلوری یک باکتری ماریپیچی میکرو ائروفیل گرم منفی است که می تواند باعث ایجاد انواع بیماری ها مانند التهاب مزمن، زخم معده و سرطان معده شود. (۷، ۱۲-۱۴). پروتئین فعال کننده نوتروفیل هلیکوباکتر پیلوری (HP-NAP)، یک پروتئین فعال کننده گیرنده TLR2 است که می تواند به شدت نوتروفیل ها، مونوسیت ها و DCها را تحریک

نماید (۱۵-۱۶). HP-NAP به عنوان یک ایمونومدولاتور می تواند به صورت داخل صفاقی یا داخل بینی تجویز شود (۱۷).

از طرفی مشاهده شده که لکوترین ها (LTs) نقش مهمی را در پاتوفیزیولوژی آسم ایفا می کنند (۲۲-۱۸) از جمله لیپیدهای التهابی موسوم به سیستئینیل لکوترین (LTC4, LTD4, LTE4 و LTB4) که واسطه های لیپیدی بیولوژیکی قوی می باشند. (۲۳-۱۹). لکوترین ها می توانند پاکسازی موکوسیلیاری را مختل و ترشح موکوس را افزایش و لکوسیت ها را به طور کموتاکتیکی به مجاری هوایی جذب کنند و همچنین نفوذپذیری عروق ریوی را برای ایجاد ادم تسهیل کنند (۲۲-۲۱). لکوترین های C4 و D4 استنشاقی ۱۰۰۰ برابر قوی تر از هیستامین در ایجاد انسداد جریان هوا در افراد عادی هستند و مدت اثر طولانی تری دارند (۲۳). در بیماران مبتلا به آسم، راه های هوایی ۱۰۰ تا ۱۰۰۰ برابر بیشتر از افراد عادی به لکوترین های D4 و E4 استنشاقی حساس هستند (۲۳). لکوترین های استنشاقی C4 و D4 همچنین حساسیت بیش از حد برونش را به عوامل دارویی مانند متاکولین یا هیستامین افزایش می دهند (۲۴). این پاسخها به لکوترین های اگزوزن با ویژگی های بالینی انسداد راه هوایی در آسم همراه است و نقش بیولوژیکی این ترکیبات را در این بیماری نشان می دهد. علاوه بر این، لکوترین ها در پلاسما، ادرار، ترشحات بینی، خلط و مایع شستشوی برونکوالوئولار (BALF) از بیماران مبتلا به شروع خود به خودی آسم پس از مواجهه با آنتی ژن، شناسایی شده اند (۲۵).

بنابراین با توجه به تاثیرات LTها در پایداری و تشدید بیماری آسم و از آنجاییکه هیچ مطالعه دیگری درباره اثرات HP-NAP بر روی میزان LT نشده است، در این پژوهش تاثیرات HP-NAP بر میزان LTها و نهایتاً پیدا کردن راه کاری برای کنترل و احیاناً درمان بیماری آسم، بررسی شد.

## مواد و روش ها

در ابتدا سویه استاندارد هلیکوباکتر پیلوری و پیتید HP-NAP تهیه شد. سپس تعداد ۴۰ سر موش نر بالغ ۶ تا ۸ هفته ای برای مدل سازی و ایجاد حالت آسم آلرژیک برای مطالعه تغییرات لکوترینها تهیه شد. به این ترتیب که در ابتدا موش ها در ۴ گروه ۱۰ تایی انتخاب و سپس در گروه های مدل تحت حساس سازی و چلنج توسط پروتئین اوآلبومین (OVA) از طریق داخل صفاق و نابی قرار داده شد تا علائم آسم در این حیوانات ظاهر شود. بدین صورت که ابتدا در روز ۱ و ۱۴ OVA به موشهای مورد نظر طبق گروه بندی انجام شده از طریق داخل صفاقی تزریق سپس در روزهای ۲۴، ۲۶، ۲۸ و ۳۰ از طریق درون نابی و با استفاده از دستگاه نبولایزر با OVA حساس سازی انجام گرفت (۲۶). همچنین طبق گروه بندی در روزهای ۲۵، ۲۷ و ۲۹ موشها تحت تیمار با H. pylori و HP-NAP از طریق درون نابی و با استفاده از دستگاه نبولایزر قرار گرفتند. در کل گروه های مورد مطالعه شامل موارد ذیل هستند:

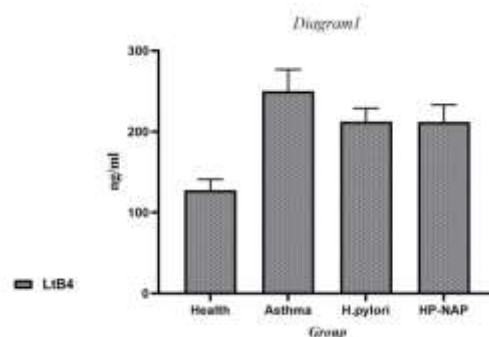
- ۱) موش حساس شده با OVA (کنترل مثبت)، (۲)
- موش سالم که فقط PBS دریافت می کنند و OVA دریافت نکرده و حساس نشده است (کنترل منفی)، (۳)
- موش حساس شده با OVA و دریافت کننده هلیکوباکتر، (۴)
- موش حساس شده با OVA و دریافت کننده HP-

NAP. در نهایت در روز ۳۱ عمل یوتانزی روی موشها انجام و جهت انجام مراحل ذیل در نظر گرفته شد. برای مطالعه تغییرات لکوترینهای C4, B4 ابتدا مایع BALF استخراج شد. برای استخراج مایع BALF ابتدا یک دهم میلی لیتر PBS بوسیله لوله قابل انعطاف از طریق نای وارد ریه حیوان شد و سپس استخراج شد. برای سنجش فاکتورهای مورد نظر با استفاده از روش الایزا، کیتهای اندازه گیری این فاکتورها طبق دستورالعمل کیتها بکار برده شد.

نتایج به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار (SD) ارائه گردید. برای تجزیه و تحلیل از نرم افزار SPSS و آزمون T-test استفاده شد و نمودارها توسط Graph Pad Prism ترسیم شدند. در نهایت  $P\text{-value} < 0.05$  معنی دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

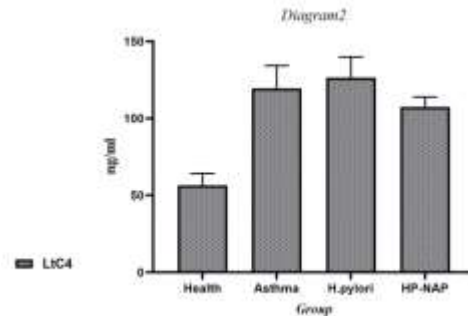
سطح LtB4 گروه آسمی ( $231 \pm 38$  ng/ml) به طور قابل توجهی ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه سالم ( $118 \pm 19$  ng/ml) افزایش یافت. تیمارها با هلیکوباکتر و HP-NAP منجر به کاهش معنی دار ( $P > 0.05$ ) در سطوح LtB4 در گروه تیمار با هلیکوباکتر پیلوری ( $201 \pm 23$  ng/ml) و HP-NAP ( $197 \pm 30$  ng/ml) نسبت به گروه آسمی نشد (نمودار ۱).



نمودار ۱- سطح LtB4 در گروه های مورد مطالعه

LtC4 در گروه تیمار با هلیکوباکتر پیلوری ( $117 \pm 19$ ) ng/ml و HP-NAP ( $103 \pm 11$ ) ng/ml نسبت به گروه آسمی نشد (نمودار ۲).

سطح LtC4 گروه آسمی ( $109 \pm 21$  ng/ml) به طور قابل توجهی ( $P < 0.05$ ) نسبت به گروه سالم ( $51 \pm 11$  ng/ml) افزایش یافت. در حالی که تیمارها با هلیکوباکتر و HP-NAP منجر به کاهش معنی دار ( $P > 0.05$ ) در سطوح



نمودار ۲- سطح LtC4 در گروه های مورد مطالعه

ایمنی ریه را تقویت کند. همچنین هلیکوباکتر پیلوری از ایجاد آسم توسط DC ها، T-regs و غیره جلوگیری می کند، که این با نظریه محور روده-ریه مطابقت دارد (۳۳-۳۱) زمانی که فردی به هلیکوباکتر پیلوری آلوده می شود، T-regs در مخاط معده بسیار فعال است و ترشح IL-10 توسط T-regs در خون محیطی به طور قابل توجهی بیشتر از سلول های Th-1 اختصاصی هلیکوباکتر پیلوری می باشد. هنگامی که یک واکنش T-regs قوی بوجود آید غلظت IgE کل و IgE مخصوص آلرژن کم می شود بطوری که سرکوب IL-10 می تواند به طور قابل توجهی مقدار IgE را در مدل های حیوانی افزایش دهد. بنابراین، همسانی IL-10 و T-regs در پیشگیری از آلرژی ها در هنگام حضور هلیکوباکتر پیلوری ممکن است نقش داشته باشد (۳۴). کیبورز و همکاران مدل های آزمایشی موش های C57BL/6 با ایجاد التهاب راه های هوایی بوسیله گرد و غبار خانگی و اوالبومین و ویروس آنفولانزای A و عفونت با سیتروباکتر رودنتیوم را ایجاد کردند و پس از قرار دادن موشها در معرض عصاره هلیکوباکتر پیلوری و سیتوتوکسین واکوئل کننده ایمنی آن در مرحله پری ناتال، مشخص شد

## بحث

اگرچه آسم آلرژیک اغلب همراه با پاسخ های Th-2 است، مشاهده شده که تعدادی از بیماران مبتلا به آسم شدید ترکیبی از پاسخ های سلولی Th-2 و Th-17 را در راه های هوایی خود نشان می دهند (۲۷) و نیز مشخص شده که سلول های Th-17 و T-regs نیز به طور قابل توجهی در پاتوژنز آسم دخیل هستند (۲۸-۳۰). عوامل زیادی، مانند Th-2، Th-17، و حتی نفوذ ائوزینوفیل/نوتروفیل، در برخی از مدل های آسم دیده شده است (۱۷-۱۵). این دیدگاه که آسم ائوزینوفیلیک یک اختلال انحصاری Th-2 و آسم نوتروفیلی یک اختلال انحصاری Th-17 است، خیلی دقیق نمی باشد (۱۸). بطوری که مشخص شده که عوامل التهابی Th-2 و Th-17 در آسم یکدیگر را تنظیم می کنند (۱۹). و Th-1/Th-2 و Th-17/T-regs و سایتوکاین های مختلف آنها یک شبکه تعاملی بسیار پیچیده را تشکیل می دهند (۳۰، ۲۹).

هلیکوباکتر پیلوری می تواند باعث تغییرات مزمن ایمنوپاتولوژیک در معده و نامتوازن شدن میکروبیوتای دستگاه گوارش (دیس باکتریوز) شده و تنظیم عملکرد

با توجه به مطالعات قبلی و یافته های ما در این پژوهش می توان اینگونه نتیجه گرفت که با توجه به اثرات قوی تر HP-NAP نسبت به خود هلیکو باکتر شاید بتوان از آن به عنوان یک تنظیم کننده برای لکوترینهای C4, B4 استفاده و با کاهش آنها در نهایت از التهاب مجاری هوایی منجر به آسم آلرژیک جلوگیری کرد و امیدوار بود تا بتوان از HP-NAP بعنوان یک عامل درمانی مفید برای پیشگیری و درمان آسم آلرژیک استفاده شود.

#### تقدیر و تشکر

از همکاری و هماهنگی دانشکده علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان و دانشکده داروسازی و پزشکی دانشگاه علوم پزشکی زنجان قدردانی می شود. کلیه روش ها پس از تایید کمیته اخلاق با کد IR.IAU.Z.REC.1401.069 انجام شد.

#### تعارض منافع

نویسندگان اعلام می کنند که هیچ تضاد منافع احتمالی در رابطه با تحقیق، تألیف و/یا انتشار این مقاله وجود ندارد.

#### فهرست منابع

1. Lin CL, Hsiao G, Wang CC, Lee YL. Emperorin exerts antiallergic effects in Th2-mediated allergic asthma via induction of IL-10-producing regulatory T cells by modulating the function of dendritic cells. *Pharmacological research*. 2016 Aug 1; 110:111-21.
2. Abdelaziz MH, Abdelwahab SF, Wan J, Cai W, Huixuan W, Jianjun C, Kumar KD, Vasudevan A, Sadek A, Su Z, Wang S. Alternatively activated macrophages; a double-edged sword in allergic asthma. *Journal of translational medicine*. 2020 Dec; 18:1-2
3. Puggioni F, Alves-Correia M, Mohamed MF, Stomeo N, Mager R,

که اینها می توانند عملکردهای محافظتی قوی را در برابر آسم آلرژیک نه تنها در فرزندان نسل اول بلکه در نسل دوم نیز بوجود آورند. تنوع و ترکیب میکروفلور دستگاه گوارش به مقدار زیادی تحت تاثیر، قرار گرفتن در معرض هلیکوباکتر پیلوری می باشد. پس قرار گرفتن در معرض هلیکوباکتر پیلوری نه تنها می تواند بر روی ناقلین بلکه در نسل های بعدی نیز موثر واقع شود. مواد مغذی مادر، قرار گرفتن در معرض میکروارگاناسم ها، سیگار و سایر عوامل محیطی نیز بر شکل گیری سیستم ایمنی در جنین از طریق روش اپی ژنتیکی تاثیر می گذارد (۳۵) دندرتیک سل ها (DC) به سلول های T اولیه کمک می کنند تا به سلول های Th-2 یا T-regs به تمایز یابند (۳۶-۳۷) مشخص شده که هلیکوباکتر پیلوری می تواند DC ها را برای ارتقای تحمل ایمنی و افزایش اثر محافظتی در برابر آسم آلرژیک هدف قرار داده و این اثر بسیار وابسته به T-regs است. (۳۸)

#### نتیجه گیری:

Marinoni M, Racca F, Paoletti G, Varricchi G, Giorgis V, Melioli G. Immunostimulants in respiratory diseases: focus on Pidotimod. *Multidisciplinary Respiratory Medicine*. 2019 Dec; 14:1-0.

4. Ege MJ. The hygiene hypothesis in the age of the microbiome. *Annals of the American Thoracic Society*. 2017 Nov;14(Supplement 5): S348-53.

5. Miftahussurur M, Nusi IA, Graham DY, Yamaoka Y. Helicobacter, hygiene, atopy, and asthma. *Frontiers in microbiology*. 2017 Jun 8; 8:1034.

6. Jones MG. Understanding of the molecular mechanisms of allergy. *Allergy: Methods and Protocols*. 2019:1-5.

7. Daschner A, González Fernández J. Allergy in an evolutionary framework. *Journal of Molecular Evolution*. 2020 Jan;88(1):66-76.
8. Chen C, Xun P, Tsinovoi C, He K. Accumulated evidence on *Helicobacter pylori* infection and the risk of asthma: a meta-analysis. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2017 Aug 1;119(2):137-45.
9. Lambrecht BN, Hammad H. The immunology of asthma. *Nature immunology*. 2015 Jan;16(1):45-56.
10. Choy DF, Hart KM, Borthwick LA, Shikotra A, Nagarkar DR, Siddiqui S, Jia G, Ohri CM, Doran E, Vannella KM, Butler CA. TH2 and TH17 inflammatory pathways are reciprocally regulated in asthma. *Science translational medicine*. 2015 Aug 19;7(301):301ra129-.
11. Lim JH, Kim N, Lim SH, Kwon JW, Shin CM, Chang YS, Kim JS, Jung HC, Cho SH. Inverse relationship between *Helicobacter pylori* infection and asthma among adults younger than 40 years: a cross-sectional study. *Medicine*. 2016 Feb 1;95(8): e2609.
12. Asayama K, Kobayashi T, D'Alessandro-Gabazza CN, Toda M, Yasuma T, Fujimoto H, Okano T, Saiki H, Takeshita A, Fujiwara K, Fridman D'Alessandro V. Protein S protects against allergic bronchial asthma by modulating Th1/Th2 balance. *Allergy*. 2020 Sep;75(9):2267-78.
13. Hwang YH, Kim SJ, Yee ST. Physcion-matured dendritic cells induce the differentiation of Th1 cells. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020 Mar 4;21(5):1753.
14. Palomares O, Yaman G, Azkur AK, Akkoc T, Akdis M, Akdis CA. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases. *European journal of immunology*. 2010 May;40(5):1232-40.
15. Hwang YH, Paik MJ, Yee ST. Diisononyl phthalate induces asthma via modulation of Th1/Th2 equilibrium. *Toxicology letters*. 2017 Apr 15; 272:49-59.
16. Hong ZW, Yang YC, Pan T, Tzeng HF, Fu HW. Differential effects of DEAE negative mode chromatography and gel-filtration chromatography on the charge status of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein. *PloS one*. 2017 Mar 22;12(3): e0173632.
17. Amedei A, Codolo G, Del Prete G, de Bernard M, D'Elisio MM. The effect of *Helicobacter pylori* on asthma and allergy. *Journal of asthma and allergy*. 2010 Sep 29:139-47.
18. Santana FP, da Silva RC, Grecco SD, Pinheiro AJ, Caperuto LC, Arantes-Costa FM, Claudio SR, Yoshizaki K, Macchione M, Ribeiro DA, Tibério IF. Inhibition of MAPK and STAT3-SOCS3 by sakuranetin attenuated chronic allergic airway inflammation in mice. *Mediators of inflammation*. 2019;2019(1):1356356.
19. Peters-Golden M, Henderson Jr WR. Leukotrienes. *New England Journal of Medicine*. 2007 Nov 1;357(18):1841-54.
20. Montuschi P, Sala A, Dahlen SE, Folco G. Pharmacological modulation of the leukotriene pathway in allergic airway disease. *Drug discovery today*. 2007 May 1;12(9-10):404-12.
21. Dahlén SE. Treatment of asthma with antileukotrienes: first line or last resort

therapy? *European journal of pharmacology*. 2006 Mar 8;533(1-3):40-56.

22. Busse W, Kraft M. Cysteinyl leukotrienes in allergic inflammation: strategic target for therapy. *Chest*. 2005 Apr 1;127(4):1312-26.

23. Folco G, Murphy RC. Eicosanoid transcellular biosynthesis: from cell-cell interactions to in vivo tissue responses. *Pharmacological reviews*. 2006 Sep 1;58(3):375-88.

24. Hallstrand TS, Henderson Jr WR. An update on the role of leukotrienes in asthma. *Current opinion in allergy and clinical immunology*. 2010 Feb 1;10(1):60-6.

25. Wenzel SE, Trudeau JB, Kaminsky DA, Cohn J, Martin RJ, Westcott JY. Effect of 5-lipoxygenase inhibition on bronchoconstriction and airway inflammation in nocturnal asthma. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 1995 Sep;152(3):897-905.

26. Wu Z, Mehrabi Nasab E, Arora P, Athari SS. Study effect of probiotics and prebiotics on treatment of OVA-LPS-induced of allergic asthma inflammation and pneumonia by regulating the TLR4/NF-kB signaling pathway. *Journal of Translational Medicine*. 2022 Mar 16;20(1):130.

27. Li HT, Lin YS, Ye QM, Yang XN, Zou XL, Yang HL, Zhang TT. Airway inflammation and remodeling of cigarette smoking exposure ovalbumin-induced asthma is alleviated by CpG oligodeoxynucleotides via affecting dendritic cell-mediated Th17 polarization. *International Immunopharmacology*. 2020 May 1; 82:106361.

28. Nadeem A, Ahmad SF, Al-Harbi NO, Ibrahim KE, Siddiqui N, Al-Harbi MM,

Attia SM, Bakheet SA. Inhibition of Bruton's tyrosine kinase and IL-2 inducible T-cell kinase suppresses both neutrophilic and eosinophilic airway inflammation in a cockroach allergen extract-induced mixed granulocytic mouse model of asthma using preventative and therapeutic strategy. *Pharmacological Research*. 2019 Oct 1; 148:104441.

29. McAleer JP, Kolls JK. Contributions of the intestinal microbiome in lung immunity. *European journal of immunology*. 2018 Jan;48(1):39-49.

30. He Y, Wen Q, Yao F, Xu D, Huang Y, Wang J. Gut-lung axis: the microbial contributions and clinical implications. *Critical reviews in microbiology*. 2017 Jan 2;43(1):81-95.

31. Chiu L, Bazin T, Truchetet ME, Schaeveerbeke T, Delhaes L, Pradeu T. Protective microbiota: from localized to long-reaching co-immunity. *Frontiers in immunology*. 2017 Dec 7; 8:1678.

32. Hussain K, Letley DP, Greenaway AB, Kenefick R, Winter JA, Tomlinson W, Rhead J, Staples E, Kaneko K, Atherton JC, Robinson K. Helicobacter pylori-mediated protection from allergy is associated with IL-10-secreting peripheral blood regulatory T cells. *Frontiers in immunology*. 2016 Mar 7; 7:71.

33. Kyburz A, Fallegger A, Zhang X, Altobelli A, Artola-Boran M, Borbet T, Urban S, Paul P, Münz C, Floess S, Huehn J. Transmaternal Helicobacter pylori exposure reduces allergic airway inflammation in offspring through regulatory T cells. *Journal of allergy and clinical immunology*. 2019 Apr 1;143(4):1496-512.

**34.** Lee DC, Tay NQ, Thian M, Prabhu N, Furuhashi K, Kemeny DM. Prior exposure to inhaled allergen enhances anti-viral immunity and T cell priming by dendritic cells. *PLoS One*. 2018 Jan 2;13(1): e0190063.

**35.** Amon L, Lehmann CH, Baranska A, Schoen J, Heger L, Dudziak D. Transcriptional control of dendritic cell development and functions. *International review of cell and molecular biology*. 2019 Jan 1; 349:55-151.

**36.** Oertli M, Müller A. *Helicobacter pylori* targets dendritic cells to induce immune tolerance, promote persistence and

confer protection against allergic asthma. *Gut microbes*. 2012 Nov 16;3(6):566-71.

**37.** Arnold IC, Hitzler I, Müller A. The immunomodulatory properties of *Helicobacter pylori* confer protection against allergic and chronic inflammatory disorders. *Frontiers in cellular and infection microbiology*. 2012 Feb 16; 2:10.

**38.** Liu X, Fu G, Ji Z, Huang X, Ding C, Jiang H, et al. A recombinant DNA plasmid encoding the sIL-4R-NAP fusion protein suppress airway inflammation in an OVA-induced mouse model of asthma. *Inflammation*. 2016; 39(4):1434–40.





## Investigation of the effect of *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein on leukotriene C4, B4 levels and airway inflammation in an allergic asthma mouse model.

Alireza Khaleghi Khorrami <sup>1</sup>, **Rasul Shokri** <sup>2</sup>, Sanaz Mehmazi <sup>3</sup>, Hadi Khodabandeh Lou <sup>4</sup>, **Seyed Shamsuddin Athari** <sup>5</sup>

1- Ph.D. student of Microbiology, Department of Biology, Faculty of Basic and Technical Engineering Sciences, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

2- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences and Technical Engineering, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran. Corresponding author: [rsh.bio42@gmail.com](mailto:rsh.bio42@gmail.com)

3- Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Sciences and Technical Engineering, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran.

5- Assistant Professor, Department of Immunology, Faculty of Medicine, Zanjan University of Medical Sciences, Zanjan, Iran. Corresponding author: [ss.athari@gmail.com](mailto:ss.athari@gmail.com)

Received:2023.09.05

Accepted: 2023.11.15

### Abstract

**Background & Aim:** *Helicobacter pylori* neutrophil-activating protein (HP-NAP) acts as an immunogen to elicit antigenic responses or an immunomodulator to regulate T-cell immunity. This protein can lead to a Th2 response, which may result in an allergic response or a Th1 response. It is also likely to affect the production of leukotrienes C4, B4 and finally asthma. The objective of this study is to examine the impact of HP-NAP on the concentration of leukotrienes C4 and B4 in an allergic asthma model in mice and to compare this with the effects of *Helicobacter pylori*.

**Materials & Methods:** Firstly, the *Helicobacter pylori* standard strain and HP-NAP peptide were prepared in accordance with the methodology outlined in a previous study. Subsequently, 40 adult Blab c 6 to 8-week-old male mice were prepared for modelling and developing allergic asthma and were divided into four groups of 10. These mice were selected for further study to investigate the changes in the aforementioned leukotrienes.

**Results:** demonstrated that the level of leukotrienes C4 and B4, as measured using the ELISA method, was significantly elevated in the asthmatic group compared to the healthy group. While the treatments with *Helicobacter* and HP-NAP did not result in a significant decrease in the levels of C4 and B4 compared to the asthmatic group,

**Conclusion:** In light of the more pronounced effects of HP-NAP compared to *Helicobacter* itself in reducing the level of C4 and B4 leukotrienes, HP-NAP was able to reduce the level of C4 and B4 leukotrienes in asthmatic animals. However, this reduction was not statistically significant when compared to the asthmatic group. Therefore, further studies are recommended.

**Key Words:** *Helicobacter pylori*, allergic asthma, neutrophil activating protein, leukotriene