Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2012; 15(64): 42-48

The frequency of cagA gene of *H.pylori* isolated from biopsy specimen in Tehran during 2008-2010

Goudarzi H(Ph.D)[1], Rezaee H(M.Sc)[1*], Rafizadeh M(Ph.D)[2], Taghavi A(M.Sc)[1], Mirsamadi E(M.Sc)[1]

1- Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
2- Department of pathology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran

Received: 14 Oct 2011, Accepted: 3 Dec 2011

Abstract

Background: *H.pylori* is one of the most common chronic bacterial infections in population so more than 85 percent are infected in Iran. *H.pylori* can cause different gastrointestinal disease like gastritis, peptic ulcers and even cancer. One of the effective factors in pathogenesis of bacteria is cytotoxin associated with gene A (*cagA)*. Strains with *cagA* gene are more virulent. The aim of this study was to determine the frequency of *cagA* gene of H.pylori in patients with gastric disorders who were admitted to Imam Hossein Hospital, Tehran.

Materials and Methods: In this descriptive study, DNA was extracted from 84 paraffin- embedded tissues using QiaAmp tissue kit. H.pylori was verified with PCR of 16sRNA sequences specific for Helicobacter spices and *cagA* gene was determined using specific primer by the PCR method. The prevalence of *cagA* gene in three clinical groups; gastritis, gastric ulcer, and atrophic patients was compared.

Results: Among 84 *H.pylori* positive isolates ,72 biopsy samples were positive for 16sRNA (85.7%) and 46 (63.9%) for *cagA*. The prevalence of *cagA positive* strains in peptic ulcer patients (43.5%) was greater than in those with gastritis (30%).

Conclusion: Results showed that *Helicobacter pylori* strains with cagA are more common in patients with peptic ulcer and cancer.

Keywords: CagA, Helicobacter pylori, Polymerase chain reaction

*Corresponding author:
Address: : Department of Microbiology, Shahid Beheshti University of Medical Sciences, Tehran, Iran
Email: h_rezaee101@yahoo.com

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال 15، شماره 5 (شماره پیاپی 64)، مهر 1391، 48-42

بررسی فراوانی ژن cagA هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از نمونه‌های بیوپسی معده در استان تهران طی سال‌های 1389-1387

حسین گودرزی[1]، هانیه رضایی[2*]، میترا رفیع زاده[3]، افسون تقوی[2]، الناز السادات میرصمدی[2]

1- استاد، گروه میکروبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
2- کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروب شناسی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران
3- استادیار، گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: 90/7/23 تاریخ پذیرش: 90/9/13

چکیده

زمینه و هدف: عفونت هلیکوباکتری پیلوری یکی از شایع‌ترین عفونت‌های مزمن باکتریایی در انسان است به طوری که که بیش از 85 درصد افراد جامعه ایران آلوده به هلیکوباکتر پیلوری می‌باشند. این باکتری سبب بروز بیماری‌های متعدد گوارشی نظیر التهاب معده، زخم‌های گوارشی و حتی بروز بدخیمی می‌شود. یکی از عوامل موثر در بیماری‌زایی باکتری، ژن *cagA* می‌باشد. سویه‌های حاوی ژن *cagA* از قدرت بیماری‌زایی بالاتری نسبت به سویه‌های فاقد این ژن، برخوردارند. هدف از انجام این تحقیق تعیین فراوانی *ژن cagA* سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری در مبتلایان به اختلالات گوارشی مراجعه کننده به مرکز درمانی بیمارستان امام حسین می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، بلوک‌های پارافینه ناحیه انتروم معده 84 بیمار مورد استفاده قرار گرفت. بعد از تهیه برش و رنگ آمیزی گیمسا، حضور و دانسیته نمونه‌های هلیکوباکتر پیلوری بررسی گردید. DNA باکتری با استفاده از کیت استخراج گردیده و حضور ژن *cagA* با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن به روش PCR تعیین شد.

یافته‌ها: در این مطالعه از 84 نمونه بلوک پارافینه که در رنگ آمیزی گیمسا از نظر هلیکوباکتر پیلوری مثبت بودند، 72 (85/7 درصد) سویه هلیکوباکتر پیلوری *16s rRNA* مثبت و از بین نمونه‌های 16s rRNA، 46 سویه (63/9 درصد) دارای ژن *cagA* بودند. شیوع *cagA* مثبت در بین بیماران مبتلا به زخم گوارشی (43/5 درصد) بیشتر از مبتلایان به التهاب معده (30 درصد) بود.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه نشان داده شده است که هلیکوباکتر پیلوری با ژن *cagA* در بین بیماران مبتلا به زخم معده و سرطان در مقایسه با بیماران دیگر بیشتر می باشد.

واژگان کلیدی: *CagA*، هلیکوباکتر پیلوری، واکنش زنجیره ای پلی مورفیسم

***نویسنده مسؤل:** تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، گروه میکروب شناسی

Email: h_rezaee101@yahoo.com

مقدمه

هلیکوباکتر پیلوری(Helicobacter pylori) باسیل گرم منفی و میکروآئروفیلیک می‌باشد که اغلب در مخاط معده کلونیزه شده و عامل اتیولوژیک گاستریت، زخم‌های گوارشی وآدنوکارسینومای معده، لنفوم MALT (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue) و دیگر بدخیمی‌ها می‌باشد. میزان شیوع آلودگی به هلیکوباکترپیلوری در کشورهای در حال توسعه بیشتر است به طوری که بیش از80 درصد جمعیت این کشورها به این باکتری آلوده می‌باشند(1 ،2).

مطالعات متعدد نشان می‌دهد که عوامل بیماری‌زایی باکتری، عوامل محیطی و ژنتیک میزبان در ایجاد بیماری‌های گوارشی نقش دارند(3).

از میان عوامل متعدد بیماری‌زایی ژن وابسته به سیتوتوکسین A (cytotoxin-associated gene A) به دلیل ناهمگونی ژنتیکی در نواحی جغرافیایی متعدد و نیز اثر در چرخه سلولی از اهمیت به سزایی برخوردار است(6-4).

ژن *cagA* هلیکوباکترپیلوری به عنوان مارکر خطر بروز بیماری زخم معده و سرطان معده می‌باشد. تحقیقات اولیه در مورد واریانت‌های مختلف گونه‌های *H.pylori* و ایزوله‌ها، ارتباط بین وجود *cagA* با افزایش بیماری‌زایی و قابلیت ایجاد تغییرات متعدد مورفولوژیکی و بیوشیمیایی در سلول‌های معدی انسان را ثابت می‌کند(7). این ژن در 70-50 درصد سویه‌ها وجود دارد که در برخی گزارشات از کشورهای آسیایی وجود این ژن تا 90 درصد گزارش شده است(8 ،9). در انتهای جزایر پاتوژنیسیتی (Pathogenisity Island) در ناحیه I، قطعه 40bp وجود دارد که محل قرار گیری ژن *cagA* می‌باشد، درصد میزان سیتوزین- گوانوزین آن 35 درصد می‌باشد که تفاوتی با نواحی دیگر ژنوم (39 درصد) دارد. *cagA* طی انتقال افقی به برخی سویه‌های هلیکوباکترپیلوری منتقل شده است(10، 11). جزایر پاتولوژیکی (PAI) 31 ژن را کد می‌کند. 18 ژن در شکل‌گیری سیستم ترشحی تیپ IV Type4 -T4SS) Secretary System) نقش دارد که قابلیت نفوذ و ترانسلوکاسیون ماکرومولکول‌های باکتریایی را به سلول میزبان فراهم می‌کند. پروتئین *cagA* (توسط ژن*cagA* کد می‌شود) یکی از این ماکرومولکول‌هاست و به عنوان سوبسترای T4SS عمل می‌کند.

cagA یکی از پروتئین‌های سطحی می‌باشد که از قدرت ایمنی‌زایی بالایی برخوردار است و پس از ورود به سلول‌های اپی‌تلیال معده منجر به دوکی شدن سلول میزبان می‌شود. بنابرین پروتئین *cagA* می‌تواند به طور مستقیم پس از ورود به سلول‌های هدف و تداخل با سیستم‌های پیام رسانی سلول، سبب افزایش بیماری‌زایی باکتری و بیان ژن‌های جزایر بیماری‌زایی cag PAI می‌شود. ژن *cagA* نقش مهمی در پیام رسانی سلول داشته و سبب تغییرات موفولوژیکی متعددی نظیر تکثیر و آپپتوزیس در سلول‌ها می‌شود. وجود ژن *cagA* با بروز بیماری‌هایی نظیر زخم دوازدهه، آتروفی مخاط و سرطان معده مرتبط است(14 - 12). سویه‌های حاوی ژن*cagA* توان بیشتری در بروز آپپتوزیس در سلول‌های Abnormal Gastrin AGS) (Secretion دارند(۱۶،۱۵).

هدف از انجام این تحقیق تعیین فراوانی *ژن cagA* سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری در مبتلایان به اختلالات گوارشی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی، از 84 بیمار مبتلا به اختلالات گوارشی که نمونه بیوپسی آنها در طی سال‌های 88-89 به صورت بلوک پارافینه جمع‌آوری شده بود، استفاده گردید. همه 84 نمونه بلوک پارافینه *H.pylori*، مثبت بودند که با رنگ آمیزی گیمسا تعیین شده بود. از بین 84 بیمار مبتلا به *H.pylori*.34 نفر مبتلا به التهاب معده (40/5 درصد)، 28 بیمار مبتلا به زخم گوارشی (33/3 درصد)، 18 بیمار مبتلا به بدخیمی و آتروفی (21/4 درصد) و 4 نمونه NUD(None Ulcer Disease) (4/8 درصد)

بودند. لازم به ذکر است قبل از انجام پاتولوژی پرسش‌نامه از بیماران تهیه شده بود.

جهت استخراج DNA بلوک‌های پارافینه به ضخامت 8-5 میکرون برش داده شده و توسط کیت استخراج DNA از بافت پارافینه شرکت کیاژن طبق پروتکل گفته شده در کیت استخراج شد و در دمای 20- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شد. ابتدا با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 16s rRNA مختص گونه هلیکوباکتر، هویت سویه‌ها مشخص شد(17). در مرحله بعدی جهت تعیین حضور ژن *cagA* از پرایمرهای اختصاصی ناحیه حفاظت شده ژن با استفاده از توالی 5′-GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G-3′ به عنوان پرایمر رفت و 5′-GCG TCA AAA TAA TTC CAA GG-3′ به عنوان پرایمر برگشت برای تکثیر ژن *cagA* استفاده شد(18). در تمام این مراحل سویه هلیکوباکتر پیلوری کشت شده به عنوان سویه کنترل استفاده شد. تکثیر ژن مورد نظر در حجم 20 میکرولیتر با استفاده از تکثیر ژن *cagA* در حجم 20 میکرولیتر با استفاده از 13/4 میکرولیتر آب، 2 میکرولیتر بافر 10x، 1/2 میکرولیتر منیزیم کلراید، 0/4 میکرولیتر داکسی نوکلئوتید، 0/5 میکرولیتر از هر کدام از پرایمرها (25 پیکومول/ میکرولیتر)، 0/1 آنزیم Taq polymerase و 2 میکرولیتر نمونه مورد نظر انجام شد. محصولات PCR با استفاده از ژل آگارز 2 درصد الکتروفورز شد و پس از رنگ آمیزی با اتیدیم برماید زیر نور ماوراء بنفش مشاهده شد.

داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون مجذور کای و آزمون دقیق فیشر استفاده شد. سطح معنی داری 0/05 در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

میانگین سنی بیماران 56/6 سال بوده که شامل 52 مرد و32 زن بود. بین بیماری و سن بیمار ارتباط معنی‌داری وجود داشت(p<0/001). آتروفی و بدخیمی در افراد بالای 50 سال دیده شد، در حالی که گاستریت در سنین میانسالی(30-50) بیشتر دیده شد (62/5 درصد) و زخم معده در سنین جوانی پایین‌تر از 30 سال بیشتر شیوع داشت(66/7 درصد)(جدول1).

آلودگی به هلیکوباکتر پیلوری به روش پاتولوژی با رنگ آمیزی گیمسا مشخص شده بود. هویت همه 84 سویه‌های هلیکوباکتر پیلوری توسط روش‌های مولکولی با استفاده از پرایمر اختصاصی 16s rRNA مختص سویه هلیکوباکتر تایید شد و محصول PCR قطعه‌ای به طول 543 جفت باز بوده که وجود هلیکوباکتر پیلوری را نشان می‌دهد. از میان 84 نمونه، 72 نمونه (85/7 درصد) از نظر 16s rRNA مثبت بودند و12 نمونه(14/3 درصد) منفی بود.

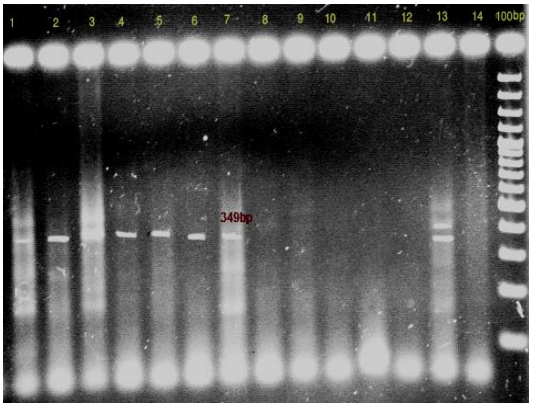
جدول1. توزیع فراوانی بیماری های گوارشی بر حسب سن

رده سنی	کمتر از 30 سال		بین31-50 سال		بزرگتر از 51سال		جمع کل	
گروه بیماری	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گاستریت	2	5/9	10	29/4	22	64/7	34	100
زخم معده	4	14/3	2	7/1	22	77/6	28	100
بدخیمی	0	0	0	0	18	100	18	100
NUD	0	0	4	100	0	0	4	100
جمع کل	6	7/1	16	19	62	73/8	84	100

نتیجه آزمون آماری:p=0/001

به دلیل این که با انجام روش PCR وجود سویه هلیکوباکتر تائید شد، در این مطالعه از 72 نمونه مثبت شده از لحاظ 16s rRNA، برای بررسی وجود ژن *cagA* استفاده شد. از بین این 72 نمونه مثبت، 46 نمونه(63/9 درصد) با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ناحیه حفاظت شده ژن *cagA* تکثیر شده و قطعه 349 جفت باز تولید شده نشان دهنده حضور ژن *cagA* بود(شکل1). 26 نمونه باقیمانده (36/1 درصد) *cagA* منفی بودند. میانگین سنی

بیماران با و بدون ژن *cagA* به ترتیب 56 و 55/46 سال بود. اختلاف سن بیماران در دو گروه از لحاظ آماری معنی‌دار نبود(p>0/05). انحراف معیار و میانه در گروه دارای ژن *cagA* به ترتیب 17/24 و 73 بود در حالی که این مقادیر در گروه فاقد ژن *cagA* به ترتیب 17/92 و52 می‌باشد. در بین 46 نمونه *cagA* مثبت 28(60/9 درصد) مرد و 18(39/1 درصد) زن بودند که از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری وجود ندارد(p>0/05). ژن *cagA* در بیماران مبتلا به زخم معده بیشترین فراوانی را داشت(71/4 درصد). در بیماران مبتلا به آتروفی و بدخیمی‌های گوارشی این میزان 44/4 درصد و در بیماران مبتلا به گاستریت 41/7 درصد گزارش شد(جدول2). اختلاف در دو گروه حاوی ژن *cagA* و فاقد ژن از نظر بیماری‌های گوارشی به لحاظ آماری معنی‌دار نبود(p=0/07).



شکل 1. نتایج PCR برروی ناحیه حفاظت شده ژن CagA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی

جدول2. توزیع فراوانی مطلق و نسبی ژن *cagA* بر حسب گروه بیماری

ژن	*cagA* تعداد(درصد)				جمع کل	
گروه بیماری	منفی		مثبت			
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گاستریت	14	50	14	50	28	100
زخم معده	6	23/1	20	76/9	26	100
بدخیمی	6	42/9	8	57/1	14	100
NUD	0	0	4	100	4	100
جمع کل	26	36/1	46	63/9	72	100

بحث

هلیکوباکترپیلوری عامل اتیولوژیک التهاب معده، زخم گوارشی و عامل خطر ابتلا به سرطان معده و بدخیمی‌های لنفوئیدی به شمار می‌رود. این مطالعه به بررسی حضور ژن شاخص بیماری‌زایی *cagA* و ارتباط آن با بیماری‌های گوارشی پرداخته و ارزش ردیابی این ژن را به منظور غربال‌گری بیماران در معرض خطر بالا تعیین نموده است. در صورت حضور ژن *cagA* در محصول PCR حاصل قطعه ژنی به طول 349 جفت باز تکثیر می‌شود. بررسی حضور ژن مذکور نشان داد که 63/9 درصد از افراد دچار بیماری‌های گوارشی، دارای سویه حاوی ژن *cagA* مثبت هستند. مقایسه فراوانی ژن *cagA* در سویه‌های هلیکوباکترپیلوری ایرانی و کشورهای غربی نشان می‌دهد که فراوانی این ژن بالاتر از کشورهای غربی می‌باشد و مشابه کشورهای آسیای جنوب شرقی از جمله کره(97 درصد) و ژاپن (95 درصد) می‌باشد(19 ،20). فراوانی ژن *cagA* در کشور برزیل نیز بالا (94 درصد) گزارش شده است(21). تنوع فراوانی ژن *cagA* در کشورهای مختلف، ممکن است به دلیل تفاوت در جمعیت بیماران مورد مطالعه و تنوع ژنتیکی سویه‌های مورد بررسی باشد.

در مطالعه صورت گرفته توسط مولایی و همکاران میزان فراوانی ژن *cagA*، 79/6 درصد گزارش شد(22). مطالعه انجام شده توسط دوستی و همکاران در شهرکرد و دورقی و همکاران در تهران میزان فراوانی ژن *cagA* را به ترتیب 83/5 و 84/2 درصد گزارش نموده است(۲۴،۲۳). مطالعه دیگر انجام شده توسط شکوهی زاده و همکاران در تهران میزان فراوانی این ژن را 35/18 درصد گزارش نمود(25). تفاوت در فراوانی ژن *cagA* در مطالعه

کنونی با مطالعات دیگر مربوط به استفاده از پرایمرهای متفاوت به منظور جستجوی ژن مذکور، تفاوت جغرافیایی و نوع نمونه جمع‌آوری شده می‌تواند باشد. این مطالعه علیرغم استفاده از پرایمرهای مشابه با دورقی و همکاران نتیجه یکسانی را نداشت که این امر می‌تواند به علت استفاده از نمونه‌های بلوک شده پارافینه در مطالعه کنونی باشد. اما با وجود اختلاف در شیوع این باکتری می‌توان نتیجه گرفت که ژن *cagA* از فراوانی یکسانی در سویه‌های ایرانی مناطق جغرافیایی مختلف برخوردار است.

اگرچه بیش از 70 درصد بیماران دچار زخم معده حامل سویه *cagA* مثبت بودند، ژن *cagA* در گروه‌های مختلف بیماران تقریباً فراوانی مشابهی داشت و ارزش چندانی برای غربال‌گری بیماران دچار اختلالات گوارشی از جمله بدخیمی و گاستریت ندارد. در این مطالعه برای بررسی اثر پارافین بر روی باکتری و تاثیری که بر نتایج آزمایشات می‌گذارد، اولین بار از نمونه‌های پارافینه استفاده شد که بتوان میزان بروز *CagA* در نمونه‌های پارافینه را بررسی کرد. با توجه به نتایج تحقیق، هلیکوباکترپیلوری در نمونه‌های پارافینه شده به صورت فیکس باقی مانده و تاثیری در نتایج PCR نمی‌گذارد.

با توجه به محدودیت زمانی در صورتی که این ژن با شاخص‌های ویرولانس دیگری نظیر *sabA*، *vacA* مورد ارزیابی قرار گیرد، می‌توان پیش بینی دقیق‌تری از پیامدهای پاتولوژی حاصل از عفونت هلیکوباکتر پیلوری داشته و ارتباط شاخص‌های متعدد بیماری‌زا در تعامل با یکدیگر در بروز بیماری حاصل را ارزیابی کرد.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که در نمونه‌های بیوپسی که در رنگ آمیزی گیمسا از لحاظ هلیکوباکترپیلوری مثبت گزارش شده، می‌توان از ژن 16s rRNA اختصاصی سویه هلیکوباکتر به جای استفاده از روش مرسوم بررسی حضور ژن UreC، برای تائید سویه استفاده کرد. همچنین این مطالعه تایید کرد که ژن *cagA* با بیماری زخم معده و سرطان در مقایسه با بیماران دیگر ارتباط معنی‌داری دارد.

تشکر و قدردانی

از معاونت آموزشی دانشکده پزشکی شهید بهشتی برای حمایت علمی و پشتیبانی مالی از این پژوهش و هم‌چنین از بخش میکروب شناسی که تجهیزات و امکانات بخش را در اختیار این پژوهش قرار دادند قدردانی می‌گردد. این پژوهش نتیجه کار پایان نامه به شماره 351 مصوبه دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی با عنوان بررسی شاخص‌های ویرولانس هلیکوباکتر پیلوری جدا شده از بیماران گوارشی به روش PCR می‌باشد.

منابع

1. Blaser MJ. Helicobacter pylori and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. Journal of Infectious Diseases. 1990; 161(4): 626-33.
2. Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. New England Journal of Medicine. 2002; 347(15): 1175-86.
3. Nguyen TN, Barkun AN, Fallone CA. Host determinants of Helicobacter pylori infection and its clinical outcome. Helicobacter. 1999; 4(3): 185-97.
4. Azuma T, Yamakawa A, Yamazaki S, Ohtani M, Ito Y, Muramatsu A, et al. Distinct diversity of the cag pathogenicity island among Helicobacter pylori strains in Japan. Journal of clinical microbiology. 2004; 42(6): 2508-17.
5. Backert S, Schwarz T, Miehlke S, Kirsch C, Sommer C, Kwok T, et al. Functional analysis of the cag pathogenicity island in Helicobacter pylori isolates from patients with gastritis, peptic ulcer, and gastric cancer. Infection and immunity. 2004; 72(2): 1043-56.
6. Zhang Y, Argent RH, Letley DP, Thomas RJ, Atherton JC. Tyrosine phosphorylation of CagA from Chinese Helicobacter pylori isolates in AGS gastric epithelial cells. Journal of clinical microbiology. 2005; 43(2): 786-90.
7. Leunk R, Johnson P, David B, Kraft W, Morgan D. Cytotoxic activity in broth-culture

filtrates of Campylobacter pylori. Journal of medical microbiology. 1988; 26(2): 93-9.
8. Yamaoka Y, Graham DY. Clarifications Regarding the 3′ Repeat Region of the cagA Gene in Helicobacter pylori and Clinical Outcome. Journal of clinical microbiology. 2001; 39(6): 2369-70.
9. Atherton J. The clinical relevance of strain types of Helicobacter pylori. Gut. 1997; 40(6): 701-3.
10. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. cag, a pathogenicity island of Helicobacter pylori, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996; 93(25): 14648.
11. Akopyants NS, Fradkov A, Diatchenko L, Hill JE, Siebert PD, Lukyanov SA, et al. PCR-based subtractive hybridization and differences in gene content among strains of Helicobacter pylori. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1998; 95(22): 13108.
12. Kidd M, Lastovica A, Atherton J, Louw J. Heterogeneity in the Helicobacter pylori vacA and cagA genes: association with gastroduodenal disease in South Africa? Gut. 1999; 45(4): 499-502.
13. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou P, et al. Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer research. 1995; 55(10):2111.
14. Parsonnet J, Friedman G, Orentreich N, Vogelman H. Risk for gastric cancer in people with CagA positive or CagA negative Helicobacter pylori infection. Gut. 1997; 40(3): 297-301.
15. YingWu Y, FangTsai H, ChengLin W, HsiangChou A, TingChen H, ChinYang J, et al. Helicobacter pylori enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in human gastric epithelial cells. World Journal of Gastroenterology 2004; 10(016): 2334-9.
16. Maeda S, Yoshida H, Mitsuno Y, Hirata Y, Ogura K, Shiratori Y, et al. Analysis of apoptotic and antiapoptotic signalling pathways induced by Helicobacter pylori. Gut. 2002; 50(6): 771-8.
17. Xuan SY, Li N, Qiang X, Zhou RR, Shi YX, Jiang WJ. Helicobacter infection in hepatocellular carcinoma tissue. World Journal of Gastroenterology. 2006; 12(15): 2335.
18. Tummuru M, Cover T, Blaser M. Cloning and expression of a high-molecular-mass major antigen of Helicobacter pylori: evidence of linkage to cytotoxin production. Infection and immunity. 1993; 61(5): 1799-809.
19. Kim SY, Woo CW, Lee YM, Son BR, Kim JW, Chae HB, et al. Genotyping CagA, VacA subtype, IceA1, and BabA of Helicobacter pylori isolates from Korean patients, and their association with gastroduodenal diseases. Journal of Korean medical science. 2001; 16(5): 579-84.
20. Maeda S, Yoshida H, Ikenoue T, Ogura K, Kanai F, Kato N, et al. Structure of cag pathogenicity island in Japanese Helicobacter pyloriisolates. Gut. 1999; 44(3):336-41.
21. Ashour AAR, Magalhães PP, Mendes EN, Collares GB, Gusmão VR, Queiroz DMM, et al. Distribution of vacA genotypes in Helicobacter pylori strains isolated from Brazilian adult patients with gastritis, duodenal ulcer or gastric carcinoma. FEMS Immunology & Medical Microbiology. 2002; 33(3): 173-8.
22. Molaei M, Foroughi F, Mashayekhi R, Mehrdad H, Zojaji H, Jafari H, et al. CagA status and VacA subtypes of Helicobacter pylori in relation to histopathologic findings in Iranian population. Indian Journal of Pathology and Microbiology. 2010; 53(1):24.
23. Dousti A, Rahimian Gh, Nasiri J, Yavari foroshani P. Identification the frequency of cytotoxin associated gene in H.pylori strain isolated form biopsy samples in Shahrekord. journal of Armaghan danesh.2007;29(1):12-38.[persian]
24. Douraghi M, Mohamadi M, Shirazi M.H, Esmaili M, et al. Evaluation of cytotoxin associated gene with gastric disorders in H.pylori infected patients. Journal of Iran medical microbiology.2008; 2(1): 31-6.[persian]
25. Shokouhi zadeh L, Mohabati A, Sadeghi zadeh M, et al. Identification the relation of cagA of H.pylori with endoscopic findings. Kosar medical journal. 2006; 11(3): 261-6.[persian]