پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال پانزدهم، شماره ۴، پی در پی ۷۶، صفحات ۱۳۷ تا ۱۴۲
مهر و آبان ۱۳۸۹

تاریخ دریافت مقاله: ۸۸/۴/۱۴
تاریخ پذیرش مقاله: ۸۹/۵/۲۶

بررسی ارتباط ژن‌های cagA و cagE موجود در هلیکوباکترپیلوری با مشکلات معده در بیماران ایرانی

دکتر کاوه بقایی[1]، لیلا شکرزاده[2]، فرشته جعفری[2]، مهدی بلفیون[2]، دکتر رضا مشایخی[3]، دکتر همایون زجاجی[4]، دکتر محمدرضا زالی[5]*

۱- محقق، دکترای زیست شناسی سلولی‌مولکولی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲- محقق، کارشناس ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۳- متخصص پاتولوژی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۴- استادیار، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۵- استاد، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

چکیده

سابقه و هدف: هلیکوباکتر پیلوری از باکتری‌های مهم بیماریزا و یکی از عوامل ایجاد سرطان معده در دنیا محسوب می‌شود. بیماریزایی این باکتری را به طور عمده به جزایر پاتوژنیک موجود در ژن‌های این باکتری نسبت می‌دهند که شناخته شده‌ترین ژن‌ها در این جزایر، ژن‌های cagA و cagE می‌باشند. هدف این مطالعه، تعیین ارتباط این جزایر پاتوژنیک با علائم کلینیکی در میان بیماران ایرانی بوده است.

مواد و روشها: شناسایی هلیکوباکتر پیلوری توسط کشت و ژن glmM صورت گرفت. تکثیر توالی DNA برای دو ژن cagA و cagE به وسیله واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) انجام شد.

یافته‌ها: از مجموع ۳۱۱ بیمار مراجعه‌کننده به بخشهای گوارش، ۲۳۱ بیمار هلیکوباکتر پیلوری مثبت گزارش شدند که از این تعداد ۱۵۴ (۶۶/۷٪) مورد با cagA و ۹۰ (۳۹٪) مورد با ژن cagE همراه بود. ارتباط معنی‌داری میان ژن‌های cagA و cagE و تظاهرات بالینی بیماران از جمله گاستریت، زخم معده و سرطان معده به دست نیامد.

نتیجه‌گیری: ارتباط معنی‌داری میان ژن‌های cagA و cagE و تظاهرات بالینی بیماران به دست نیامد و این ژن‌ها به عنوان فاکتورهایی به منظور افتراق منشاء بیماریها تشخیص داده نشدند؛ این نتایج با نتایج مطالعات قبلی انجام شده در کشور تطابق داشت. همچنین برخلاف برخی مطالعات ژن cagA نسبت به ژن cagE به عنوان مارکر بهتری برای cagPAI تشخیص داده شد.

واژگان کلیدی: cagA، cagE، هلیکوباکتر پیلوری، اختلالات گوارشی.

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Baghaei K, Shokrzadeh L, Jafari F, Bolfion M, Mashayekhi R, Zojaji H, Zali MR. Association between gastric disorders and cagA or cagE in Iranian patients. Pejouhandeh 2010;15(4):137-42.

مقدمه

هلیکوباکترپیلوری پاتوژن بسیار مهمی برای بیماران گوارشی محسوب می‌شود. در اکثر موارد این باکتری باعث التهابات مزمن معدی بدون علائم بالینی می‌گردد؛ همچنین می‌تواند باعث ایجاد بیماریهای جدی از قبیل زخم معده، مالت و سرطان معده در برخی افراد گردد (۱).

اگرچه روند بیماریزایی هلیکوباکتر به صورت کامل شناخته نشده است اما چندین فاکتور از جمله جزایر بیماریزای cag (cag pathogenicity island (cag PAI)) به عنوان عوامل مهم بیماریزایی شناخته شده‌اند (۲). جزایر پاتوژنیک یا cagPAI با اندازه‌ای در حدود ۴۰ کیلو باز (Kb) سیستم ترشحی تیپ IV مربوط به هلیکوباکترپیلوری را کد می‌کنند که از طریق آن پروتئین cagA به داخل سلول میزبان منتقل می‌گردد و پس از آن با فسفریله شدن انتهای ژن cagA (توالی EPIYA) که برروی جزایر پاتوژنیک قرار گرفته، سلول به سمت بی‌نظمی

*نویسنده مسؤول مکاتبات: دکتر کاوه بقایی؛ تهران، ولنجک، خیابان یمن، بیمارستان طالقانی، مرکز تحقیقات گوارش و کبد، دپارتمان اسهال و بیماریهای ناشی از غذا؛ پست الکترونیک: kavehbaghai@gmail.com

پیش می‌رود (۳). ژن cagA در بخش فرودست یعنی در ناحیه cagI قرار گرفته است و به عنوان مارکری برای این ناحیه به حساب می‌آید. ارتباط میان حضور گونه‌های cagA مثبت با بیماریهای جدی گوارشی به خصوص در کشورهای غربی و همچنین کشورهای آسیای شرقی مانند ژاپن به طور مکرر گزارش شده است (۷-۴). از طرف دیگر، اکثر مطالعات قبلی در ایران ارتباطی میان cagA و تظاهرات بالینی در بیماران را نشان نداده‌اند (۱۳-۸).

ژن cagE نیز بر روی ناحیه cagI و در نزدیکی ژن *cagA* قرار گرفته است و حضور آن برای تحریک ترشح IL-8 از سلول‌های اپیتلیال ضروری است (۲). در برخی مطالعات ژن cagE به عنوان مارکر مناسب‌تری نسبت به cagA برای ناحیه cagI و بیماریزایی cagPAI شناخته شده است. همچنین این ژن را شاخص بهتری برای بررسی روند بیماریزایی هلیکوباکترپیلوری دانسته‌اند (۱۴). این نتایج نشان می‌دهد که نه تنها حضور cagA بلکه همچنین وجود cagE و بررسی نقش آنها برای درک روند بیماریزایی cag PAI ضروری است، از آنجا که گزارشات زیادی پیرامون اهمیت ژن‌های cagA و cagE در ایران وجود ندارد، هدف از این مطالعه بررسی ارتباط cagA و cagE و تظاهرات بالینی در بیماران ایرانی است.

مواد و روشها

در فاصله زمانی فروردین تا دی ماه ۱۳۸۷، ۳۱۱ بیمار به دلیل مشکلات گوارشی به بیمارستان طالقانی و مهراد تهران مراجعه کردند که همگی آنها تحت آندوسکپی قرار گرفتند و برای همگی آنها فرم اخلاق و فرم جمع‌آوری اطلاعات تهیه شد. بر این اساس، افرادی برای این مطالعه انتخاب شدند که با هلیکوباکترپیلوری آلوده بودند و حداقل تا یک ماه قبل از آندوسکوپی دارو مصرف نکرده بودند.

تظاهرات بالینی در میان بیماران شامل زخم معده، گاستریت و سرطان بود. تشخیص زخم معده هنگام آندوسکوپی و توسط پزشک متخصص صورت گرفت، همچنین سرطان و میزان شدت گاستریت توسط روشهای پاتولوژی تشخیص داده شد. سپس به منظور بررسیهای ژنتیکی و پاتولوژیک در هنگام آندوسکوپی نمونه‌برداری شد که در مجموع از سه بیوپسی گرفته شده از ناحیه آنتروم، از دو بیوپسی برای بررسیهای پاتولوژیک و از یک بیوپسی برای بررسیهای میکروبی استفاده شد. دو نمونه گرفته شده برای بررسی پاتولوژی به مدت یک شبانه روز در محلول فرمالین قرار داده شد تا تثبیت گردند. سپس به ضخامت ۳ میکرومتر برش داده شدند تا تحت رنگ‌آمیزی هماتوکسیلن- ائوزین قرار گیرند. سپس این برشها توسط دو متخصص پاتولوژی بررسی گردیدند. درجه التهاب مخاط معده، گلاندولار آتروفی و اینتستینال متاپلازیا برحسب سیستم سیدنی تقسیم‌بندی شدند (۱۵).

جهت بررسی ژنتیک باکتری، نمونه‌ها در محیط انتقالی شامل تایوگلیکولات با ۱/۳ گرم آگار و ۳٪ عصاره مخمر از محل آندوسکوپی به آزمایشگاه انتقال داده شدند. سپس نمونه‌های انتقالی بر روی محیط Brain Heart Infusion agar (BHI) با ۱۰٪ خون گوسفند دفیبرینه و همراه با مکمل کمپیلوباکتر (Merck Co Humbuerg, Germany) کشت داده شدند. پس از آن پلیت‌های کشت داده شده در ۳۷ درجه به مدت ۳ تا ۷ روز در شرایط میکروآئروفیلیک (O2 ۵٪ ، Co2 ۱۰٪ و N2 ۸۵٪) انکوبه شدند. سپس باکتری مورد نظر بر اساس تست‌های اکسیداز، کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم تشخیص داده شد. در نهایت DNA این باکتری‌ها توسط کیت استخرج QIAamp (Qiagen, Hilden, Germany) استخراج شد و برای تأیید مولکولی باکتری هلیکوباکترپیلوری از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) جهت تکثیر ژن glmM استفاده شد. همچنین برای شناسایی ژن‌های cagA و cagE از تکنیک PCR استفاده شد. پریمرهای ژن‌های ذکر شده در جدول ۱ موجود است (۱۷-۱۶). واکنشهای PCR همگی در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد که شامل 10 X PCR buffer، 500 nM از هر پرایمر، 2 mM Mgcl2، 200 uM از هر dNTP، 1.5 U Taq DNA polymerase و 200 ng از DNA نمونه بود. حجم نهایی واکنش با آب مقطر اتوکلاو شده به ۲۵ میکرولیتر رسید.

شرایط تکثیر رشته DNA در دستگاه ترموسایکلر به صورت زیر بهینه شد: ذوب اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت، سپس ۳۰ دور شامل دمای ذوب ۹۳ درجه به مدت ۱ دقیقه و دمای چسبندگی (Tm) به ترتیب ۵۸، ۵۷ و ۶۳ درجه برای ژنهای cagA، glmM، cagE استفاده شد. همچنین دمای اتساع (extension) به مدت ۱ دقیقه و به دنبال آن دمای اتساع نهایی در ۷۲ درجه برای ۱۰ دقیقه دنبال شد. سپس محصول PCR بر روی ژل ۱/۲٪ توسط UV مشاهده شد. DNA سویه H. pylori 26695 به عنوان کنترل مثبت برای cagPAI به کار رفت.

جدول ۱- پرایمرهای به کار رفته در مطالعه حاضر

ژن	نام پرایمر	توالی پرایمر ('3-'5)	اندازه محصول PCR*	منابع
glmM	glmM1-R	GCTTACTTTCTAACACTAACGCGC	۲۹۶	۱۶
	glmM2-F	GGATAAGCTTTTAGGGGTGTTAGGGG		
cagA	cagA F1	AACAGGACAAGTAGCTAGCC	۳۴۹	۱۶
	cagA R1	TATTAATGCGTGTGTGGCTG		
cagE	cagE F	GTTACATCAAAAATAAAAGGAAGCG	۷۳۳	۱۷
	cagE R	CAATAATTTTGAAGAGTTTCAAACG		

*PCR: Polymerase Chain Reaction

متغیرهایی همچون جنسیت، میانگین سنی و شیوع ژن‌های cagA، cagE (مثبت یا منفی) در این مطالعه لحاظ گردید. تفاوتهای آماری در شاخصهای دموگرافیک در میان گروههای مختلف بیماران به وسیله تست Chi-square بررسی شد. همچنین ارتباط میان ژنوتایپ باکتری و تظاهرات بالینی به وسیله تست‌های Chi-square و Student's-t محاسبه گردید. آنالیز کلیه اطلاعات به وسیله نرم‌افزار SPSS انجام شد. p معنی‌دار برای کلیه محاسبات زیر ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

هلیکوباکترپیلوری از ۲۳۱ بیمار شامل ۹۵ مرد و ۱۳۶ زن با میانگین سنی ۴۳/۹ سال جدا شد. تظاهرات بالینی این بیماران شامل ۱۸۲ مورد گاستریت، ۱۶ مورد دئودنال اولسر، ۲ مورد گاستریک اولسر و ۲۳ مورد حضور همزمان دئودنال اولسر و گاستریک اولسر بود. همچنین در ۸ مورد سرطان معده گزارش گردید. از آنجایی که تعداد بیماران با حضور همزمان گاستریک و دئودنال اولسر غالب بود و تعداد بیمارانی که تنها مبتلا به گاستریک اولسر بودند بسیار کم بود، در تقسیم‌بندی کلیه آنها در گروه افراد مبتلا به زخم معده (PUD) بررسی شدند.

از میان ۲۳۱ بیمار هلیکوباکترپیلوری مثبت مطالعه شده، در مجموع ۱۵۴ (۶۶/۷٪) بیمار با سویه‌های cagA مثبت آلوده بودند (جدول ۲). تمامی بیماران مورد بررسی در این مطالعه بر اساس تظاهرات بالینی به سه گروه گاستریت، زخم معده (PUD) و سرطان معده (GC) تقسیم شدند. از میان ۱۸۲ بیمار مبتلا به گاستریت ۱۲۷ نفر (۶۹/۷٪)، از میان ۴۱ بیمار مبتلا به زخم معده ۲۲ نفر (۵۳/۶٪)، و از میان ۸ نفر مبتلا به سرطان معده ۵ نفر (۶۲/۵٪) با سویه‌های cagA مثبت آلوده بودند. هیچ ارتباط معنی‌داری بین حضور ژن cagA و تظاهرات بالینی (جدول ۲) و همچنین میان تظاهرات بالینی با سن و جنس (جدول ۳) به دست نیامد. لازم به ذکر است موارد گاستریت بر اساس دستاوردهای پاتولوژی تقسیم‌بندی گردید که شامل موارد زیر بود: -عدم التهاب، که به صورت No acute inflammation (Polymorph nuclear cell infiltration) گزارش گردید، -حالت میانی که شامل none to mild chronic inflammation (mononuclear cell infiltration) بود و -عدم آتروفی معدی و یا بی‌نظمی روده‌ای، که به عنوان mild gastritis در نظر گرفته شد.

ژن cagE در ۳۹٪ (۹۰/۲۳۱) سویه‌های جدا شده از بیماران یافت شد. شیوع ژن cagE در بیماران مبتلا به گاستریت ۳۹٪ (۷۱/۱۸۲) و در مبتلایان به زخم معده ۴۳/۹٪ (۱۸/۴۱) بود. همچنین تنها در یک مورد از بیماران مبتلا به سرطان معده این ژن یافت شد (۱۲/۵٪). ژن cagE نیز همانند cagA هیچ ارتباط معنی‌داری را با علائم بالینی نشان نداد (جدول ۲). همچنین حضور همزمان cagA و cagE در ۳۰ (۱۳٪) بیمار گزارش شد.

جدول ۲- توزیع بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی بر اساس نوع بیماری و حضور ژن‌های محتلف در جزایر پاتوژنیک

	گاستریت (تعداد: ۱۸۲)	زخم معده (تعداد: ۴۱)	سرطان معده (تعداد: ۸)	مجوع (تعداد: ۲۳۱)
cagA+	۱۲۷ (٪۶۹/۷)	۲۲ (٪۵۳/۶)	۵ (٪۶۲/۵)	۱۵۴ (٪۶۶/۷)
cagE+	۷۱ (٪۳۹/۰)	۱۸ (٪۴۳/۹)	۱ (٪۱۲/۵)	۹۰ (٪۳۹/۰)
cagA+/cagE+	۲۴ (٪۱۳/۲)	۶ (٪۱۴/۶)	۰ (٪۰/۰)	۳۰ (٪۱۳/۰)
cagA-/cagE+	۱۲ (٪۶/۶)	۳ (٪۷/۳)	۰ (٪۰/۰)	۱۵ (٪۶/۵)
cagA+/cagE-	۵۹ (٪۳۲/۴)	۶ (٪۱۴/۶)	۵ (٪۶۲/۵)	۷۰ (٪۳۰)
cagA-/cagE-	۳۴ (٪۱۸/۷)	۱۱ (٪۲۶/۸)	۲ (٪۲۵)	۴۷ (٪۲۰/۳)

جدول ۳- توزیع بیماران مبتلا به اختلالات گوارشی بر اساس نوع بیماری، سن و جنس

سن	گاستریت (تعداد: ۱۸۲)		زخم معده (تعداد: ۴۱)		سرطان معده (تعداد: ۸)	
	مردان	زنان	مردان	زنان	مردان	زنان
۱۵-۳۰	۶ (٪۸/۸)	۱۳ (٪۱۱/۴)	۲(٪۸/۶)	۳(٪۱۶/۶)	۰	۱ (٪۲۵)
۳۰-۴۵	۱۸ (٪۲۶/۴)	۳۵ (٪۳۰/۷)	۹(٪۳۹/۱)	۵ (٪۲۷/۷)	۱ (٪۲۵)	۰
۴۵-۶۰	۲۱(٪۳۰/۰۸)	۲۷ (٪۲۳/۶)	۷ (٪۳۰/۰۴)	۸ (٪۴۴/۴)	۱ (٪۲۵)	۲ (٪۵۰)
> ۶۰	۲۳ (٪۳۳/۸)	۳۹ (٪۳۴/۲)	۵ (٪۲۱/۷)	۲(٪۱۱/۱)	۲ (٪۵۰)	۱(٪۲۵)
مجموع	۶۸	۱۱۴	۲۳	۱۸	۴	۴

بحث

ژن‌های موجود بر روی cagPAI تنوع بسیار زیادی را در سراسر دنیا نشان می‌دهند. گزارشاتی وجود دارد که تنوع ژنتیکی جزایر بیماریزا را بر اساس فاکتورهای جغرافیایی مختلف و دفاع سیستم ایمنی میزبان در برابر عفونت طولانی مدت هلیکوباکترپیلوری توجیه می‌کند؛ این تغییر ژنتیکی در تغییر فنوتیپی بیماریهای گوارشی مؤثر است (۱۸). مطالعات به ویژه در کشورهای اروپایی نشان داده است که حضور ژن cagA با تظاهرات بالینی شدید و با کلونیزه شدن این باکتری در معده افراد همراه است؛ همچنین باکتری‌های حامل این ژن باعث تحریک بیشتر پاسخهای التهابی نسبت به باکتری‌های cagA منفی می‌شوند (۲۰-۱۹). اما از سوی دیگر این مشاهدات در کشورهای آسیایی تأیید نشده است، در حالیکه شیوع ژن cagA در این کشورها بالاست (۲۲-۲۱). همچنین بر اساس مطالعاتی که به تازگی در کره، ژاپن و چین انجام شده است ارتباط میان بیماریزایی ژن cagA و تظاهرات بالینی مانند سرطان معده پس از آلودگی با هلیکوباکترپیلوری مشخص نشده است (۲۳). در این مطالعه نیز ارتباطی میان cagA با علائم بالینی در بیماران ایرانی به دست نیامد که البته این نتیجه با نتایج قبلی گزارش شده از ایران هماهنگ بود (۹، ۱۳-۱۲). همچنین ساب‌تایپ‌های ژن cagA که بر اساس توالیهای تکراری انتهای آنها به دو فرم شرقی و غربی تقسیم‌بندی می‌شوند نیز در شدت بیماریزایی باکتریی مؤثرند (۲۵-۲۴)؛ به طوری‌که ژن cagA با تکرارهای بالاتر توالیهای انتهایی (تیپ شرقی) دارای قدرت بیماریزایی بیشتری از تیپ غربی (با توالیهای کمتر) هستند (۲۴ و ۲۶). از اینرو مطالعات بیشتری برای تعیین زیرگونه‌های ژن cagA و بررسی ارتباط آن با شدت بیماری در بیماران ایرانی کاملا ضروری است.

در مطالعات قبلی، ژن cagE نسبت به cagA مارکر بهتری برای cagPAI گزارش شده است. همچنین در بررسیهای انجام شده در ژاپن، نقش آن در پیشرفت بیماری مهمتر از cagA تشخیص داده شده است (۱۴). اما مطالعه حاضر نشان داد که ژن cagA همچنان به عنوان مارکر بهتری برای cagPAI به حساب می‌آید تا cagE. البته در این تحقیق ارتباط معنی‌داری بین حضور cagE و علائم بالینی در بیماران ایرانی به دست نیامد که این نتیجه با نتایج به دست آمده توسط محققین دانشگاه علوم پزشکی مازندران مشابهت دارد (۲۷)، بدین معنی که ژن مذکور فاکتور مناسبی برای تفکیک مشکلات گوارشی در میان بیماران ایرانی محسوب نمی‌گردد. همچنین مطالعه حاضر، حضور همزمان ژن cagE و cagA را در تعداد کمی از نمونه‌ها ۳۰ (۱۳٪) نشان داد که خود نشان‌دهنده عدم یکپارچگی جزایر پاتوژنیک در سویه‌های جدا شده از بیماران ایرانی است. از آنجا که در مطالعات زیادی (۱۴، ۱۶ و ۲۸) جزایر پاتوژنیک را به صورت کامل و بدون حذف بخش یا قسمتی از آن عامل بیماریهای معده دانسته‌اند، می‌توان یکی از دلایل عدم به دست آمدن ارتباط معنی‌دار میان ژنتیک هلیکوباکترپیلوری و بیماریزایی آن را وجود جزایر پاتوژنیک با حذفهای بخشی (Partial Deletion) آن دانست.

نتیجه‌گیری

با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، ارتباط معنی‌داری میان حضور ژن cagA و علائم بالینی بیماران بدست نیامد، اما از سوی دیگر همچنان می‌توان ژن cagA را مارکر بهتری برای تعیین حضور cagPAI در مقایسه با cagE درسویه‌های جدا شده از بیماران ایرانی دانست .

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از کلیه محققین دپارتمان بیماریهای ناشی از غذا و همچنین دپارتمان آمار مرکز تحقیقات کبد و گوارش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی به ویژه آقای دکتر پور حسینقلی کمال تشکر و قدردانی را می‌نمایند. همچنین لازم به ذکر است مقاله حاضر نتیجه طرح تحقیقاتی به شماره ۳۸۱ مصوب مرکز تحقیقات کبد و گوارش دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی می‌باشد.

REFERENCES

1. Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. N Engl J Med 2002;347(15):1175-86.
2. 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. Proc Natl Acad Sci U S A 1996;93(25):14648-53.
3. Backert S, Selbach M. Role of type IV secretion in Helicobacter pylori pathogenesis. Cell Microbiol 2008;10(8):1573-81.
4. Blaser MJ, Perez-Perez GI, Kleanthous H, Cover TL, Peek RM, Chyou PH, et al. Infection with Helicobacter pylori strains possessing cagA is associated with an increased risk of developing adenocarcinoma of the stomach. Cancer Res 1995;55(10):2111-5.
5. Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SG, Blaser MJ. Helicobacter pylori and atrophic gastritis: importance of the cagA status. J Natl Cancer Inst 1995;87(23):1777-80.
6. Nomura AM, Lee J, Stemmermann GN, Nomura RY, Perez-Perez GI, Blaser MJ. Helicobacter pylori CagA seropositivity and gastric carcinoma risk in a Japanese American population. J Infect Dis 2002;186(8):1138-44.
7. Parsonnet J, Friedman GD, 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.
8. Mansour-Ghanaei F, Abbasi R, Joukar F, Besharati S, Askari-Jirhandeh N. Anti CagA antibody among patients with non-cardia gastric cancer in comparison with non-ulcer dyspepsia in an area with high incidence of gastric cancer. Saudi Med J 2008;29(11):1606-10.
9. Hussein NR, Mohammadi M, Talebkhan Y, Doraghi M, Letley DP, Muhammad MK, et al. Differences in virulence markers between Helicobacter pylori strains from Iraq and those from Iran: potential importance of regional differences in H. pylori-associated disease. J Clin Microbiol 2008;46(5):1774-9.
10. Talebkhan Y, Mohammadi M, Mohagheghi MA, Vaziri HR, Eshagh Hosseini M, Mohajerani N, et al. cagA gene and protein status among Iranian Helicobacter pylori strains. Dig Dis Sci 2008;53(4):925-32.
11. Farshad S, Japoni A, Alborzi A, Hosseini M. Restriction fragment length polymorphism of virulence genes cagA, vacA and ureAB of Helicobacter pylori strains isolated from Iranian patients with gastric ulcer and nonulcer disease. Saudi Med J 2007;28(4):529-34.
12. Kamali-Sarvestani E, Bazargani A, Masoudian M, Lankarani K, Taghavi AR, Saberifiroozi M. Association of H pylori cagA and vacA genotypes and IL-8 gene polymorphisms with clinical outcome of infection in Iranian patients with gastrointestinal diseases. World J Gastroenterol 2006;12(32):5205-10.
13. Jafari F, Shokrzadeh L, Dabiri H, Baghaei K, Yamaoka Y, Zojaji H, et al. vacA genotypes of Helicobacter pylori in relation to cagA status and clinical outcomes in Iranian populations. Jpn J Infect Dis 2008;61(4):290-3.
14. Ikenoue T, Maeda S, Ogura K, Akanuma M, Mitsuno Y, Imai Y, et al. Determination of Helicobacter pylori virulence by simple gene analysis of the cag pathogenicity island. Clin Diagn Lab Immunol 2001;8(1):181-6.
15. Dixon MF, Genta RM, Yardley JH, Correa P. Classification and grading of gastritis. The updated Sydney System. International Workshop on the Histopathology of Gastritis, Houston 1994. Am J Surg Pathol 1996;20(10):1161-81.
16. Kauser F, Hussain MA, Ahmed I, Srinivas S, Devi SM, Majeed AA, et al. Comparative genomics of Helicobacter pylori isolates recovered from ulcer disease patients in England. BMC Microbiol 2005;5:32.
17. Matteo MJ, Granados G, Pérez CV, Olmos M, Sanchez C, Catalano M. Helicobacter pylori cag pathogenicity island genotype diversity within the gastric niche of a single host. J Med Microbiol 2007;56(Pt 5):664-9.
18. Blaser MJ, Berg DE. Helicobacter pylori genetic diversity and risk of human disease. J Clin Invest 2001;107(7):767-73.
19. Basso D, Zambon CF, Letley DP, Stranges A, Marchet A, Rhead JL, et al. Clinical relevance of Helicobacter pylori cagA and vacA gene polymorphisms. Gastroenterology 2008;135(1):91-9.
20. Gunn MC, Stephens JC, Stewart JA, Rathbone BJ, West KP. The significance of cagA and vacA subtypes of Helicobacter pylori in the pathogenesis of inflammation and peptic ulceration. J Clin Pathol 1998;51(10):761-4.
21. Yamaoka Y, Kodama T, Gutierrez O, Kim JG, Kashima K, Graham DY. Relationship between Helicobacter pylori iceA, cagA, and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. J Clin Microbiol 1999;37(7):2274-9.

22. Maeda S, Ogura K, Yoshida H, Kanai F, Ikenoue T, Kato N, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in Helicobacter pylori isolates in Japan. Gut 1998;42(3):338-43.

23. Li X, Liu W, Xu W, Shi Y, Xiao S. Clinical implications and prevalence of cagA, cagE and cagT genes in the pathogenicity island of Helicobacter pylori strains isolated from Shanghai patients. Chin J Dig Dis 2001;2(3):133-6.

24. Yamaoka Y, Kodama T, Kashima K, Graham DY, Sepulveda AR. Variants of the 3' region of the cagA gene in Helicobacter pylori isolates from patients with different H. pylori-associated diseases. J Clin Microbiol 1998;36(8):2258-63.

25. Yamaoka Y, Orito E, Mizokami M, Gutierrez O, Saitou N, Kodama T, et al. Helicobacter pylori in North and South America before Columbus. FEBS Lett 2002;517(1-3):180-4.

26. Yamaoka Y, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Figura N, Kim JG, Kodama T, et al. Relationship between the cagA 3' repeat region of Helicobacter pylori, gastric histology, and susceptibility to low pH. Gastroenterology 1999;117(2):342-9.

27. Shirazi MH, Pourmand MR, Haghshenas MR, Rezaee VA. Prevalence of helicobacter pylori CagE genotypes, in patients with non-ulcer dyspepsia. J Mazandaran Univ Med Sci 2008;18(64):37-43. (Full text in Persian)

28. Kauser F, Khan AA, Hussain MA, Carroll IM, Ahmad N, Tiwari S, et al. The cag Pathogenicity Island of Helicobacter pylori Is Disrupted in the Majority of Patient Isolates from Different Human Populations. J Clin Microbiol 2004;42(11):5302–8.