

Helicobacter pylori y factores inmunogenéticos del huésped: relevancia de los alelos HLADQA1*0102 y *0301 en la úlcera péptica

S. Santolaria^a, Y. Barrios^b, R. Benito^c, E. Piazuelo^a, E. Quintero^b y A. Lanas^a

Servicios de ^aAparato Digestivo y ^bMicrobiología. Hospital Clínico Universitario de Zaragoza. ^bServicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitario de Canarias. La Laguna. Tenerife.

RESUMEN

OBJETIVO: Investigar la potencial contribución de los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 en la infección por *H. pylori* y la enfermedad ulcerosa péptica en una población caucásica española.

PACIENTES Y MÉTODOS: Se incluyeron un total de 163 pacientes con úlcera péptica (117 úlcera duodenal [UD] y 46 úlcera gástrica [UG]; 111 con hemorragia digestiva alta reciente) y 90 controles. Los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 se tipificaron mediante PCR a partir de ADN genómico. La infección por *H. pylori* se determinó en los pacientes mediante test de aliento y/o histología y en los controles por test de aliento y/o serología. En 98 pacientes y en 48 controles con infección por *H. pylori* se investigaron las citotoxinas CagA y VacA mediante serología (Western-blot).

RESULTADOS: La infección por *H. pylori* estaba presente en el 94,6% de UD, el 84,4% de UG y el 67,4% de los controles ($p < 0,001$). El alelo *0102 del gen HLADQA1 presentó una distribución similar en pacientes (31,9%) y controles (36,7%). El alelo *0301 fue más frecuente en el grupo de UG (32,6%) con respecto a la UD (16,2%) ($p < 0,05$), pero no se observaron diferencias cuando se comparó con el grupo control (24,4%). Tampoco se encontraron diferencias cuando se analizaron los grupos de acuerdo con la presencia de infección por *H. pylori*, cepas CagA y VacA positivas, consumo de antiinflamatorios no esteroides o historia previa ulcerosa o de hemorragia.

CONCLUSIONES: Ser portador de los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 no modifica ni la susceptibilidad a la infección por *H. pylori* ni su evolución a úlcera péptica en una población caucásica del sur de Europa.

***HELICOBACTER PYLORI* AND INMUNOGENETIC HOST FACTORS: ROLE OF THE *0102 AND *0301 ALLELES IN PEPTIC ULCER DISEASE**

AIM: To investigate the potential contribution of the *0102 and *0301 alleles of the HLADQA1 gene in *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer disease in a Spanish Caucasian population.

PATIENTS AND METHODS: We studied 163 patients with peptic ulcer (117 duodenal ulcers and 46 gastric ulcers; 111 with recent upper gastrointestinal hemorrhage) and 90 controls. The *0102 and *0301 alleles of the HLADQA1 gene were typed by polymerase chain reaction using genomic DNA. *H. pylori* infection were determined by breath test and/or serology. The cytotoxins CagA and VacA were investigated using serology (Western-blot) in 98 patients and 48 controls with *H. pylori* infection.

RESULTS: *H. pylori* infection was found in 94.6% of patients with duodenal ulcer, in 84.4% of those with gastric ulcer and in 67.4% of controls ($p < 0.001$). The distribution of the *0102 allele of the HLADQA1 gene was similar in patients (31.9%) and in controls (36.7%). The *0301 was more frequent in patients with gastric ulcer (32.6%) than in those with duodenal ulcer (16.2%) ($p < 0.05$) but no differences were found on comparison with the control group (24.4%). No differences were found when the groups were analyzed according to *H. pylori* infection, CagA- and VacA-positive strains, consumption of non-steroidal antiinflammatory drugs or previous history of ulcer or hemorrhage.

CONCLUSION: The *0102 and *0301 alleles of the HLADQA1 gene did not alter susceptibility to *H. pylori* infection or the evolution of peptic ulcer disease in a Caucasian population in Spain.

Correspondencia: Dr. S. Santolaria.
Servicio de Aparato Digestivo.
Hospital Universitario de Canarias. 38291 La Laguna. Tenerife.
Correo electrónico: ssantolariap@medynet.com

Recibido el 24-7-2000; aceptado para su publicación el 8-9-2000.

La infección por *Helicobacter pylori* es el principal factor etiológico implicado en la enfermedad ulcerosa péptica. Los datos de que disponemos hasta el momento sugieren que se trata de una infección muy frecuente, que puede afectar a más del 50% de la población mundial. Sin embargo, a pesar de que la práctica totalidad de los individuos infectados desarrollan gastritis crónica, se desconoce por qué sólo un pequeño grupo de sujetos desarrollan entidades clínicas asociadas a la infección como úlcera péptica, carcinoma gástrico o linfoma del tejido linfoide asociado a la mucosa (MALT)¹. Diversos estudios han demostrado que los individuos infectados con cepas de *H. pylori* que expresan la citotoxina CagA, marcador del isólate de patogenicidad, tienen un riesgo mayor de desarrollar úlcera péptica y cáncer gástrico²⁻⁴. Asimismo, las cepas de *H. pylori* que presentan el alelo s1 del gen VacA se asocian más frecuentemente con el desarrollo de enfermedad ulcerosa^{4,5}. Sin embargo, todavía existen muchos individuos infectados por estas cepas de *H. pylori* que no desarrollarán patología⁶. Así pues, parece razonable suponer que ciertos factores dependientes del huésped podrían ser determinantes en la evolución de la infección por *H. pylori*, tal y como han evidenciado diversos estudios en gemelos^{7,8}.

Entre los factores dependientes del huésped, se conoce que la intensidad o naturaleza de la respuesta inmune puede presentar variaciones interindividuales⁹. Una parte de la respuesta inmune está controlada por los genes del complejo mayor de histocompatibilidad, un grupo de genes altamente polimórficos que codifican los antígenos leucocitarios humanos (HLA)¹⁰. Diversos estudios han demostrado un incremento significativo en la expresión del antígeno HLA-DR (clase II) en la mucosa gástrica de pacientes con gastritis asociada a *H. pylori*¹¹⁻¹³. Así, determinados alelos específicos de los genes del HLA de clase II podrían predecir la susceptibilidad a la infección por *H. pylori* y su evolución clínica. Estudios recientes realizados en la población japonesa sugieren que los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 pueden ser importantes para determinar la susceptibilidad y la evolución de la infección por *H. pylori*¹⁴⁻¹⁷, pero se desconoce si esta asociación está presente en otras poblaciones. El objetivo de este estudio ha sido investigar la potencial contribución de los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 en la infección por *H. pylori* y la enfermedad ulcerosa péptica en una población caucásica española.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes

Se estudió de forma prospectiva a 163 pacientes consecutivos, que presentaban úlcera péptica diagnosticada mediante endoscopia en el Hospital Clínico Universitario de Zaragoza. Un total de 117 pacientes tenían úlcera duodenal y 46 úlcera gástrica. El diagnóstico de úlcera péptica se basó en los hallazgos endoscópicos convencionales (disrupción circunscrita de la mucosa de al menos 5 mm de diámetro, con un cráter bien definido). Como grupo control, se ha estudiado a 90 individuos sanos, sin historia previa ulcerosa y no relacionados étnicamente. Los datos clínicos se obtuvieron siguiendo un cuestionario estandarizado con especial

atención a los siguientes datos: historia ulcerosa previa, historia de hemorragia digestiva y complicaciones, así como consumo de antiinflamatorios no esteroideos (AINE) o aspirina. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité del Hospital Universitario de Zaragoza y todos los pacientes y controles dieron su consentimiento informado para el estudio.

Diagnóstico de infección por *Helicobacter pylori*

La existencia de infección por *H. pylori* se determinó en los pacientes mediante test de ureasa (CLO-test; Delta West LTD, Canning Vale, Bentley, Australia) y examen histológico de muestras de mucosa tomadas del antró y cuerpo del estómago durante la endoscopia. Además, se realizó un test del aliento con urea marcada con ¹³C (Isomed, Madrid, España) en aquellos pacientes que resultaron negativos por los test anteriorres. En los controles, la infección por *H. pylori* se diagnosticó por serología utilizando un kit comercial de ELISA (Plate Helicobacter IgG, Boehringer Mannheim; Cortesec Diagnostic Ltd., Clwyd, England), realizándose además un test de aliento con urea-¹³C en 44 de ellos. En un subgrupo de pacientes con infección por *H. pylori*, se determinó la existencia de anticuerpos frente a las citotoxinas CagA y/o VacA mediante Western blot (Bioblot Helicobacter, Biokit SA, Barcelona, España). Este test determina la presencia/ausencia de bandas proteicas de 116 kD (CagA), 89 kD (VacA), 35 kD (ureasa B), 30 kD (ureasa H), 26,5 kD (ureasa A) y 19,5 kD (ureasa E). Se consideró indicador de infección la presencia de una banda de 116, 89 o 35 kD o la presencia de dos bandas de 30, 26,5 o 19,5 kD.

Alelos del gen HLADQA1

En todos los pacientes y controles se aisló ADN genómico a partir de muestras de sangre periférica mediante digestión con proteinasa K y posterior extracción con fenol/cloroformo según procedimiento estándar. La tipificación de los alelos *0102 y *0301 se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con primers específicos de secuencia (PCR-SSP)¹⁸. El ADN amplificado se analizó mediante elektroforesis en gel de agarosa al 3%.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa SPSS/PC+ (SPSS Inc., Chicago, IL, EE.UU.). La fuerza de asociación de los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 con los diferentes grupos se estimó mediante el test de la χ^2 (o test exacto de Fisher), tras la realización de tablas de contingencia 2×2 . Se realizó además, un análisis multivariante mediante la construcción de un modelo de regresión logística paso a paso, considerando la presencia de úlcera péptica como variable dependiente y edad, sexo, *H. pylori*, portador del alelo *0102 y del alelo *0301 como variables independientes. En un segundo modelo se incluyeron solamente los pacientes con presencia de infección por *H. pylori*, añadiendo como variables independientes la presencia de anticuerpos frente a CagA y VacA. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$ y se muestran las odds ratio (OR) con sus intervalos de confianza del 95% (IC del 95%) de los factores de riesgo asociados de forma independiente con la presencia de úlcera péptica.

RESULTADOS

Características demográficas y clínicas de pacientes y controles

Las características demográficas y clínicas de los pacientes con úlcera duodenal o gástrica y los controles se exponen en la tabla I. Ciento once pacientes presentaron algún episodio de hemorragia digestiva, que se asoció al consumo de AINE en el 40% de las úlceras duodenales (UD) y el 84,8% de las úlceras gástricas (UG). Los pacientes con úlcera péptica presentaron con mayor frecuencia infección por *H. pylori* (UD: 94,6%; UG: 84,4%) que los con-

TABLA I. Características demográficas y clínicas de los pacientes estudiados

	Control, n = 90	Úlcera péptica, n = 163	Úlcera duodenal, n = 117	Úlcera gástrica, n = 46
Edad	46,5 ± 20,8	50,3 ± 14,2	47,6 ± 13,4	57,2 ± 14,1
Sexo varón	55 (61,1%)	120 (73,6%)	92 (78,6%)	28 (60,9%)
Antecedentes familiares de úlcera		46/151 (30,5%)	35/106 (33%)	11/45 (24,4%)
Historia previa ulcerosa		111/158 (48,1%)	61/112 (54,5%)	15/46 (32,6%)
Historia de hemorragia digestiva		111 (68,1%)	70 (59,8%)	41 (89,1%)
Consumo de AINE		85/161 (52,8%)	46/115 (40%)	39/46 (84,8%)
Infección por <i>H. pylori</i>	58/86 (67,4%)	144/157 (91,7%)*	106/112 (94,6%)**	38/45 (84,4%)*
CagA+	16/48 (33,3%)	72/98 (73,5%)**	49/67 (73,1%)**	23/31 (74,2%)**
VacA+	13/48 (27,1%)	44/98 (44,9%)*	32/67 (47,8%)*	12/31 (38,7%)
CagA y VacA	10/48 (20,8%)	39/98 (39,8%)*	28/67 (41,8%)*	11/31 (35,5%)

*p < 0,05; **p < 0,001 frente a control. AINE: antiinflamatorios no esteroides

TABLA II. Portadores de los alelos HLADQA1*0102 y *0301 en pacientes y controles en relación con la presencia de infección por *H. pylori*.

	n	*0102	*0301
Controles			
<i>H. pylori</i> (+)	58	23 (39,7%)	13 (22,4%)
<i>H. pylori</i> (-)	28	8 (28,6%)	9 (32,1%)
Total	90	33 (36,7%)	22 (24,4%)
Úlcera duodenal			
<i>H. pylori</i> (+)	106	32 (30,2%)	18 (17%)
<i>H. pylori</i> (-)	6	4 (66,7%)	1 (16,7%)
Total	117	39 (33,3%)	19 (16,2%)
Úlcera gástrica			
<i>H. pylori</i> (+)	38	11 (28,9%)	13 (34,2%)
<i>H. pylori</i> (-)	7	1 (14,3%)	2 (28,6%)
Total	46	13 (28,3%)	15 (32,6%)*

*p < 0,05 frente a úlcera duodenal.

TABLA III. Portadores de los alelos HLADQA1*0102 y *0301 en pacientes y controles con infección por *H. pylori*, en relación con la presencia de anticuerpos frente a las citotoxinas CagA y VacA

	n	*0102	*0301
Controles			
CagA (+)	16	7 (43,8%)	3 (18,8%)
CagA (-)	32	14 (43,8%)	6 (18,8%)
VacA (+)	13	8 (61,5%)	2 (15,4%)
VacA (-)	35	13 (37,1%)	7 (20%)
Úlcera péptica			
CagA (+)	72	25 (34,7%)	18 (25%)
CagA (-)	26	7 (26,9%)	6 (23,1%)
VacA (+)	44	12 (27,3%)	11 (25%)
VacA (-)	54	20 (37%)	13 (24,1%)

roles (67,4%). En 48 de los 58 controles positivos para *H. pylori* y en 98 de los 144 pacientes ulcerosos con infección, seleccionados al azar, se realizó determinación de anticuerpos séricos frente a los antígenos CagA y VacA. Las cepas CagA fueron mucho más frecuentes en los pacientes con úlcera duodenal y gástrica que en los controles, mientras que las cepas VacA solamente fueron más frecuentes en los pacientes con úlcera duodenal (tabla I).

Alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1

El alelo *0102 presentó una distribución similar en los pacientes (31,9%) y en los controles (36,7%). El alelo *0301

TABLA IV. Portadores de los alelos HLADQA1*0102 y *0301 en pacientes con úlcera péptica en relación con el consumo de AINE, historia previa ulcerosa y hemorragia digestiva

	n	*0102	*0301
Consumo de AINE			
(+)	85	26 (30,6%)	19 (22,4%)
(-)	76	26 (34,2%)	15 (19,7%)
Historia previa ulcerosa			
(+)	76	25 (32,9%)	14 (18,4%)
(-)	82	23 (28%)	20 (24,4%)
Historia de hemorragia digestiva			
(+)	111	33 (29,7%)	27 (24,3%)
(-)	52	19 (36,5%)	7 (13,5%)

fue más frecuente en la UG (32,6%) con respecto a la UD (16,2%) ($p < 0,05$), pero no se encontraron diferencias cuando se comparó con el grupo control (24,4%) (tabla II). Tampoco se encontraron diferencias cuando ambos alelos se analizaron de acuerdo con la presencia de infección por *H. pylori*, presencia de anticuerpos frente a las citotoxinas CagA y VacA (tabla III), consumo de AINE o antecedente de HDA o historia previa ulcerosa (tabla IV). El análisis de regresión logística identificó la infección por *H. pylori* (OR: 5,34; IC del 95%: 2,57-10,97) y el estatus CagA+ (OR: 5,53; IC del 95%: 2,6-11,69) como factores de riesgo independientes para úlcera péptica. Ni el alelo *0102 ni el *0301 del gen HLADQA1 ni la interacción de ambos alelos con la infección por *H. pylori* fueron factores de riesgo independientes para úlcera péptica.

DISCUSIÓN

En la actualidad, es conocido que factores inmunogenéticos del huésped, como los asociados a determinados genes que codifican determinados antígenos HLA o citocinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la interleucina-1 (IL-1), pueden determinar (al menos en parte) la respuesta a la infección por *H. pylori* y su evolución clínica^{14,19-22}. Este estudio se diseñó con el objetivo de evaluar si en una población caucásica los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 se asocian con una diferente evolución de la infección por *H. pylori*, como se había relacionado previamente en la población japonesa. Los resultados obtenidos sugieren que ser portador de estos ale-

los no se asocia con diferente susceptibilidad o evolución de la infección por *H. pylori* en una población caucásica del norte de España. Sin embargo, encontramos una diferente distribución del alelo *0301 dependiendo de la localización de la úlcera, siendo más frecuente en pacientes con úlcera gástrica cuando se comparaban con pacientes con úlcera duodenal.

Hasta la fecha, existen diversos estudios que han analizado la influencia de los alelos del gen HLADQA1 en la susceptibilidad a la infección por *H. pylori* y su evolución a úlcera péptica. Azuma et al^{14,15} observaron que la frecuencia del alelo DQA1*0102 era significativamente más frecuente en sujetos controles *H. pylori* negativos (25%) que en pacientes con úlcera duodenal *H. pylori* positivos (9%), y que la frecuencia del alelo DQA1*0301 era significativamente más baja en los controles *H. pylori* negativos (21%) que en los pacientes con úlcera duodenal *H. pylori* positivos (41,8%). Entre los pacientes con úlcera duodenal la frecuencia alélica del *0102 fue mayor en los pacientes *H. pylori* negativos y la del *0301 fue más alta en los pacientes *H. pylori* positivos¹⁶. En otro trabajo, encontraron diferencias en el alelo *0102 entre pacientes con infección y gastritis atrófica y adenocarcinoma gástrico, y los pacientes con gastritis superficial, concluyendo que este alelo podría tener un papel protector en la evolución de la infección por *H. pylori* hacia la gastritis atrófica y el cáncer gástrico¹⁷. Estos hallazgos sugieren que factores inmunogenéticos del huésped asociados al gen HLADQA1 podrían determinar la evolución clínica de la infección por *H. pylori*. Sin embargo, recientemente, Karhukorpi et al²³ no han encontrado ninguna asociación entre los alelos del gen HLADQA1 y la infección por *H. pylori* en una población finlandesa. Estos autores estudiaron 199 individuos con síntomas de dispepsia, en los cuales se determinó la infección por *H. pylori* por serología. En contraste con los resultados de Azuma et al^{14,15}, las frecuencias de los alelos *0102 y *0301 fueron similares en los sujetos *H. pylori* positivos y negativos.

En nuestro estudio tampoco se ha confirmado la asociación entre el gen HLADQA1 y la susceptibilidad a la infección por *H. pylori* y úlcera péptica hallada en la población japonesa, si bien existen diferencias importantes entre estos estudios que deben ser consideradas. En primer lugar, las diferencias étnicas de los pacientes estudiados. Como es conocido, los genes del CMH están localizados en el cromosoma 6p y son altamente polimórficos, lo que determina que existan diferencias genéticas importantes entre poblaciones de distinto origen geográfico y racial²⁴. Estas diferencias étnicas podrían explicar las diferencias en la frecuencia de los alelos HLADQA1 que han sido halladas en las poblaciones europea y japonesa. En segundo lugar, Azuma et al^{14,15} determinaron la frecuencia de todos los alelos del gen HLADQA1, mientras que nosotros sólo hemos estudiado la presencia de los alelos que ellos encontraron asociados con una diferente evolución de la infección por *H. pylori*. Por tanto, en nuestro estudio no conocemos la frecuencia alélica global y solamente conocemos si los pacientes son portadores o no del alelo *0102 o *0301.

Un hallazgo interesante de este estudio es la diferente distribución del alelo *0301 en pacientes con úlcera duodenal y gástrica. Como ya se ha comentado, los genes HLA son muy polimórficos, lo cual determina que existan importantes diferencias interindividuales en los antígenos de histocompatibilidad y, por tanto, en la respuesta inmuno-lógica (estos antígenos son particularmente importantes en controlar el reconocimiento del antígeno por el sistema inmune)¹⁰. A pesar de que no existieron diferencias cuando se compararon con el grupo control, los resultados apoyan la hipótesis de que las úlceras gástrica y duodenal presentan una base inmunogenética diferente, tal y como se ha evidenciado en estudios familiares y epidemiológicos previos^{25,26}.

Por otra parte, la infección por cepas de *H. pylori* con el isloite de patogenicidad CagA se ha asociado con formas más graves de lesión gastroduodenal⁶, por tanto investigamos si la asociación entre cepas virulentas de *H. pylori* y los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 se asociaba con una diferente evolución de la infección. Determinamos la presencia de anticuerpos en suero frente a las citotoxinas CagA y VacA en un subgrupo de pacientes y controles con infección activa por *H. pylori*, basados en evidencias que sugieren que un test serológico positivo para CagA es un marcador fiable de colonización por una cepa de *H. pylori* que posea el isloite de patogenicidad CagA²⁷. Tal y como se esperaba, los pacientes estaban más frecuentemente infectados con cepas CagA y VacA positivas que los controles, pero la distribución de los alelos *0102 y *0301 no fue diferente en dependencia del tipo de cepa. Aunque este estudio no fue diseñado específicamente para resolver esta cuestión, y los datos presentados se limitan a un subgrupo de pacientes con infección activa, creemos que éstos son suficientes para sugerir que ser portador de los alelos *0102 y *0301 no aumenta el riesgo para la aparición de úlcera en pacientes infectados por cepas de *H. pylori* más virulentas.

En resumen, los resultados de este estudio sugieren que ser portador de los alelos *0102 y *0301 del gen HLADQA1 no modifica ni la susceptibilidad a la infección por *H. pylori* ni su evolución a úlcera péptica en una población caucásica del sur de Europa.

BIBLIOGRAFÍA

- Marshall BJ. The 1995 Albert Lasker Medical Research Award. *Helicobacter pylori*. The etiologic agent for peptic ulcer. JAMA 1995; 274: 1064-1066.
- 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 USA 1996; 93: 14648-14653.
- Beales ILP, Crabtree JE, Scunes D, Covacci A, Calam J. Antibodies to CagA protein are associated with gastric atrophy in *Helicobacter pylori* infection. Eur J Gastroenterol Hepatol 1996; 8: 645-649.
- Van Doorn LJ, Figueiredo C, Sanna R, Plaisier A, Schneeberger P, De Boer W et al. Clinical relevance of the CagA, VacA, and IceA status of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1998; 115: 58-66.

5. Atherton JC, Peek RMJ, Tham KT, Cover TL, Blaser MJ. Clinical and pathological importance of heterogeneity in VacA, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 1997; 112: 92-99.
6. 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: 338-343.
7. Malaty HM, Engstrand L, Pedersen NL, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection: genetic and environmental influences: a study of twins. Ann Intern Med 1994; 120: 349-352.
8. Räihä I, Kemppainen H, Kaprio J, Koskenvuo M, Sourander L. Lifestyle, stress, and genes in peptic ulcer disease. A nationwide twin cohort study. Arch Intern Med 1998; 158: 698-704.
9. Go MF. What are the host factors that place an individual at risk for *Helicobacter pylori*-associated disease? Gastroenterology 1997; 113: S15-S20.
10. Campbell RD, Trowsdale T. Map of the human MHC. Immunol Today 1993; 14: 349-352.
11. Wee A, Teh M, Kang JY. Association of *Helicobacter pylori* with HLA-DR antigen expression in gastritis. J Clin Pathol 1992; 45: 30-33.
12. Chiba M, Ishii N, Ishioka T, Murata M, Masamune O, Sugiyama T et al. Topographic study of *Helicobacter pylori* and HLA-DR antigen expression on gastric epithelium. J Gastroenterol 1995; 30: 149-155.
13. Ihah A, Krizman I, Ferlan-Marolt V, Tepez B, Gubina M. HLA-DR expression on CD8 lymphocytes from gastric mucosa in urease-positive and urease-negative gastritis. FEMS Immunol Med Microbiol 1995; 10: 295-299.
14. Azuma T, Konishi J, Tanaka Y, Hirai M, Ito S, Kato T et al. Contribution of HLA-DQA gene to host's response against *Helicobacter pylori* [carta]. Lancet 1994; 343: 542-543.
15. Azuma T, Ito Y, Miyaji H, Dojyo M, Tanaka Y, Hirai M et al. Immunogenetic analysis of the human leukocyte antigen DQ α 1 locus in patients with duodenal ulcer or chronic atrophic gastritis harbouring *Helicobacter pylori*. Eur J Gastroenterol Hepatol 1995; 7 (Supl 1): S71-S73.
16. Azuma T, Konishi J, Ito Y, Hirai M, Tanaka Y, Ito S et al. Genetic differences between duodenal ulcer patients who were positive or negative for *Helicobacter pylori*. J Clin Gastroenterol 1995; 21 (Supl 1): S151-S154.
17. Azuma T, Ito S, Sato F, Yamazaki Y, Miyaji H, Ito Y et al. The role of the HLA-DQA1 gene in resistance to atrophic gastritis and gastric adenocarcinoma induced by *Helicobacter pylori* infection. Cancer 1998; 82: 1013-1018.
18. Olerup O, Aldener A, Fogdell A. HLA-DQB1 and BDQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. Tissue Antigens 1993; 41: 119-134.
19. Larrea M, Barrios Y, Jiménez A, Salido E, Quintero E. Interaction between host HLA-DQB1 and *Helicobacter pylori* genotype predicts the development of peptic ulcer disease [resumen]. Gastroenterology 1996; 116: A232.
20. Lee JE, Lowy AM, Thompson WA, Lu M, Loflin PT, Skibber JM et al. Association of gastric adenocarcinoma with the HLA Class II gene DQB1*0301. Gastroenterology 1996; 111: 426-432.
21. Lanas A, García-González MA, Crusius BA, Santolaria S, Sevrano MT, Peña AS. *Helicobacter pylori* and NSAID induced gastric and duodenal ulcers are associated with polymorphisms of the TNF genes [resumen]. Gastroenterology 1998; 114: A1.018.
22. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KE, Bream JH, Young HA et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. Nature 2000; 404: 398-402.
23. Karhukorpi J, Ikäheimo I, Sivennoinen-Kassinen S, Tiilikainen S, Karttunen R. HLA-DQA1 alleles and the presence of *Helicobacter pylori* antibodies. Eur J Immunogenet 1999; 26: 15-17.
24. Martínez-Jarreta B, Bolea M, Castellano M, Hinojal R, Abecia E. Distribution of HLA DQA1 alleles and genotypes in two Spanish populations (Aragón and Asturias). Forensic Science International 1996; 81: 185-190.
25. Rotter JI, Petersen GM, Samloff IM. Pepsinogens and other physiologic markers in genetic studies of peptic ulcer and related disorders. Prog Clin Biol Res 1985; 173: 227-244.
26. Hein HO, Suadicani P, Gyntelberg F. Genetic markers for peptic ulcer. A study of 3387 men aged 54 to 74 years: the Copenhagen Male Study. Scand J Gastroenterol 1997; 32: 16-21.
27. Miehlke S, Go MF, Kim JG, Graham DY, Figura N. Serologic detection of *Helicobacter pylori* infection with cagA-positive strains in duodenal ulcer, gastric cancer, and asymptomatic gastritis. J Gastroenterol 1998; 33 (Supl 10): 18-21.