

NGHIÊN CỨU BIỂU LỘ GEN ICEA CỦA *HELICOBACTER PYLORI* Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ DẠ DÀY

Trần Việt Hùng^{1*}, Trần Ngọc Ánh², Nguyễn Quang Duật³, Dương Quang Huy³,
Hoàng Thị Thu Hà⁴, Đỗ Thị Bích Ngọc⁴, Trần Tuấn Việt¹, Trần Văn Phú⁵

DOI: 10.38103/jcmhch.2021.67.7

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) được xếp vào nhóm I trong các tác nhân gây ung thư dạ dày theo IARC. *H.pylori* với các gen gây bệnh khác nhau và cũng có khả năng gây bệnh khác nhau. Gen *iceA* của *H.pylori* gây ra do tiếp xúc với biểu mô trong quá trình gắn vi khuẩn vào niêm mạc dạ dày, có hai biến thể *iceA1* và *iceA2*. Hiện nay có một số nghiên cứu chỉ ra mối liên hệ giữa *H.pylori iceA1* và bệnh lý dạ dày, nhưng giả thiết này vẫn còn tranh luận.

Mục tiêu: Nghiên cứu này là để khảo sát sự biểu hiện *H.pylori* mang gen *iceA1* và *iceA2* trong mô dạ dày và mối liên quan của *iceA* trong cơ chế bệnh sinh ở bệnh nhân ung thư dạ dày (UTDD).

Đối tượng và phương pháp: Trong thời gian từ tháng 7 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019 chúng tôi thu thập được có 91 mẫu mô lấy từ bệnh nhân ung thư dạ dày và 92 BN viêm dạ dày được đưa vào nghiên cứu. Bệnh nhân nhiễm *H. pylori* được xác nhận bằng cả urease test và mô bệnh học của các mẫu sinh thiết. Sự hiện diện của *H.pylori* mang gen *IceA* đã được xác nhận bằng xét nghiệm khuếch đại gen *iceA* bằng phản ứng chuỗi polymerase (PCR). Vi khuẩn *H.pylori* có kiểu gen *iceA1* và *iceA2* đã được tạo gen trực tiếp bằng cách sử dụng các mối cụ thể trong mẫu sinh thiết dạ dày bằng PCR.

Kết quả: 62,6% BN UTDD có *iceA* dương tính. Tỷ lệ dương tính của kiểu gen *iceA1* và *iceA2* lần lượt ở bệnh nhân ung thư dạ dày là A1: 54,9% (50/91), A2: 45,1 % (41/91). Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA* kiểu gene A1 nguy cơ UTDD gấp 4,685 lần so với người không mang gen *iceA* kiểu gene A1. Kiểu gen A2 chưa có mối liên quan nguy cơ UTDD so với người không mang gen *iceA* kiểu gen A2 với $p>0,05$. Kết quả của chúng tôi ủng hộ giả thuyết cho rằng gen *iceA* phản ánh sự khác biệt địa lý hơn là xác định hình ảnh lâm sàng và độc lực.

Kết luận: Cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn cùng với nhóm chứng viêm dạ dày, loét dạ dày để đánh giá tốt hơn sự biểu hiện gen *iceA* của *H.pylori* và mối liên quan của bệnh ung thư dạ dày.

Từ khóa: Gene *iceA*, *iceA1*, *iceA2*, *Helicobacter pylori*, Ung thư dạ dày

ABSTRACT

STUDY OF ICEA GENES OF *H. PYLORI* IN PATIENTS WITH GASTRIC CANCER

Tran Viet Hung^{1*}, Tran Ngoc Anh², Nguyen Quang Duat³, Duong Quang Huy³,
Hoang Thi Thu Ha⁴, Do Thi Bich Ngoc⁴, Tran Tuan Viet¹, Tran Van Phu⁵

1 Bệnh viện Bạch Mai

2 Đại học Y Hà Nội

3 Học viện Quân Y

4 Viện Vệ sinh dịch tễ Trung ương

5 Học viện Y Dược học cổ truyền

- Ngày nhận bài (Received): 16/12/2020; Ngày phản biện (Revised): 09/01/2021;

- Ngày đăng bài (Accepted): 25/02/2021.

- Người phản hồi (Corresponding author): Trần Việt Hùng

- Email: hungnoisoibm@gmail.com; SĐT: 0913579828

Background: *Helicobacter pylori* plays an important role in the pathogenesis of gastric cancer. *H. pylori* has the *iceA* gene caused by epithelial contact during bacterial attachment to the gastric mucosa, with two variants of *iceA1* and *iceA2*. Currently there are several studies that show the link between *H. pylori iceA1* and peptic ulcer disease, but this hypothesis remains controversial.

Methods: The objective of this study was to investigate the expression of *H. pylori* with *iceA* gene had two main allelic variants *iceA1* and *iceA2* in patients who were diagnosed with gastric cancer in endoscopy and to assess whether there was correlation between genotypes.

Results: A total of 183 tissue samples from patients with gastric cancer ($n = 91$) with *H. pylori* infection were confirmed by histopathological examination of the biopsy specimens included in the study. The positive of *H. pylori* in the samples was also confirmed by amplification of the *iceA* gene by polymerase chain reaction (PCR). The *H. pylori* allei *iceA1* and *iceA2* bacteria were genetically engineered using specific primers in a gastric biopsy sample using PCR.

The positive rate of *iceA1* and *iceA2* in patients with gastric cancer was 41,6% (15/36), 22% (8/36), and *iceA2*. The difference in the chromosome rate of *iceA1* and *iceA2* among the patients was not statistically significant ($p > 0.05$). As a result, the *H. pylori iceA1* genotype predominates (65%) in gastric cancer similar to our regional studies, but the prevalence of the *iceA2* genotype is lower (28%). Our results support the idea that the *iceA* gene reflects geographic differentiation rather than clinical and virulence.

Conclusion: a larger sample size should be included with gastric and gastric ulcer groups in order to better evaluate *H. pylori iceA* gene expression and the association of gastric cancer.

Keywords: gene *iceA*, *iceA1*, *iceA2*, *Helicobacter pylori*, gastric cancer

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) là vi khuẩn hình chữ S, tồn tại ở niêm mạc dạ dày trong khoảng một nửa dân số trên thế giới. Một phần nhỏ dân số khi bị nhiễm sẽ bị viêm dạ dày mãn tính và loét dạ dày, thậm chí một số tiến triển đến ung thư biểu mô dạ dày hoặc u lympho niêm mạc dạ dày. Cơ quan Nghiên cứu Quốc tế về Ung thư đã xác nhận rằng nhiễm *H. pylori* là yếu tố nguy cơ quan trọng nhất đối với ung thư dạ dày và việc điều trị diệt trừ *H. pylori* có thể làm giảm nguy cơ ung thư dạ dày trong tương lai [1]. *H. pylori*, vật chủ và các yếu tố môi trường ảnh hưởng gây ra các biểu hiện lâm sàng khác nhau. Đặc biệt, nhiều gen độc tính của *H. pylori* đóng một vai trò quan trọng. Các kiểu gen khác nhau của *H. pylori* tạo ra các yếu tố độc lực khác nhau. Một số gen độc lực đã được phát hiện, một trong số đó gen gây ra bởi tiếp xúc với biểu mô (*iceA*), độc lập với *cagA* và *vacA* [2]. Gen *iceA* được xác định trong *H. pylori* được phân lập từ bệnh nhân loét tiêu hóa và các bệnh nhân viêm dạ dày, với ít nhất 2 kiểu gen là *iceA1* và *iceA2* [3]. Một số nghiên cứu cho rằng *iceA* (*iceA1* / *iceA2*) có thể liên quan đáng kể với các bệnh về hệ thống tiêu hóa, trong khi một số tác giả lại có những kết quả ngược lại [4] Việc công nhận mối liên quan giữa các gen *cagA* và *vacA* với nguy cơ ung thư dạ dày đã được xác lập. Một số nghiên cứu trên

thế giới đi sâu vào tìm hiểu *H.pylori* mang gen *iceA1* và *iceA2* trong niêm mạc bệnh nhân ung thư dạ dày và đánh giá liệu có tương quan nào giữa những kiểu gen này và biểu hiện lâm sàng hay không. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: “Khảo sát sự biểu hiện *Helicobacter pylori* mang gen *IceA* ở bệnh nhân ung thư dạ dày”

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: gồm 91 bệnh nhân UTDD (nhóm bệnh) và 92 bệnh nhân viêm dạ dày mạn tính (nhóm chứng) có nội soi dạ dày và chẩn đoán xác định qua mô bệnh học, tại khoa Thăm dò chức năng, Bệnh viện Bạch Mai, từ tháng 7 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019.

Loại trừ những trường hợp sau: UTDD không còn chỉ định phẫu thuật, di căn từ cơ quan khác đến, có ung thư cơ quan khác phối hợp, DNA chiết tách từ mảnh sinh thiết không đảm bảo chất lượng, đã điều trị tia xạ, hóa chất, tái phát, mắc một số bệnh kèm theo: tiểu đường, huyết áp cao, xơ gan, suy thận..., có rối loạn đông máu

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả

Bệnh viện Trung ương Huế

cắt ngang, có so sánh đối chứng. Bệnh phẩm niêm mạc dạ dày để làm xét nghiệm urease test, mô bệnh học (sử dụng kỹ thuật sinh thiết kẹp để lấy thêm 2 mảnh tại khối u để xét nghiệm mô bệnh học) và mẫu làm PCR xác định gene (Sinh thiết ở hang vị, phía bờ cong lớn, cách lỗ môn vị 2-3 cm cho vào ống chứa môi trường thạch, để trong ngăn đá và vận chuyển sang khoa Vi khuẩn, Viện Vệ sinh Dịch tễ trong ngày, cất trữ tại bình Ni tơ lỏng) theo hướng dẫn của hệ thống Sydney cập nhật (Dixon MF và cs, 1996)

Xét nghiệm mô bệnh học được tiến hành tại khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Bạch Mai.

Khảo sát biểu lộ gen *IceA* bằng phương pháp phản ứng chuỗi polypmerase (Polymerase Chain

Reaction - PCR) theo quy trình thường quy của Viện Karolinska, Thụy Điển. Mẫu sinh thiết ở bệnh nhân có test urease dương tính và MBH xác định là UTDD và VDD được đánh mã số cất trong bình ni tơ lỏng tại khoa Vi khuẩn, Viện Vệ sinh Dịch tễ TW được tiến hành phân tích bằng PCR trực tiếp.

3. Xử lý số liệu: số liệu thu thập được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 20.0

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Từ 5/2017 đến 12/2019, chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu 91 bệnh nhân ung thư dạ dày, 92 BN VDD. Tỷ lệ *H. pylori* mang gen *iceA* là 57/91 trường hợp, chiếm 62,6% có bộc lộ gen *iceA*.

Bảng 3.1: Phân bố gene *iceA* theo nhóm tuổi

Gen <i>iceA</i>	Nhóm tuổi(n,%)				
	<39	40-49	50-59	60-69	>70
Dương tính	4 (7)	5 (8,8)	13 (22,8)	16 (28,1)	19 (33,3)
Âm tính	2 (5,9)	3 (8,8)	7 (20,6)	11 (32,4)	11 (32,4)
p	p=0,075				

Nhận xét: Gen *iceA* dương tính ở lứa tuổi dưới 60 là 38,6%, ở lứa tuổi trên 60 là 61,4% Nhóm *iceA* âm tính ở lứa tuổi dưới 60 chiếm 35,3%, lứa tuổi trên 60 là 64,7%. Sự khác biệt giữa các nhóm tuổi không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.2: Phân bố gene *iceA* theo giới

	Nam (n,%)	Nữ (n,%)	Tổng cộng
IceA +	35 (61,4)	22 (38,6)	57
IceA -	23 (67,6)	11 (32,4)	34
p	0,54		

Nhận xét: Tỷ lệ nam mang gene *iceA* là 61,4%, nữ là 38,6%. Sự khác biệt giữa hai giới nam và nữ không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.3: Phân bố gen *iceA* với hình ảnh và vị trí tổn thương trên nội soi

	Chẩn đoán Nội soi	IceA		p
		IceA+	IceA-	
Khối u	Borrmann I (n,%)	1 (1,8)	1 (2,9)	p=0,52
	Borrmann II (n,%)	18 (31,6)	7 (20,6)	
	Borrmann III (n,%)	37 (64,9)	24 (70,6)	
	Borrmann IV (n,%)	1 (1,8)	2 (5,9)	
Vị trí	Hang vị	33 (57,9)	22 (64,7)	P=0,2
	Góc BCN	9 (15,8)	6 (17,6)	
	Hang vị phía BCN	7 (12,3)	0	
	Thân vị	8 (14)	6 (17,6)	

Nhận xét: Tỷ lệ hình ảnh nội soi dạ dày thể loét xâm lấn (típ III) mang gene *iceA* cao nhất chiếm 64,9%, tiếp theo là Borrmann II là 31,6%, típ I và IV cùng tỷ lệ 1,8%. Sự khác biệt giữa các típ không có ý nghĩa thống kê với $p>0,05$.

Tỷ lệ nhóm mang gene *iceA* có tổn thương tại hang vị là 57,9%, góc BCN là 15,8%, hang vị phía BCN là 12,3% và thân vị lag 14%. Sự khác biệt giữa các vị trí u trên dạ dày không có ý nghĩa thống kê với $p>0,05$.

Bảng 3.4: Phân bố kiểu gen *iceA1* và *iceA2* theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	UTDD (n,%)		VDD (n,%)	
	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>	<i>iceA1</i>	<i>iceA2</i>
<39	3 (6)	1 (10)	3 (15,8)	2 (28,6)
40 - 49	5 (10)	0	0	1 (14,3)
50 - 59	11 (22)	4 (40)	9 (47,4)	2 (28,6)
60 - 69	13 (26)	3 (30)	5 (26,3)	2 (28,6)
>70	18 (36)	2 (20)	2 (10,5)	0
Tổng cộng	50 (100)	10 (100)	19 (100)	7 (100)

Nhận xét: Nhóm tuổi trên 60 ở bệnh UTDD chiếm 62% mang kiểu gen *iceA1*. Nhóm tuổi từ 50 - 70 ở bệnh VDD mang kiểu gen *iceA1* chiếm 73,7%. Sự khác biệt giữa các nhóm tuổi mang kiểu gen *iceA1* và *iceA2* không có ý nghĩa thống kê với $p>0,05$.

Bảng 3.5: Xác định nguy cơ tương đối của BN nhiễm *H. pylori iceA+*

Gen <i>iceA</i>	Bệnh	Chứng
Âm tính	34	66
Dương tính	57	26

OR= 4,256, với KTC 95% là [2,286; 7,923]

Nhận xét: Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA* nguy cơ UTDD gấp 4,256 lần so với người không mang gen *iceA*.

Bảng 3.6: Xác định nguy cơ tương đối của Bn nhiễm *H. pylori iceA* kiểu gene *A1*

Kiểu gen <i>iceA1</i>	Bệnh	Chứng
Âm tính	41	73
Dương tính	50	19

OR= 4,685, với KTC 95% là [2,332; 9,532]

Nhận xét: Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA* kiểu gene *A1* nguy cơ UTDD gấp 4,685 lần so với người không mang gen *iceA* kiểu gene *A1*.

Bảng 3.7: Xác định nguy cơ tương đối của BN nhiễm *H. pylori iceA* kiểu gene *A2*

Kiểu gen <i>iceA2</i>	Bệnh	Chứng
Âm tính	81	85
Dương tính	10	7

OR= 1,5, với $p=0,4$

Nhận xét: Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA* kiểu gene *A2* chưa có mối liên quan nguy cơ UTDD so với người không mang gen *iceA* kiểu gene *A2* với $p>0,05$.

Bảng 3.8: Kiểu gen *iceA* với thể MBH

Phân loại	MÔ BỆNH HỌC	<i>IceA</i>		p
		<i>IceA1</i>	<i>IceA2</i>	
Lauren	Thể ruột (n,%)	45 (56,3)	9 (11,3)	p=0,5
	Thể lan tỏa (n,%)	5 (45,5)	1 (9,1)	p=0,8
WHO	Tuyến ống	45 (56,3)	9 (11,3)	p=0,5 p= 0.02 p=0,18
	Tế bào nhân	5 (50)	1 (10)	
	Tuyến nhày	0	0	
	Biệt hóa cao	2 (4)	0	
	Biệt hóa vừa	16 (32)	4 (40)	
	Biệt hóa kém	27 (54)	5 (50)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt các kiểu gen *iceA1* và *iceA2* giữa thể ruột và thể lan tỏa ở bệnh nhân UTDD với $p > 0,05$

Không có sự khác biệt các kiểu gen *iceA1* và *iceA2* giữa thể tuyến ống và thể tế bào nhân ở bệnh nhân UTDD với $p > 0,05$. Không có thể MBH tuyến chế nhày có *H.pylori* mang gene *iceA*.

Kiểu gen *iceA1* chiếm 54% ở nhóm MBH UTDD biệt hóa kém, 32% ở nhóm biệt hóa vừa. Kiểu gene *iceA2* chiếm 50% ở nhóm biệt hóa kém và 40% ở nhóm biệt hóa vừa. Sự khác biệt giữa các kiểu gene *A1* và *A2* ở các nhóm MBH trên bệnh nhân UTDD ở nhóm biệt hóa vừa và kém có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu ở 91 bệnh nhân UTDD nhiễm *H. pylori*, chúng tôi nhận thấy có 57/91 trường hợp, chiếm 62,6% có bộc lộ gen *iceA*. Huang X. và cộng sự (2016) phân tích tổng hợp 19 bài báo, 22 nghiên cứu và 2.657 trường hợp về mối liên quan giữa tình trạng gen *iceA* và kết quả lâm sàng tỷ lệ *IceA* ở Trung quốc là 68,02% (134/197) trong các trường hợp UTDD và 62,37% (368/590) ở nhóm viêm dạ dày hoặc nhóm chứng, trong khi ở các nước khác là 56,25% (117/208) và 48,50% (113/233). Không tìm thấy mối liên quan đáng kể nào giữa sự biểu lộ *iceA* với UTDD ở Cộng hòa Nhân dân Trung Hoa (OR = 1,30, KTC 95% = 0,89-1,89; P = 0,17) và các quốc gia khác (OR = 0,74, 95% CI = 0,46-1,20; P = 0,22). [7]

Sự phân bố *iceA* dương tính theo tuổi cho thấy 38,6% ở các bệnh nhân dưới 60 tuổi; 61,4% trên 60 tuổi, không có sự khác biệt về phân bố nhóm tuổi khi so sánh với các trường hợp *iceA* âm tính. Khi phân tích kiểu gen chúng tôi nhận thấy ở các bệnh nhân UTDD có bộc lộ *iceA* có độ tuổi trên 60 thì tỷ lệ mang kiểu gen *iceA1* chiếm 62%, trong khi ở nhóm chứng tỷ lệ mang kiểu gen *iceA1* chỉ có 36,8%. Tương tự tỷ lệ nam mang gene *iceA* là 61,4%, nữ là 38,6%. Sự khác biệt giữa hai giới nam và nữ không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Chúng tôi nhận thấy hình ảnh trên nội soi dạ dày thể loét xâm lấn (típ III) mang gene *iceA* cao nhất chiếm 64,9%, tiếp theo là Borrmann II là 31,6%, típ I và IV cùng tỷ lệ 1,8%. Tỷ lệ nhóm mang gene *iceA* có tổn thương tại hang vị là 57,9%, góc BCN là 15,8%, hang vị phía BCN là 12,3% và thân vị là 14%. Sự khác biệt giữa tỷ lệ mang gen *iceA* với vị trí nội soi, các típ tổn thương không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Không có sự khác biệt các kiểu gen *iceA1* và *iceA2* giữa thể ruột và thể lan tỏa ở bệnh nhân UTDD, cũng như giữa thể tuyến ống và thể tế bào nhân ở bệnh nhân UTDD với ($p > 0,05$). Ciftci I. H. và cộng sự (2011) phân tích 109 mẫu mô thu được 55 bệnh nhân VDDM và 54 bệnh nhân UTDD bệnh nhân ung thư dạ dày nhiễm *H.pylori*. Tỷ lệ của gen *iceA1* ở bệnh nhân VDDM và UTDD là 51% (28/55) và 65% (35/54), trong khi tần số của

gen *iceA2* là 20% (11/55) và 28 % (15/54), tương ứng. Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính của kiểu gen *iceA1* và *iceA2* giữa các nhóm bệnh nhân không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) [5]. Aghdam S. M. và cộng sự (2014) nghiên cứu ở 37 bệnh nhân UTDD và 49 bệnh nhân viêm dạ dày. Kết quả xét nghiệm PCR đối với các alen *iceA1* và *iceA2* cho thấy 35,1% *H. pylori* phân lập từ bệnh nhân UTDD và 14,3% bệnh nhân viêm dạ dày có kiểu gen *iceA1*; trong khi tỷ lệ xuất hiện kiểu gen *iceA2* là 32,4% ở các bệnh nhân UTDD và 24,5% ở các bệnh nhân viêm dạ dày [6].

Khi phân tích theo mức độ biệt hóa chúng tôi nhận thấy kiểu gen *iceA1* chiếm 54% ở nhóm UTDD biệt hóa kém, 32% ở nhóm biệt hóa vừa. Kiểu gen *iceA2* chiếm 50% ở nhóm biệt hóa kém và 40% ở nhóm biệt hóa vừa. Sự khác biệt giữa các kiểu gen

A1 và A2 ở các nhóm MBH trên bệnh nhân UTDD ở nhóm biệt hóa vừa và kém có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ *H.pylori* mang *iceA* dương tính là 62,6% ở nhóm UTDD cao hơn so với nhóm chứng VDD. Không có sự liên quan về sự biểu lộ *iceA* với tuổi, giới tính, vị trí ung thư, hình ảnh nội soi. Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA*, *iceA1* nguy cơ UTDD gấp 4,256 lần (OR= 4,256, với KTC 95%: 2,286 - 7,923); 4,685 lần (OR= 4,685, với KTC 95%: 2,332 - 9,532). so với người không mang gen *iceA*, *iceA1*. Người nhiễm *H. pylori* mang gen *iceA* kiểu gen A2 chưa có mối liên quan nguy cơ UTDD so với người không mang gen *iceA* kiểu gen A2 với $p > 0,05$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. IARC(2014). Helicobacter pylori Eradication as a Strategy for Preventing Gastric Cancer. IARC Working Group Report, Volume 8 : p. 1-181.
2. Van Doorn LJ.(1998). Clinical relevance of the *cagA*, *vacA*, and *iceA* status of Helicobacter pylori. Gastroenterology. 115(1): p. 58-66.
3. Abu-Taleb A. M. F., et al.(2018) Prevalence of Helicobacter pylori *cagA* and *iceA* Genes and Their Association with Gastrointestinal Diseases. Int J Microbiol. 2018: p. Article ID 4809093.
4. Wei G.C., et al(2012). Prevalence of Helicobacter pylori *vacA*, *cagA* and *iceA* genotypes and correlation with clinical outcome. Exp Ther Med, 4(6): p. 1039-1044.
5. Ciftci I. H., et al(2011). Investigation of Helicobacter pylori *iceA1* and *iceA2* genes in patients with chronic gastritis and gastric cancer. Mikrobiyol Bul. 45(2): p. 228-233.
6. Aghdam S. M., et al(2014). Investigation of Association between *oipA* and *iceA1/iceA2* Genotypes of Helicobacter pylori and Gastric Cancer in Iran. Asian Pac J Cancer Prev. 15(19): p. 8295-8299.
7. Huang X., et al.(2016) Relationship between the *iceA* gene of Helicobacter pylori and clinical outcomes. Ther Clin Risk Manag. 12: p. 1085 - 1092.