Archive of SID

تعیین ژنوتایپ غالب *Helicobacter pylori* در بیماران مبتلا به زخم های دستگاه گوارش فوقانی در شهرستان تنکابن

مرضیه دلیرکوهی[۱]، مهدی آسمار*[۲]، نورامیر مظفری[۳]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، دانشکده علوم پایه، گروه میکروبیولوژی، لاهیجان، ایران، صندوق پستی: ۱۶۱۶

۲*- انستیتو پاستور ایران، گروه انگل شناسی، تهران، ایران، صندوق پستی: ۱۳۱۶۹۴۳۵۵۱

۳- دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی- درمانی ایران،گروه میکروبیولوژی، تهران، ایران.

mehdiassmar@yahoo.com

چکیده

Helicobater pylori در موکوس معده کلونیزه می شود و انواعی از تظاهرات بالینی در دستگاه گوارشی فوقانی ایجاد می کند، نتایج بالینی عفونت *Helicobater pylori* ممکن است در ارتباط با وجود یا عدم وجود ژن cagA یا iceA باشد. به منظور بررسی وجود ژن cagA وiceA در سویه های*Helicobater pylori* مرتبط با گاستریت، زخم معده و زخم اثنی عشر، ۸۰ نمونه بیوپسی از بیماران آلوده به *Helicobater pylori* تهیه گردید. برای نمونه های بیوپسی تست اوره آز گذاشته شد که *Helicobater pylori* از ۲۵ بیمار جداسازی شد نمونه ها در فریزر ۲۰- نگهداری شد، بعد از استخراج DNA حضور ژن های cagA وiceA با روش Allelic specific PCR بررسی شد. از میان نمونه های مورد بررسی ۲۵ مورد هلیکوباکترپیلوری جداسازی شده پس از انجام PCR فراوانی ژن iceA در سویه‌های مرتبط با گاستریت، زخم معده و زخم اثنی عشر به ترتیب برابر بود با٪ ۲۵، ٪۵۰ و ٪۲۵. آلل $iceA_1$ با ٪۷۵ دارای بیشترین فراوانی بود. فراوانی ژن cagA در سویه های مرتبط با گاستریت، زخم معده و زخم اثنی عشر به ترتیب برابر ۳۶/۳۶٪، ۵۰٪، ۱۶/۱۶٪بود. با توجه به نتایج این مطالعات می توان استنباط نمود که وجود ژن cagA در سویه های*Helicobater pylori* می تواند منجر به نوع شدید بیماری از جمله زخم های پپتیک گردد، اما در مجموع نمی‌توان ژنی از این باکتری را به عنوان شاخص برای تعیین سرانجام بالینی عفونت با *Helicobater pylori* پیشنهاد نمود و اختلاف بروز ژن iceA در مطالعه و نیز اختلاف نوع ژن در فرم های بالینی در کشورهای مختلف را می‌توان به انتشار جغرافیایی مرتبط دانست.

کلمات کلیدی: تنکابن، *Helicobater pylori*، ژنcagA، ژنiceA، زخم پپتیک.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

Helicobater pylori یک باکتری مارپیچی است که در مخاط معده و اثنی عشر زیست می کند. این باکتری در ایجاد التهاب معده و اثنی عشر و شکل گیری زخم‌های پپتیک دخالت دارد (۱۶و۲۲).

بر اساس نتایج مطالعات مختلف می توان گفت که فاکتورهای محیطی، خصوصیات ژنتیکی میزبان و فاکتورهای بیماریزایی باکتری در نتیجه نهایی بیماران ممکن است سهیم باشند (۹، ۲۲و ۲۴).

از جمله عواملی که بیشتر مورد توجه قرار گرفته است فاکتورهایی بیماریزایی نظیر فلاژل، ادهسین، سیتوتوکسین واکوئل زا و ... می باشند که اصلی ترین آنها ژنهای cagA و iceA می باشد (۹و۲۴). یکی از عملکردهای مهم عناصر کدشونده توسط جزیره پاتوژنیسیته cag، فعال کردن و تحریک واکنش های ایمنی می باشد که از آن جمله می توان به فعال شدن فاکتورهای رونویسی از قبیل $NFkB, AP\text{-}1^{3}$ اشاره نمود. فعال شدن این فاکتورهای رونویسی باعث بیان ژن های متعددی شامل ژن های سرطانزا، ژن های کد کننده کموکاین ها و نیز ژن های فعال کننده چرخه‌های آنتی آپوپتوزیس می گردند (۱۴، ۱۸، ۱۹و ۲۰). برخی از ژن های cag، پروتئین های مربوط به سیستم های ترشحی را کد می کنند (۲۳، ۲۵، ۲۸و ۲۹). یکی از ژن‌های مربوط به این جزیره +cagA می‌باشد.

عفونت با سویه های حاوی ژنcagA با بیماری زخم معده، گاستریت آتروفیک و سرطان معده مرتبط می باشد. مطالعات اخیر نشان داده اند که cagA از بیش از ۳۰ ژن تشکیل شده است و اهمیت محصولات این ژن ها در تحریک پاسخ های کموکین اپتیلیوم معده به اثبات رسیده است (۱۷). در کشورهای غربی آلودگی با سویه هایcagA مثبت، به عنوان مارکری همراهی با زخم های معده، اثنی عشر و سرطان معده دیده شده است اما در کشورهای آسیایی چون اکثر افراد آلوده شده با *Helicobater pylori* سویه های cagA مثبت هستند همراهی و ارتباط میان سویه های cagA مثبت و عواقب بیماری مشخص نمی باشد (۲۱).

اما ژن iceA اخیراً به عنوان یک شاخص ژنتیکی برای پیشرفت و تکامل بیماری زخم اثنی عشر در شرق شناخته شده است. این ژن توسط Peek و همکارانش معرفی شد(۲۴). iceA دارای دوالل $iceA_1$ و $iceA_2$ می باشد. آلل $iceA_1$ پروتئین مشابه آنزیم اندونوکلئاز nlaIIIR در *Neisseria lactamica* را کد می‌کند و $iceA_2$ پروتئین با ۵۹ اسید آمینه را کد می‌کند و به $iceA_1$ وابسته نیست (۷)، بیان یکی از این دو به شیوع جغرافیایی بستگی دارد (۵و۸).

در این مطالعه وجود ژن cagA و iceA در سویه‌های *Helicobater pylori* مرتبط با بیماری های گاستریت و زخم های پپتیکی مطالعه شد.

با توجه به اینکه در شهرستان تنکابن هیچگونه مطالعه‌ای مولکولی مبنی بر تعیین ژنوتایپ این باکتری انجام نشده است لذا من بر آن شدم با تعیین ژنوتایپ غالب باکتری مزبور شناسنامه ژنتیکی این باکتری را مشخص نمایم تا بر اساس نتایج حاصله بتوان در آینده گامهای مؤثری را در پیشگیری از این بیماری برداشت.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش ها

در این مطالعه ۸۰ نمونه بیوپسی از بیماران با مشکلات فوقانی دستگاه گوارش توسط پزشک متخصص بخش اندوسکوپی بیمارستان شهید رجائی تنکابن تهیه گردید. روی نمونه های بیوپسی تست اوره آز انجام شد. نمونه های بیوپسی اوره آز مثبت داخل ویال های کوچک حاوی سرم فیزیولوژی در فریزر ۲۰°C- جهت استخراج DNA و انجام کارهای مولکولی نگهداری شدند.

جهت استخراج DNA از کیت استفاده شد High pure PCR Template preparation kit که از شرکت دید تازه در ایران خریداری شد.

پس از استخراج DNA هر نمونه تا انجام PCR در دمای ۲۰°C- نگهداری گردید. توالی پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر بخشی از قطعه ژن cagA و iceA، $iceA_1$ و $iceA_2$ که در مطالعات قبلی طراحی گردیده است در جدول ۱ آمده است. رفرنس مقالاتی که این پرایمرها از آن استخراج شده در جدول آمده است.

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده و سکوانس آنها

پرایمر	سکوآنس ۵′ ⟶ ۳′	محصول PCR	رفرنس
iceA	GATCATGGCCTACAACCGCATGGA GGGTGCGATTTGCGTGGGCGATG	۹۷۴	۳۱
$iceA_1$	CTATAGCCAGTCTCTTTGCA GTGTTTTTAACCAAAGTATC	۲۴۶	۴
$iceA_2$	GTTGGGTATATCACAATTTAT TTGCCCTATTTTCTAGTAGGT	۳۳۴	۴
CagA	GATCTCGGTGGGTCTTTTC TCTTTTACGGCATTGTTCA	۵۰۶	۱۱

جهت تکثیر قطعه مورد نظر از ژن، از مواد زیراستفاده گردید.

جدول ۲: مواد مورد استفاده جهت تکثیر قطعه مورد نظر از ژن

PCR buffer	2.5 µ
$Mgcl_2$	2.5µ
Primer F	2µ
Primer R	2µ
dNTP	2µ
Tag DNA polymerase	2µ
DNA	1µ

www.SID.ir

Archive of SID

تکثیر قطعه مورد نظر در دستگاه ترموسایکلر طبق برنامه زیر انجام گردید.

جدول ۳: برنامه PCR ژن cagA

Cycle	Time (min)	temperature	Definition	Step	program
1	8	94	Heat start	۱	Prog.1
40 40 40	1 1 1	94 57 72	Denaturation Annaling Extension	1 2 3	Prog.2
1	7	72	Final extension	1	Prog.3

جدول ۴: برنامه PCR ژن iceA

Cycle	Time (min)	temperature	Definition	Step	program
1	5	94	Heat start	۱	Prog.1
35 35 35	1 1 2	94 57 72	Denaturation Annaling Extension	1 2 3	Prog.2
1	5	72	Final extension	1	Prog.3

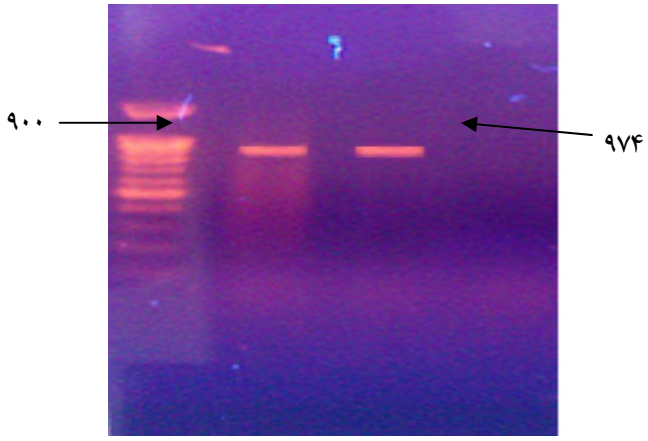
جدول ۵: برنامه PCR ژن $iceA_1$ و $iceA_2$

Cycle	Time (min)	temperature	Definition	Step	program
1	5	94	Heat start	۱	Prog.1
35 35 35	1 1 1	94 57 72	Denaturation Annaling Extension	1 2 3	Prog.2
1	5	72	Final extension	1	Prog.3

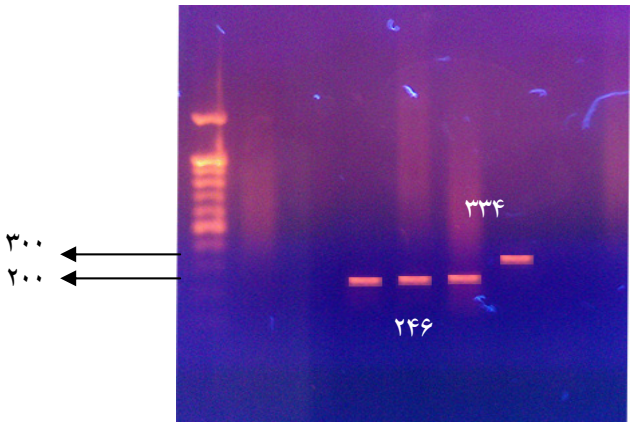
www.SID.ir

Archive of SID

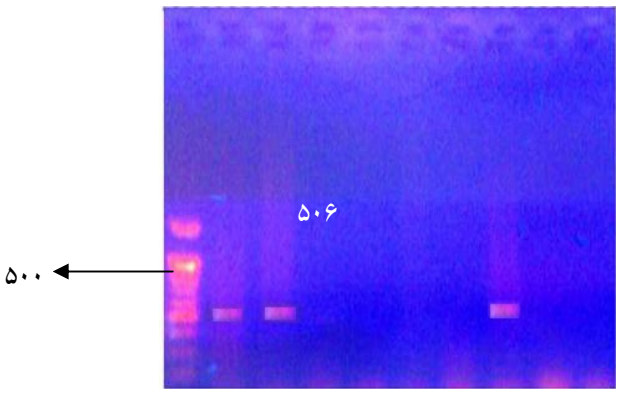
محصول به دست آمده از PCR در ژل ۱ درصد آگارز رنگ آمیزی شده با اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و سپس باندها با استفاده از UV ترانس لومیناتور مشاهده گردید.برای انجام الکتروفورز از ولتاژ ۷۰ با مدت زمان ۵۵ دقیقه استفاده کردیم.



شکل ۱: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCRمربوط به قطعه ۹۷۴ جفت بازی ژن *ice*A



شکل ۲: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه ۲۴۶ جفت بازی ژن $iceA_1$ و ۳۳۴ جفت بازی ژن $iceA_2$



شکل ۳: تصویر ژل الکتروفورز محصول PCR مربوط به قطعه ۵۰۶ جفت بازی ژن cagA

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج

از ۸۰ نمونه بیوپسی، ۲۵ مورد مثبت به دست آمد که ۸ نمونه مربوط به افراد مبتلا به گاستریت، ۷ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم اثنی عشر و ۱۰ نمونه مربوط به افراد مبتلا به زخم معده بود. بعد از PCR باندهای به دست آمده با اندازه ۹۷۴ جفت باز به عنوان قطعه مورد نظر از ژن iceA، ۲۴۶ باز از ژن $iceA_1$، ۳۳۴ جفت باز از ژن $iceA_2$ و ۵۰۶ جفت باز از ژن CagA در نظر گرفته شدند و به عنوان سویه های واجد این ژن ها در نظر گرفته شدند. در کل در میان ۲۵ مورد سویه اوره آز مثبت که PCR شدند ۴ مورد (۱۶٪) iceA مثبت که از این ۴ مورد ۳ مورد (۷۵٪) $iceA_1$ و ۱ مورد (۲۵٪) $iceA_2$ بودند و ۹ مورد (۳۶٪) CagA مثبت شدند. در این بررسی مشخص شد که فراوانی cagA از iceA بیشتر است. فراوانی این ژن ها در سویه های مرتبط با هر گروه در جدول زیر نشان داده شده است.

جدول ۶: میزان $iceA_1$، $iceA_2$ و CagA در سویه های جدا شده از ۳ گروه مختلف از بیماران مورد مطالعه فراوانی ژن

نوع ژن	CagA				$iceA_1$				$IceA_2$			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد کل	+	−	درصد	تعداد کل iceA مثبت	+	−	درصد	تعداد کل iceA مثبت	+	−	درصد
گاستریت (Gast)	۱۱	۴	۷	۳۶/۳۶	۱	۱	۰	۱۰۰	۱	۰	۱	۰
زخم اثنی عشر (DU)	۶	۱	۵	۱۶/۶۶	۱	۱	۰	۱۰۰	۱	۰	۱	۰
زخم معده (GU)	۸	۴	۴	۵۰	۲	۱	۱	۵۰	۲	۱	۱	۵۰

ما فراوانی این ژنها را بر حسب گروه سنی- جنس- محل سکونت و... هم بررسی کردیم که نتایج آماری آن در جداول زیر آورده شده است:

جدول ۷: میزان فراوانی ژن cagA در بیماران مبتلا به زخمهای گاسترودئودنال در شهرستان تنکابن بر حسب جنس و نوع بیماری

جنس	مرد				زن				جمع			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+cagA	−cagA	درصد	تعداد	+cagA	−cagA	درصد	تعداد	+cagA	−cagA	درصد
گاستریت (Gast)	۸	۴	۴	۵۰	۳	۰	۳	۰	۱۱	۴	۷	۳۶/۳۶
زخم‌اثنی عشر (DU)	۳	–	۳	۰	۳	۱	۲	۳۳/۳۳	۶	۱	۵	۱۶/۶۶
زخم معده (GU)	۳	۳	–	۱۰۰	۵	۱	۴	۲۰	۸	۴	۴	۵۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۸: فراوانی ژن cagA در بیماران مبتلا به زخم‌های گاسترودئودنال بر حسب محل سکونت

محل سکونت	شهر				روستا				جمع			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد
GU	۵	۳	۲	۶۰	۳	۱	۲	۳۳/۳۳	۸	۴	۴	۵۰
DU	۴	۱	۳	۲۵	۲	۱	۱	۵۰	۶	۲	۴	۳۳/۳۳
Gast	۹	۴	۵	۴۴/۴۴	۲	-	۲	۰	۱۱	۴	۷	۳۶/۳۶

جدول ۹: میزان فراوانی ژن iceA در بیماران مبتلا به زخم های گاسترودئودنال در شهرستان تنکابن بر حسب جنس و نوع بیماری

جنس	مرد				زن				جمع			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+cagA	−cagA	درصد	تعداد	+cagA	−cagA	درصد	تعداد	+cagA	−cagA	درصد
گاستریت (Gast)	۸	۲	۶	۲۵	۳	۰	۳	۰	۱۱	۲	۹	۱۸/۱۸
زخم‌اثنی عشر (DU)	۳	۰	۳	۰	۳	۰	۳	۰	۶	۰	۶	۰
زخم معده (GU)	۳	۱	۲	۳۳/۳۳	۵	۱	۴	۲۰	۸	۲	۶	۲۵

جدول ۱۰: فراوانی ژن iceA در بیماران مبتلا به زخم‌های گاسترودئودنال بر حسب محل سکونت

محل سکونت	شهر				روستا				جمع			
فراوانی / بیماری	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد
گاستریت	۹	۲	۷	۲۲/۲۲	۲	۰	۲	۰	۱۱	۲	۹	۱۸/۱۸
GU	۵	۱	۴	۲۰	۳	۱	۲	۳۳/۳۳	۸	۲	۶	۲۵
DU	۴	۰	۴	۰	۲	۰	۲	۰	۶	۰	۶	۰

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۱۱: میزان فراوانی ژن $iceA_1$ و $iceA_2$ در بیماران مبتلا به زخم‌های گاسترودئودنال در شهرستان تنکابن بر حسب نوع ژن و نوع بیماری

ژن	$iceA_1$				$iceA_2$			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد
گاستریت (Gast)	۲	۱	۱	۵۰	۲	۱	۱	۵۰
زخم اثنی عشر (DU)	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
زخم معده (GU)	۲	۲	۰	۱۰۰	۲	۰	۲	۰

جدول ۱۲: مقایسه فراوانی ژن cagA و iceA در بیماران مبتلا به زخم های گاسترودئودنال بر حسب گروه سنی

ژن	cagA				iceA			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد
۱۴-۳۵	۷	۲	۵	۲۸/۵۷	۷	–	۷	۰
۳۶-۵۷	۱۲	۵	۷	۴۱/۶۶	۱۲	۲	۱۰	۱۶/۶۶
۵۸-۷۹	۶	۲	۴	۳۳/۳۳	۶	۲	۴	۳۳/۳۳

جدول ۱۳: میزان فراوانی ژن cagA و $iceA_1$ و $iceA_2$ در سویه های جدا شده از ۳ گروه مختلف از بیماران مورد مطالعه

ژ ن	شهر				روستا				جمع			
فراوانی / نوع بیماری	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد	تعداد	+	−	درصد
گاستریت (Gast)	۱۱	۴	۷	۳۶/۳۶	۱	۱	۰	۱۰۰	۱	۰	۱	۰
زخم اثنی عشر (DU)	۶	۱	۵	۱۶/۶۶	۱	۱	۰	۱۰۰	۱	۰	۱	۰
زخم معده (GU)	۸	۴	۴	۵۰	۲	۱	۱	۵۰	۲	۱	۱	۵۰

بحث

همانطور که در نتایج اشاره شد از ۲۵ نمونه اوره آز مثبت، ۴ مورد (۱۶ درصد) حاوی ژن iceA که از این ۴ مورد، ۳ نمونه $iceA_1$ مثبت (۷۵ درصد) و ۱ مورد $iceA_2$ مثبت (۲۵ درصد) بودند و ۹ مورد (۳۶درصد) حاوی ژن CagA بودند اما این میزان با فراوانی این ژن‌ها در سویه های *Helicobater pylori* جدا شده از کشورهای مختلف متفاوت می باشد. Raymond و همکاران در آمریکا گزارش کردند که فقط ۶۶ درصد از سویه های *Helicobater pylori* حامل ژن CagA می‌باشند (۲۶). در مطالعه دیگری که در سال ۲۰۰۵ در کشور برزیل توسط Luciane و همکاران صورت گرفت میزان فراوانی ژن CagA در سویه های

www.SID.ir

Archive of SID

Helicobater pylori ۴۸ درصد گزارش شده است (۱۵).

Janchang و همکارانش نشان دادند که فراوانی ژن CagA در سویه های *Helicobater pylori* در کشور چین ۹۳/۹ درصد می باشد (۱۳). در مطالعه دیگری که توسط Aydin و همکاران در ترکیه انجام گرفته است میزان فراوانی ژن CagA در سویه های جدا شده از مبتلایان به زخم های پپتیک را ۷۳/۳ درصد و در بیماران مبتلا به NUD را ٪۴۷گزارش کردند (۶).

در مطالعه ای که دکتر محمد حسین شیرازی در سال ۸۵ در ایران در بیمارستان شریعتی انجام دادند ۶۴/۷ درصد سویه های جدا شده از بیماران مبتلا به NUD حاوی ژن CagA بودند (۲).

در مطالعه دیگری که توسط Arents و همکاران در کشور هلند به دست آمده فراوانی CagA در بیماری زخم معده نسبت به بیماری های دیگر غالب بوده است (۳).

ژن iceA و $iceA_1$ توسط VanDoorn و همکاران وی در هلند مورد مطالعه قرار گرفت و پس از بررسی روی ۹۴ نمونه ارتباط الل $iceA_1$ و زخم معده گزارش گردید (۳۱).

اما در مطالعات انجام شده در آمریکا، ژاپن، کره، کلمبیا و آلمان ارتباطی بین ژنوتایپ $iceA_1$ و نتایج بالینی بیماری مشاهده نشد (۱۰، ۲۷، ۳۰ و ۳۲).

در مطالعه ای که توسط فاطمه توحیدی در بابل صورت گرفت در نهایت آلل $iceA_1$ با فراوانی ٪۷۰ آلل غالب شناخته شد(۱).

در مطالعه ای که Hwai-Jenglin در تایوان انجام دادند متوجه شدند که آلل $iceA_1$ غالب است (۱۲). در آلل هایی که از بیماران در ژاپن و کره جداسازی شد $iceA_1$ غالب با ٪۶۷ و در ایالات متحده $iceA_2$ با ٪۷۵ غالب است (۳۳). کلاً در آسیا به دلیل انتشار جغرافیایی یا فاکتورهای دیگر $iceA_1$ غالب تر است.

در مطالعه ما مثل مطالعات افراد دیگر که ذکر کردیم فراوانی cagA از iceA بیشتر بود. مثلاً میزان cagA ٪۳۶ بود که بطور حدودی با مطالعه ای که Luciane و همکاران او در برزیل انجام دادند و فراوانی cagA را ٪۴۸ بدست آوردند مشابه است.

اما فراوانی iceA ما ٪۱۶ شد یعنی فقط ۴ نمونه مثبت بدست آوردیم که این نتیجه با نتایج افراد دیگر همسو نیست این آزمایش چندین بار صورت گرفت و هر بار همین تعداد مثبت بدست آمد که دلایلی از قبیل ژنتیک، انتشار جغرافیایی، نوع غذا و ... می تواند نقش داشته باشد. اینکه نقش غذا به چه صورت است نظر به عادت غذایی خاص مناطق شمال و شیوع زیاد این میکروب در این مناطق می توان گفت شاید سویه های جدیدتری از این میکروب با ژنهای بیماریزایی دیگری در این مناطق شایع باشد. اما از این ۴ نمونه iceA مثبت ۳ مورد آن آلل $iceA_1$ را داشتند که نشان می‌دهد در مطالعه ما مثل مطالعه خانم توحیدی، دکتر شیرازی و ... $iceA_1$ غالب بوده است.

سپاسگزاری

بدینوسیله از کلیه کسانی که در اجرای این تحقیق ما را یاری نمودند نهایت تشکر را داریم.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

۱. توحیدی، ف.، ۱۳۸۶. تعیین ژنوتایپ های cagA وiceA هلیکوباکتر پیلوری در بیماران مبتلا به زخم های گاسترودئودنال در مراجعین به بیمارستان شهید بهشتی بابل. پایان نامهرشته میکروب شناسی مقطع کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان.

۲. شیرازی، م.؛ قاسمی، ا. و خرمی زاد، م.، ۱۳۸۵. بررسی وجود ژن cagA در بیماران با دیس پپسی، زخم پپتیک و سرطان معده به روش PCR. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام شماره ۱۴- سال سوم، صفحه ۵۹-۵۳.

3. Arents, N.L.; Vanzwet, A. and Thijsjc, 2001. The importance of vacA, cag A and iceA genotype of *Helicobacter pylori* infection in peptic ulcer disease and gastroesophagel reflux disease. The Am J Gastroentero; 96(9): 2606-2608.
4. Ashoar, A.; Colares, G.B. and Mendeze, N., 2001. IceA genotypes of *Helicobacter pylori* strains isolated from brazilian children and adults. J Clin microbiology; 39 (6): 1746-1750
5. Atherton, J.C. and Peek, R.M., 2002. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. J Biol chem., 270: 17771-17777.
6. Aydin, F.; Kaklikaya, N. and Ozguro, 2004. Distribution of VacA alleles and cag A status of *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease and non- ulcer dyspepsia. Clin Micobiol InF; 10: 12-18.
7. Bitten court, P.F.; Rocha, G.A. and Penna F.J., 2006. Gastoduodenal peptic ulcer and *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. J pediatr; 82(5): 3 325-340.
8. Ceufiyueiredo, M.; Quint, W.G.V.; Sanna, R.; Sablon, E.; Peek, R.M. and Vandoornlj, 2000. Genetic organization and heterogenexity of the iceA locus of *Helicobacter pylori*. Gene, 246: 58-59.
9. Covacci, A.; Gensini, S. and Bagnoli, M., 1993. Molecular characterization of the 128- KDa immunodominant antigen of *Helicobacter Pylori* associated with cytotoxity and duodenal ulcer. Proct Natl Acad Sci USA: 90: 5791-5795.
10. Covacci, A.; Telford, J.L. and Del Giudice, G., 1999. *Helicobacter pylori* virulence and genetic geography. 284: 1328-1333.
11. Gregory, G.S.; Dee, S. and Robert, K., 1997. PCR- RFLP typing Helicobacter Pylori isolated from gastric biopsies during a European multi country clinical trial. J Antimicrob chem. 40: 251-256.
12. Hwai-Jeng lin.; chin – lin pemg. and wen-chinglo., 2004. *Helicobacter pylori* cagA, ice A and vac A genotypes in patients with gastric cancer in Taiwan. Word J Gastro enterol; 10(17): 2493-2497.
13. Jianchang, Z. ; Jianzhong, Z. and Capiu, X., 2004. Cag A genetype and variants in Chinese *Helicobacter pylori* strains and relationship to gastroduodenal disease. J Med Mirobiol; 53: 231-235.
14. Keates, S.; Keates, A.C. and Wamy, M., 1999. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS tastric epithelial cells by cag + and cag – *Helicobacter pylori*. J Immunol, 163: 5552-5559.
15. Luciano, L.G.; Elen kris, F.S. and Ka tia, R.L., 2005. CagA, vacA alleles and bab2 genotypes of *Helicobacter pylori* associated with gastric disease in Brazillian adult patients. Diag Mirobiol Inf Dis; 51: 231-235.
16. Marshall, B.J. and Warren, J.R.; 1984. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet; 1: 1311-1315.
17. Marshall, B.; Warren, J.R. and Francis, G.J., Rapid urease test in the management of *campylobacter pylori* associated gastritis. American Journal of Gastroenterology.; 82: 200-21.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Maeda, S.; Yoshida, H. and Ogura, K., 2000. *H. pylori* activates NFKB through a signaling pathway involving I kB kinase, NFkB- inducing kinase, TRAF2, and TRAF 6 in gastric cancer cells Gastroenterology, 119: 97-108.
19. Meyer- ter – vehn, T.; Covacci, A. and Kist, M., 2000. *Helicobacter pylori* activates mitogen- adivated protein kinase cascades and induced expression of the proto- on congene C- fos and c – jun .J BNiol chem. 270 16064-16072.
20. Mitsuno, Y.; Yoshida, H. and Maeda, S., 2001. *Helicobacter pylori* induced transactivation of SRE and AP-1 through the ERK signaling pathway in gasric cancer cells. Gut; 49: 18-22.
21. Mohamed, R.; Ahmad, A. and Hana, 2005. Cag A gene variants in Malaysian *Helicobacter pylori* strains isolated from patients of diferent ethnic groups. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 44: 239-242.
22. Nomura, A.; Stemmermann, G.N. and Chyou, P.H., 1991. *Helicobacter pylori* infection and gastric carcinoma among Japanese Americans in Hawaii. N Engl J Med; 325: 1132-1136.
23. Odenbreit, S.; Puls, J. and Sedimaier, B., 2000. Translocation of *Helicobacter pylori* cag A into gastric epithelial cells by type IV secretion. Science; 287: 1497-500.
24. Peek, J.R. and Slaser, M., 2002. *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas, Nat Rev cancer; 2: 28-37.
25. Queiroz, D.M.; Mendes, E.N. and Carvalho A.S.T., 2000. Factors associated with *Helicobacter Pylori* infection by a cag A – positive strain in children- J infect Dis; 181: 626-630.
26. Raymond, P.P.; Diane, S. and Wuerth, A., 2003. Analysis of the vac A, cag A, cag E, ice A and bab2 and gene in *Helicobacter pylori* from sixty – one pediatric patients from the Midwestern united states; 46: 83-88.
27. Rugge, M.; Busatto, G. and Gassaro, M., 1999. patients younger than 40 years with gastric c arcinoma: *Helicobacter pylori*, genotype and associated gastritis phenotype. Cancer; 85: 2506-2511.
28. Segal, E.D.; Cha, J. and Lo, J., 1999. Altered states:involvement of phosph orylated cagA in the induction of host cellular growth changes by *Helicobacter pylori*. Proc Natl Acad Sci USA; 96: 14559-14564.
29. Stein, M.; Rappuoli, R. and Covacci, A., 2000. tyrosine phosphorylation of the *Helicobacter pylori* cagA antigen after cag-driven host cell translocation. Proc Natl Acad sci USA; 97: 1263-1268.
30. Uemura, N.; Okamoto, S. and Yamamoto, S., 2001. *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer.N Engl Jmed; 345: 784-789.
31. Van Doorn L.J.; Figueiredo, C. and Sanna, R., 1998. clinical relevance of the cag A, vac A and ice A status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology; 115: 58-66.
32. Vandoorn, L.J.; Figueiredo, C. and Rossau, R., 1998. Typing of *Helicobacter pylori* vacA gene and detetion of cagA gene by PCR and reverse hybridization. J clin Microbiol; 36: 1271-1276.
33. Yamaoka, Y.; Kodama, T. and Gutierrezo, 1999. Relationship between *Helicobacter pylori* iceA, cag A and vacA status and clinical outcome: studies in four different countries. J Clin Microbiol; 37: 2274-2279.

www.SID.ir