

## CagA Pozitif *Helikobakter pilori* enfeksiyonunda serum oksidatif stres durumu

### *Serum oxidative stress status in CagA positive Helicobacter pylori infection*

Zeliha Asiltürk<sup>1</sup>, Yaşar Nazlıgül<sup>2</sup>, Mehmet Yıldız<sup>1</sup>, Metin Küçükazman<sup>2</sup>,  
Oktay Bulur<sup>1</sup>, Ayla Tezer<sup>3</sup>, Zeynep Çizmeci<sup>4</sup>, Kadir Okhan Akın<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi İç Hastalıkları Kliniği, Ankara, Türkiye

<sup>2</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Gastroenteroloji Kliniği, Ankara, Türkiye

<sup>3</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Patoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

<sup>4</sup>Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

<sup>5</sup> Keçiören Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya Laboratuvarı, Ankara, Türkiye

#### ÖZET

**Amaç:** Geçmişte *Helikobakter pilori*'nin değişik oksidatif hasarlara neden olabileceği gösterilmişti. Çalışmamızda *H.pilori*'nin CagA pozitif suşlarıyla enfekte hastalarda serum oksidatif durumu belirlemeyi amaçladık.

**Greç ve yöntem:** Çalışma *H.pilori* ile enfekte CagA pozitif 42, CagA negatif 39 hastada yürütüldü. *H.pilori* enfeksiyonu, mide biyopsilerinin histopatolojik değerlendirmesi ile teşhis edildi. CagA durumu, enzim immuno assay yöntemiyle mikro ELISA cihazında belirlendi. Otoanalizör cihazında ticari kitleleriyle serumda total antioksidan durum (TAS) ve total oksidan durum (TOS) ölçüldü, bulunan değerlerden serum oksidatif stres indeksi (OSI) hesaplandı.

**Bulgular:** CagA pozitif grubun TAS, TOS ve OSI değerleri sırasıyla  $1,48 \pm 0,18$  mmol/L,  $36,88 \pm 19,84$  mmol/L ve  $25,28 \pm 15,85$  bulundu. Negatif grubun verileri sırasıyla  $1,43 \pm 0,19$  mmol/L,  $38,44 \pm 14,72$  mmol/L,  $26,48 \pm 10,02$  idi. Her iki grubun serum oksidatif duruma ilişkin parametreleri istatistikî olarak benzerdi.

**Sonuç:** CagA pozitif ve CagA negatif suşlarla olan *H.pilori* enfeksiyonları arasında serum oksidatif durum parametreleri arasında anlamlı fark bulunamadı. *Klin Deney Ar Derg* 2011;2(2):202-6

**Anahtar kelimeler:** *Helikobakter pilori*, CagA, oksidatif durum, total antioksidan durum, total oksidan durum, oksidatif stres indeksi.

#### ABSTRACT

**Objectives:** Previous studies have suggested that CagA positive *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) infection may cause the various oxidative damages. The objective of this study was to investigate serum oxidative status in infectetion with CagA positive *H.pylori* strains.

**Materials and methods:** Forty-two *H.pylori* CagA positive subjects and 39 *H.pylori* CagA negative subjects were enrolled. *H.pylori* infection was diagnosed by the histopathological assessment of gastric mucosa. CagA status was detected by enzyme immuno assay in a micro ELISA machine. Total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) were measured autoanalyzer using commercially available kits. Serum oxidative stress index (OSI) was calculated using TAS and TOS measurements.

**Results:** The levels TAS and TOS of CagA positive subjects were found to be  $1.48 \pm 0.18$  mmol/L,  $36.88 \pm 19.84$  mmol/L. Those of CagA negative group were measured to be  $1.43 \pm 0.19$  mmol/L and  $38.44 \pm 14.72$  mmol/L respectively. The values of serum OSI were similar ( $25.28 \pm 15.85$  and  $26.48 \pm 10.02$ ) in CagA positive and negative groups.

**Conclusions:** The measurements of serum oxidative status did not show any sigificant difference between the patients infected with CagA positive and CagA negative *H.pilori* strains. *J Clin Exp Invest* 2011;2(2):202-6

**Key words:** *Helicobacter pylori*, CagA, oxidative status, total antioxidant status, total oxidant status, oxidative stress index.

**Yazışma Adresi /Correspondence:** Doç. Dr. Yaşar Nazlıgül

Keçiören Eğitim ve Araş. Hastanesi Gastroenteroloji Kliniği, 06290 Keçiören, Ankara Email: ynazligul49@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 14.03.2011, Kabul Tarihi / Accepted: 09.05.2011

Copyright © Klinik ve Deneysel Araştırmalar Dergisi 2011, Her hakkı saklıdır / All rights reserved

## GİRİŞ

*H.pilori* enfeksiyonlarında prognoz, konak ve çevreye ait faktörlerin yanı sıra bakteriye ait virulans faktörlerinden de etkilenmektedir. Bakteriye ait virulans faktörleri arasında mide asit ortamına uyumu sağlayan üreaz aktivitesi, mukus içerisinde hareketi sağlayan flajellar yapı, gastrik mukozada hasara yol açan vacA (vacuolating cytotoxin), gastrik hücrelerde sitotoksik etki yapan cagA (cytotoxin associated gene) ve diğerleri şeklinde sıralanmaktadır. CagA pozitifliğinin doku hasarı, ülser, adenokanser, ateroskleroz riskini artırdığı bildirilmiştir.<sup>1,4</sup>

Oksijen radikallerinin fazla yapımıyla oluşan etkilerin toplamına “oksidatif stres” denir. Oksidatif stres indeksi (OSI), total oksidan durum (TOS) ile total antioksidan durumun (TAS) birbirine oranlanmasıyla bulunan bir değerdir. Plazma ya da serumda oksidan ve antioksidan pek çok madde bulunmaktadır. Bu maddelerin tek tek ölçümü mümkün olsa da zaman alan, pahalı ve komplike testler olduğundan oksidan ve antioksidan etkili maddelerin additif etkileri olarak TOS ve TAS ölçümü tercih edilmektedir.<sup>5</sup> TOS’u artıran olaylar sonucu OSI’nin yükselmesiyle organizma reaktif metabolitlere karşı korunmasız kalır ve birçok oksidatif durum ortaya çıkar.<sup>6</sup> Oksidatif stresin yaşlanma, Alzheimer ve diğer nörodejenaratif hastalıklar, ateroskleroz, hipertansiyon ve mide kanseri patogenezinde önemli bir mekanizma olduğu ortaya çıkmıştır.<sup>7,10</sup>

*H.pilori* enfeksiyonu oksidatif stresi artırdığı bilinmektedir.<sup>6,11</sup> Çalışma, “CagA pozitif suşlar, daha virulan olduğundan CagA negatif suşlar göre oksidatif stresi daha fazla artırmalıdır” hipotezini test etme amaçlı tasarlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

### Hastalar

Çalışma öncesinde lokal etik kurul onayı alındı. Hastalar, ayrıntılı ve yazılı bilgilendirildi. Çalışma, gastroenteroloji polikliniğine dispeptik yakınmalarla başvuran ve üst gastrointestinal (Gİ) sistem endoskopisi yapılarak mide mukoza biyopsi örneklerinin histopatolojik incelemesiyle *H.pilori* enfeksiyonu teşhis edilen hastalarda gerçekleştirildi. Dışlama kriterleri:

- Sigara, alkol vb. alışkanlık,
- Önemli sistemik hastalık,

- Üst Gİ sistem cerrahisi geçirmiş olma,
- Duodenal veya gastrik ülser varlığı,
- Son iki haftada proton pompa inhibitörü, antibiyotik, antioksidan kullanımı,
- Gebelik, laktasyon.

### Yöntem

Dispepsi semptomları nedeniyle üst Gİ endoskopi yapılan ve endoskopik incelemede organik lezyonu tespit edilmeyen hastalardan antrum ve korpus mukozasından en az 2 adet biyopsi alındı. Patoloji laboratuvarında biyopsi materyellerinden hazırlanan doku kesitleri doku teşhisi için hematoksilen-eozin, *H.pilori* için Giemsa ile boyandı ve ışık mikroskopunda değerlendirildi. Spiral ya da yay biçiminde basil görülmesi *H.pilori* pozitifliği olarak kabul edildi. Biyokimya ve kan sayımları gözden geçirilen hastalar çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri yönünden sorgulandı. Kriterlere uygun hastalardan 12 saatlik açlık sonrası iki ayrı biyokimya tüpüne dörder ml kan alındı. Laboratuvarında 4000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Serumlar ependorf tüpünde -86°C’de saklandı. Çalışma tamamlandığında CagA IgA pozitifliği DIA PRO Diagnostic Bioprobes Srl Via Columella 20128 Milano-Italy kiti ile enzyme immuno assay yöntemi kullanılarak Dia Sarin Eti-Max 300 Micro Eliza Cihazı ile kalitatif ölçümle belirlendi. CagA Ig A sonuçlarına göre iki gruba ayrılan hastalarda LX-20 otoanalizör cihazında Total Oxidant Status Assay Kit ve Total Antioxidant Assay Kit (Rel Assay Kit Diagnostics® , Gaziantep, Turkey) kullanılarak TOS ve TAS çalışıldı. OSI aşağıdaki formülle hesaplandı.

$$OSI = \frac{TOS \text{ (mmol/L)}}{TAS \text{ (mmol/L)}}$$

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel hesaplamalarda ‘Statistical Package for Social Sciences’ (SPSS) 15.0 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistik yapılırken sayısal veriler ortalama ± standart sapma olarak verildi, ikili karşılaştırmalarında bağımsız örneklem t test kullanıldı. Oransal veriler ise sayı ve yüzde oranları olarak verildi, ikili karşılaştırmalarında ki kare testi kullanıldı. P değerinin 0.05 den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Çalışmaya yaş ortalaması  $46,25 \pm 8,89$  yıl 26 (%32) erkek, 55 (%68) kadın toplam 81 hasta alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm hastalarda CagA IgA antikor araştırıldı. Hastaların %52'sinde cagA IgA pozitifliği belirlendi.

Anti-CagA antikor bulunup bulunmamasına göre hastalar iki gruba ayrıldı. Demografik verileri Tablo 1'de gösterildi.

**Tablo 1.** Hastaların Cag A pozitifliğine göre demografik özellikleri.

	Cag A +	Cag A -
Toplam hasta	42 (%52)	39 (%48)
Erkek	17 (%40,5)	9 (%23)
Kadın	25 (%59,5)	30 (%77)
Yaş	$46.9 \pm 9.4$	$45.6 \pm 8.4$

Gruplar cinsiyet ve yaş dağılımı yönünden benzer bulundu ( $p > 0,05$ ).

CagA pozitif ve negatif hasta gruplarının TAS, TOS ve OSI değerleri Tablo 2'de verilmiş olup her üç değerinde ikili karşılaştırmalarında istatistiksel anlamı olan fark yoktu ( $p_{TAS}, p_{TOS}, p_{OSI} > 0,05$ ).

**Tablo 2.** Gruplar arası oksidatif stres indeksinin karşılaştırması.

	CagA (+)	CagA (-)
TAS	$1.48 \pm 0.18$	$1.43 \pm 0.19$
TOS	$36.88 \pm 19.84$	$38.44 \pm 14.72$
OSI	$25.28 \pm 15.85$	$26.48 \pm 10.02$

## TARTIŞMA

*H.pilori* ile ilişkili klinik tablolar bakterinin virulansına, konağın genetik yapısına ve çevre faktörlerine bağlı olarak değişkenlik gösterir. CagPAI adası içeren tip 1 suşlar midede enflamasyon, apoptozis ve kanser gelişimi için artmış risk oluşturur. Cag PAI, 30 kadar gen grubundan oluşmuştur. Bu genlerden en çok bilineni "cytotoxin associated gene A" (CagA geni)'dir. CagA geni kodladığı immünojenik protein CagA, CagA geninin bir belirteci olarak kullanılmaktadır. Bu antijen yoksa bakteri bakteride CagA geni yoktur, aktif "vacuolating cy-

totoxin" de üretmez. CagA pozitif suş aranmasında PCR tekniği ile CagA geni, ya da seroloji yöntemiyle serumda CagA proteinine karşı oluşmuş olan anti-CagA antikorları aranır. PCR CagA geni gerçek test sonucu kabul edilerek ELISA'nın sensitivite, spesifisite, pozitif prediktif değeri ve negatif prediktif değeri sırasıyla %87,8, %100, %100 ve %80,8 hesaplanmıştır.<sup>12</sup> İki yöntem arasında ufak farklılıklar olabilir.<sup>12,13</sup> Hastanın CagA negatif ve pozitif suşlarla mikst enfeksiyonu olmasına karşın, gen tayininde kullanılan kültürde bir suş üremiş olabilir. CagA antijeninde moleküler düzeyde bir farklılık varsa, bu antijene karşı oluşan antikor, kitin antijeniyle kompleks yapmayabilir. PCR yönteminde kullanılan tekniğin negatif suşu pozitif gibi göstermesi de mümkündür.

Çalışmamızda CagA pozitifliğinin belirlenmesinde ELISA yöntemi kullanıldı. Çalışmamızın yürütüldüğü *H.pilori* ile enfekte nonülser dispepsi hastalarının %52'sinde CagA pozitifliği belirlendi. Dünya genelinde bu oran, *H.pilori* pozitif kimselerde %60 civarındadır. Ancak CagA prevalansı coğrafi farklılıklar gösterir. Brezilya'da yaklaşık %73 pozitifliğe karşın Japonya'da %90'ı geçebilmektedir.<sup>14,15</sup> Coğrafi farklılığın yanı sıra çalışma grubunun gastrik patolojisine göre de CagA prevalansı değişebilir. Çin'de yapılan bir serolojik çalışmada duodenal ülser, gastrik ülser, nonülser dispepsi ve asemptomatik kontrol gruplarında anti-CagA antikor pozitifliği sırasıyla %84, %80, %55,6 ve %29 bulunmuştur.<sup>16</sup> CagA pozitif suşlar, antibiyotiklere daha duyarlıdır.<sup>17,18</sup> Çalışma grubu oluşturulurken antibiyotik kullanımı iyi sorgulanmalıdır.

Reaktif oksijen türevleri (ROS) aerobik metabolizmanın ürünleri olup mitokondrilerde üretilirler. ROS oluşumu organizmanın savunma kapasitesini aşıp oksidatif strese yolaçtığı zaman protein, lipid ve nükleik asit gibi çoğu biyolojik makromolekül ciddi hasar görür. Bu hasar biriktikçe hücre fonksiyon kademeli olarak azalır; sonuçta hücrelerin, organların ve organizmanın ölümüne neden olabilir.<sup>19,20</sup> Enfeksiyonlar, serbest oksijen radikal üretimi artıran ve oksidatif streste artışa neden olan sık ve etkili bir faktördür. *H.pilori* enfeksiyonunda mide mukozasında nötrofil infiltrasyonu sonucu oksidatif DNA hasarının arttığı, bu durumun serbest oksijen radikal üretiminin artmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>21</sup> Khodai ve arkadaşları<sup>22</sup> *H.pilori* enfeksiyonunun periferik kanda DNA hasarının göstergesi

8-hydroxy-2-deoxyguanosine düzeyini yükselttiğini belirlemişlerdir. Hayvan deneylerinde antioksidanlar, *H.pilori*'nin gastrik mukozada oluşturduğu DNA hasarını ve inflamasyonu azaltmıştır.<sup>23</sup>

ROS'nin lipitler üzerindeki hasarının bir göstergesi olarak kullanılan malondialdehit (MDA) düzeyi, *H.pilori* ile enfekte gastrik mukozada anlamlı derecede yüksek çıkmış, eradikasyon sonrasında düşme gözlenmiştir.<sup>24,25</sup> *H.pilori* enfeksiyonunun sadece dokuda değil kanda da artmış oksidatif stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Khanzode ve arkadaşları<sup>26</sup>, *H.pilori* gastrit ve gastrik kanser hasta gruplarında sağlıklı kontrollere göre serum serum superoksit dismutaz ve serum malondialdehit seviyelerinde anlamlı artış, plazma askorbik asitte anlamlı düşme olduğunu göstermişlerdir.

CagA pozitif suşlarla enfekte gastrik mukozada negatif suşlarla enfekte olanlara göre oksidatif stres, nitratif stres, DNA hasarı beklenildiği gibi yüksek olmaktadır.<sup>27,29</sup> Mukozadaki oksidatif stresin bakteri yoğunluğu ile değil, virulans faktörleriyle ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>28</sup> CagA pozitif hastalarda gastritin şiddeti ve aktivasyonunun anlamlı olarak yüksek olduğu, yine bu hastalarda atrofik-metaplastik lezyon prevalansının fazla olduğu tespit edilmiştir.<sup>29</sup> Çalışmamızda oksidatif durum ve antioksidan durum periferik kandan elde edilen serumlarda çalışıldı. Literatür taramalarımızda metodolojisi bizim çalışmayla örtüşen herhangi bir araştırmaya rastlamadık. Tiwari ve arkadaşlarının<sup>30</sup> çalışması, serum kullanılmış olması yönüyle kısmi benzerlik taşımaktadır. Ancak, bu çalışmada CagA pozitifliğinin serum malondialdehit ve nitrik oksit düzeylerini artırdığı gösterilmiştir.

*H.pilori* enfeksiyonunun gastrik mukoza ve kanda oksidatif stresi artırdığı gayet açıktır. CagA pozitifliğinin mide mukozasında oksidatif stresi daha fazla artığı da bilinmektedir. Ancak CagA pozitif kimselerde, mide mukozası gibi kanda da oksidatif durumun arttığı ve/veya total antioksidan durumun azaldığı henüz gösterilememiştir. Daha büyük ve homojen gruplarda yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

## KAYNAKLAR

1. Peek RM Jr. Helicobacter pylori strain-specific modulation of gastric mucosal cellular turnover: implications for carcinogenesis. *J Gastroenterol* 2002;37(Suppl.13):10-6.

- Hocker M, Hohenberger P. Helicobacter pylori virulence factors - one part of a big picture. *Lancet* 2003;362(9391):1231-33.
- Minohara Y, Boyd DK, Hawkins HK, Ernst PB, Patel J, Crowe SE. The effect of the cag pathogenicity island on binding of Helicobacter pylori to gastric epithelial cells and the subsequent induction of apoptosis. *Helicobacter* 2007;12(6):583-90.
- Niccoli G, Franceschi F, Cosentino N, et al. Coronary atherosclerotic burden in patients with infection by CagA-positive strains of Helicobacter pylori. *Coron Artery Dis* 2010;21(4):217-21.
- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Bio-chem* 2004;37(2):112-9.
- Aslan M, Nazlıgöl Y, Horoz M, et al. Serum prolidase activity and oxidative status in Helicobacter pylori infection. *Clin Biochem* 2007;40(1-2):37-40.
- Calabrese V, Guagliano E, Sapienza M, et al. Redox regulation of cellular stress response in aging and neurodegenerative disorders: role of vitagenes. *Neurochem Res* 2007;32(4-5):757-73.
- Rush JW, Denniss SG, Graham DA. Vascular nitric oxide and oxidative stress: determinants of endothelial adaptations to cardiovascular disease and to physical activity. *Can J Appl Physiol* 2005;30(4):442-74.
- Takayanagi R, Inoguchi T, Ohnaka K. Clinical and experimental evidence for oxidative stress as an exacerbating factor of diabetes mellitus. *J Clin Biochem Nutr* 2011;48(1):72-7.
- Chang CS, Chen WN, Lin HH, Wu CC, Wang CJ. Increased oxidative DNA damage, inducible nitric oxide synthase, nuclear factor kappaB expression and enhanced antiapoptosis-related proteins in Helicobacter pylori-infected non-cardiac gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2004;10(15):2232-40.
- Kebapçılar L, Sari I, Renkal AH, et al. The influence of Helicobacter pylori eradication on leptin, soluble CD40 ligand, oxidative stress and body composition in patients with peptic ulcer disease. *Intern Med* 2009;48(24):2055-9.
- Covacci A, Censini S, Bugnoli M, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of Helicobacter pylori associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993;90(12):5791-5.
- Peters TM, Owen RJ, Slater E, Varea R, Teare EL, Saverymuttu S. Genetic diversity in the Helicobacter pylori cag pathogenicity island and effect on expression of anti-CagA serum antibody in UK patients with dyspepsia. *J Clin Pathol* 2001;54(3):219-23.
- Gatti LL, Módena JL, Payão SL, et al. Prevalence of Helicobacter pylori cagA, iceA and babA2 alleles in Brazilian patients with upper gastrointestinal diseases. *Acta Trop* 2006;100(3):232-40.
- Maeda S, Ogura K, Yoshida H, et al. Major virulence factors, VacA and CagA, are commonly positive in Helicobacter pylori isolates in Japan. *Gut* 1998;42(3):338-43.
- Ching CK, Wong BC, Kwok E, Ong L, Covacci A, Lam SK. Prevalence of CagA-bearing Helicobacter pylori strains detected by the anti-CagA assay in patients with

- peptic ulcer disease and in controls. *Am J Gastroenterol* 1996;91(5):949-53.
17. Doğan E, Kefeli A, Nazlıgöl Y, et al. Helicobakter pilori ile enfekte duodenal ülser ve fonksiyonel dispepsi hastalarında anti-cagA pozitifliği ve eradikasyon tedavî başarısına etkisi. *Dicle Tıp Dergisi* 2011;38(1):7-11.
  18. Rudi J, Reuther S, Sieg A, Hoerner M, Stremmel W. Relevance of underlying disease and bacterial vacA and cagA status on the efficacy of Helicobacter pylori eradication. *Digestion* 2002;65(1):11-15.
  19. Eşrefoğlu M. Hücre hasarı ve ölümü: oksidatif stres ve antioksidan savunma sistemi Türkiye Klinikleri *J Med Sci* 2009;29(6):1660-76.
  20. Hernández-Saavedra D, McCord JM. [Evolution and free radicals. Importance of oxidative stress in human pathology]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2007;45(5):477-84.
  21. Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002;33(3):323-36.
  22. Khodaii Z, Ghaderian SM, Akbarzadeh Najari R, Nejati H, Tabatabaei Panah AS. CagA and vacA status and influence of Helicobacter pylori infection on serum oxidative DNA damage in Iranian patients with peptic ulcer disease. *Ir J Med Sci* 2011;180(1):155-61.
  23. Sun YQ, Girgensone I, Leanderson P, Petersson F, Borch K. Effects of antioxidant vitamin supplements on Helicobacter pylori-induced gastritis in Mongolian gerbils. *Helicobacter* 2005;10(1):33-42.
  24. Farinati F, Della Libera G, Cardin R, et al. Gastric antioxidant, nitrites, and mucosal lipoperoxidation in chronic gastritis and Helicobacter pylori infection. *J Clin Gastroenterol* 1996;22(4):275-81.
  25. Drake IM, Mapstone NP, Schorah CJ, et al. Reactive oxygen species activity and lipid peroxidation in Helicobacter pylori associated gastritis: relation to gastric mucosal ascorbic acid concentrations and effect of *H.pylori* eradication. *Gut* 1998;4286:768-71.
  26. Khanzode SS, Khanzode SD, Dakhale GN. Serum and plasma concentration of oxidant and antioxidants in patients of Helicobacter pylori gastritis and its correlation with gastric cancer. *Cancer Lett* 2003;195(1):27-31.
  27. Li CQ, Pignatelli B, Ohshima H. Increased oxidative and nitrate stress in human stomach associated with cagA+ Helicobacter pylori infection and inflammation. *Dig Dis Sci* 2001;46(4):836-44.
  28. Ladeira MS, Bueno RC, Dos Santos BF, et al. Relationship among oxidative DNA damage, gastric mucosal density and the relevance of cagA, vacA and iceA genotypes of Helicobacter pylori. *Dig Dis Sci* 2008;53(1):248-55.
  29. Farinati F, Cardin R, Russo VM, Busatto G, Franco M, Rugge M. Helicobacter pylori CagA status, mucosal oxidative damage and gastritis phenotype: a potential pathway to cancer? *Helicobacter* 2003;8(3):227-34.
  30. Tiwari SK, Manoj G, Sharma V, et al. Helicobacter pylori genotypes in gastric pathology and its association with plasma malondialdehyde and nitric oxide levels. *Inflammopharmacology* 2010;18(2):59-64.