

69323

T. C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ  
GASTROENTEROLOĞİ BİLİM DALI BAŐKANLIĐI

**KRONİK GASTRİTLİ HASTALARDA PLAZMA TOTAL  
HOMOSİSTEİN KONSANTRASYONLARI VE HELİCOBACTER  
PYLORİ ENFEKSİYONU İLE İLİŞKİSİ**

YANDAL UZMANLIK TEZİ

AHMET ERDİL  
Tbp. Bnb.

ANKARA – 1998

# İÇİNDEKİLER

I.	GİRİŞ .....	1
II.	GENELBİLGİLER.....	3
III.	GEREÇ VE YÖNTEM.....	23
IV.	BULGULAR.....	27
V.	TARTIŞMA VE SONUÇ.....	35
VI.	ÖZET.....	40
VII.	İNGİLİZCE ÖZET.....	42
VIII.	KAYNAKLAR.....	44

## ÖNSÖZ

Bu tez konusu GATA ve Askeri Tıp Fakültesi Gastroenteroloji B.D. Başkanlığınca verildi ve 1998 yılının şubat-haziran ayları arasında çalışıldı.

Homosistein sülfür içeren bir aminoasit olup diyetle alınan metionin metabolizması sonucu oluşur. Bu metabolik yolda rol alan enzimler vitamin B12, B6 ve folatı kofaktör olarak kullanırlar. Vitamin B12 ve folat yetersizliklerinde plazma total homosistein seviyeleri yükselir. Hiperhomosisteinemi kardiovasküler kalp hastalıkları için bağımsız risk faktörüdür. Açıklanamayan serum kobalamin yetersizliği olan hastalarda Helicobacter pylori infeksiyonunun rolü olduğu düşünülmektedir. Hp tedavisinden sonra serum kobalamin seviyeleri artmaktadır.

Bu çalışmada amacımız, Helicobacter pylori tedavisi ile plazma total homosistein konsantrasyonlarında azalma olup olmadığını ve bunların vitamin B12 ve folat ile ilişkisini araştırmak.

Gastroenteroloji yandal uzmanlık öğrenciliği eğitimim sırasında bana her türlü kolaylığı gösteren ve destekleyen, Gastroenteroloji B.D. Başkanı değerli hocam sayın Prof. Dr. Kemal DAĞALP'e teşekkürü borç bilirim.

Bu eğitimim sırasında büyük emekleri geçen ve tecrübelerinden yararlandığım sayın hocalarım Prof. Dr. Necmettin KARAEREN'e, Doç. Dr. Sait BAĞCI'ya, Doç. Dr. Mustafa GÜLŞEN'e Yrd. Doç. Dr. Can UYGURER, ve Yrd. Doç. Dr. Celalettin ÇETİN'e olgularımın temininde ve mesaim süresince çalışmalarına destek veren mesai arkadaşlarım Yrd. Doç. Dr. Ahmet UYGUN, Uzm. Dr. Ahmet TÜZÜN ve Uzm. Dr. Yüksel ATEŞ'e, tez çalışmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Dr. Zeki YEŞİLOVA'ya, Dr. Halil YAMAN'a, Dr. Esat HOŞGÖNÜL'e ve Dr. Nuri ASLAN'a, kliniğimizin değerli hemşire ve memurlarına, ayrıca daima desteğini gördüğüm değerli eşim Ecz. Nursel ERDİL'e şükranlarımı sunarım.

Dr. Ahmet ERDİL

Ankara, 1998

## GİRİŞ

Homosistein(Hcy) sülfür içeren bir aminoasit olup, metiyoninin demetilasyonu sonucu oluşur. Esansiyel bir aminoasit olan metiyonin diyetle alınmaktadır. Metiyoninin transsülfürasyon yoluyla sisteine kadar yıkılması sırasında homosistein ara ürün olarak oluşur. Oluşan homosistein sistatyonin beta sentetaz ile sistatyonine veya metiyonin santetaz ile tekrar metiyonine dönüşür. Bu enzimler pridoksal fosfat(B<sub>6</sub>), folat ve kobalamini(B<sub>12</sub>) kofaktör olarak kullanır(59,92,94,95). Bu enzimlerin genetik defektleri, vitaminlerin eksikliği orta veya ileri derecede hiperhomosisteinemiye yol açar(59,94).

Yüksek plazma homosistein düzeyleri günümüzde prematüre kardiovasküler hastalıklar için bağımsız risk faktörü olarak kabul edilmektedir(34,42,45,60,76). Artmış plazma homosistein seviyeleri endotelial hücrelere direkt toksik etkisi, endotelial hücrelerden nitrik oksit sekresyonunu inhibe etmesi, platelet agregasyonunu artırması ve vazokonstrüksiyona yol açması nedeniyle, prematüre aterosklerozis ve venöz trombozis için risk faktörü olarak kabul edilmektedir(37,38,92).

Folat ve kobalamin yetersizliği olan hastalarda plazma homosistein düzeylerinde artma gözlenmektedir. Total plazma homosisteini folat ve kobalamin yetersizliğinin tanı ve takibinde değerli bir test olarak kabul edilmektedir (16,82,87,88,93). Yapılan bazı çalışmalarda, homosistein subklinik vitamin B<sub>12</sub> ve folat yetersizliğinde normal hematolojik testlere nazaran daha sensitif olduğu kabul edilmektedir(38,76). Kobalamin yetersizliği olan hastaların %5-10'unda klinik olarak kobalamin eksikliği tanısı olmasına rağmen normal serum kobalamin seviyeleri mevcuttur. Bu hastalarda kobalamin eksikliğini belirlemede plazma total homosistein düzeyleri daha hassas bulunmuştur(49,50).

Helicobacter pylori (Hp) tüm dünyada insanlarda görülen, en yaygın kronik enfeksiyon etkeni olarak kabul edilmektedir(65,66). Klasik nedenlerle açıklanamayan serum kobalamin düzeyleri düşüklüklerinde Hp enfeksiyonunun

buna neden olabileceği düşünölmüş olup, Hp tedavisiyle serum kobalamin seviyelerinde artışlar tespit edilmiştir(50).

Kronik gastrite yol açan, kronik enfeksiyon etkeni olan Hp B<sub>12</sub> ve folat yetersizliğine neden olmaktadır ve bu vitaminlerin eksiklikleri sonucu plazma homosistein düzeylerinde yükselmeler tespit edilmektedir. Bu nedenlerden dolayı birçok çalışmada Helicobacter pylori'nin de koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceği öne sürölmüştür(53,58,92,101).

Biz bu çalışmada, Hp pozitif kronik yüzeysel gastrit tespit ettiğimiz nonülser dispepsili hastalarda, plazma total homosistein düzeylerini tespit etmeyi, bu hastalarda Hp eradikasyonu sağlandıktan sonra plazma total homosistein düzeylerinde azalma olup olmadığını, ve bunun kobalamin ve folat ile ilişkisini araştırmayı amaçladık.



## GENEL BİLGİLER

Homosistein sülfür içeren bir aminoasit olup, diyetle alınan metiyoninin demetilasyonu sonucu oluşur. İlk kez 1932 yılında DeVigneaud tarafından bulunmuştur(20,95). 1962 yılında doğuştan homosistinürili hastaların idrarlarında ilk kez homosistin tespit edilerek tanı konmuştur. Bu hastaların kanlarında ve idrarlarında yüksek miktarlarda homosistein bulunmuş olup, bu yüksek konsantrasyonlar basit bir kimyasal test veya aminoasit ölçümü ile tespit edilebilmiştir(14,98).

1964'de Gerritsen ve Waismann konjenital anomalisi olan mental retardasyonlu bebeklerin idrarlarında homosistin saptamışlardır(30). Bu bulgular homosistinürinin klinik özellikleri ve biyokimyasal temelleri üzerine birçok araştırmayı başlatmıştır. Bu araştırmalar sonucu; 1964 yılında Mudd ve arkadaşları tipik homosistinürili bir hastadan aldıkları karaciğer biyopsi örneklerinde sistatyonin beta sentetaz eksikliğini göstermişlerdir(62). Daha sonraları da homosistinüriye neden olan diğer nadir enzim defektleri tanımlanmıştır(63).

1970'lerin ortalarında ikinci jenerasyon aminoasit ölçüm teknikleri ile serbest homosistein düzeyleri sağlıklı bireylerde ölçülmeye başlandı. Plazma homosisteinin orta derecede yükseklikleri ile, artmış kardiovasküler hastalık riski arasındaki ilişkilerle alakalı ilk klinik çalışmalar bu metoda bağlı olarak 1970'lerin sonlarına doğru yapılmaya başlandı(36,103,104).

Son 20 yıl içinde biyolojik materyallerde homosistein tespitinde kullanılan tekniklerde büyük aşamalar kaydedilmiştir. Bu metodlar serbest ve proteine bağlı homosisteinin toplamını ölçen total homosistein ölçümleridir(41,72,74). Daha önceleri homosisteinin fizyolojik şartlar altında insan plazma ve dokularında olmadığı kabul ediliyordu. Bunun sebebi ölçüm tekniklerinin çok küçük miktarlardaki düzeyleri saptayamamasıydı(27). Bugün ise normal bireylerin plazmasında, homosistinüri dışındaki değişik hastalık durumlarındaki

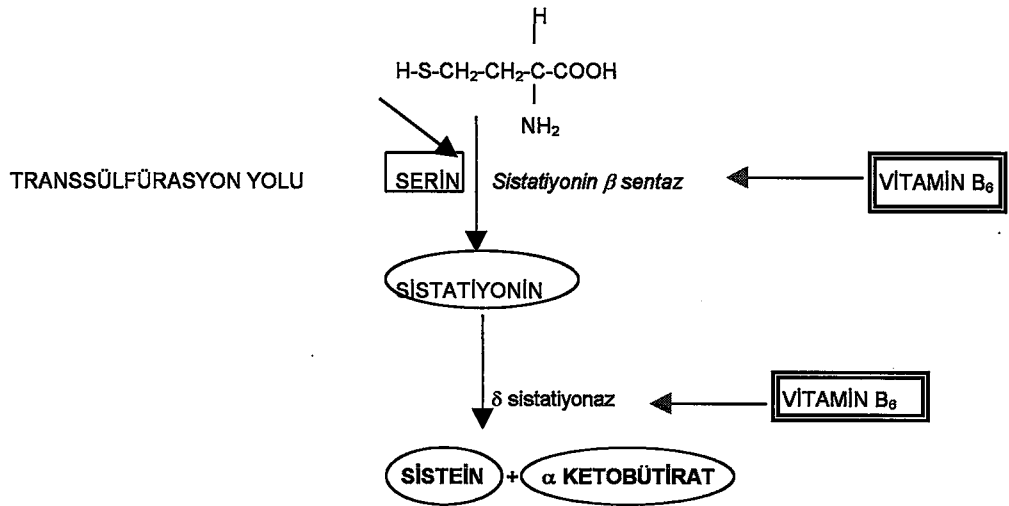
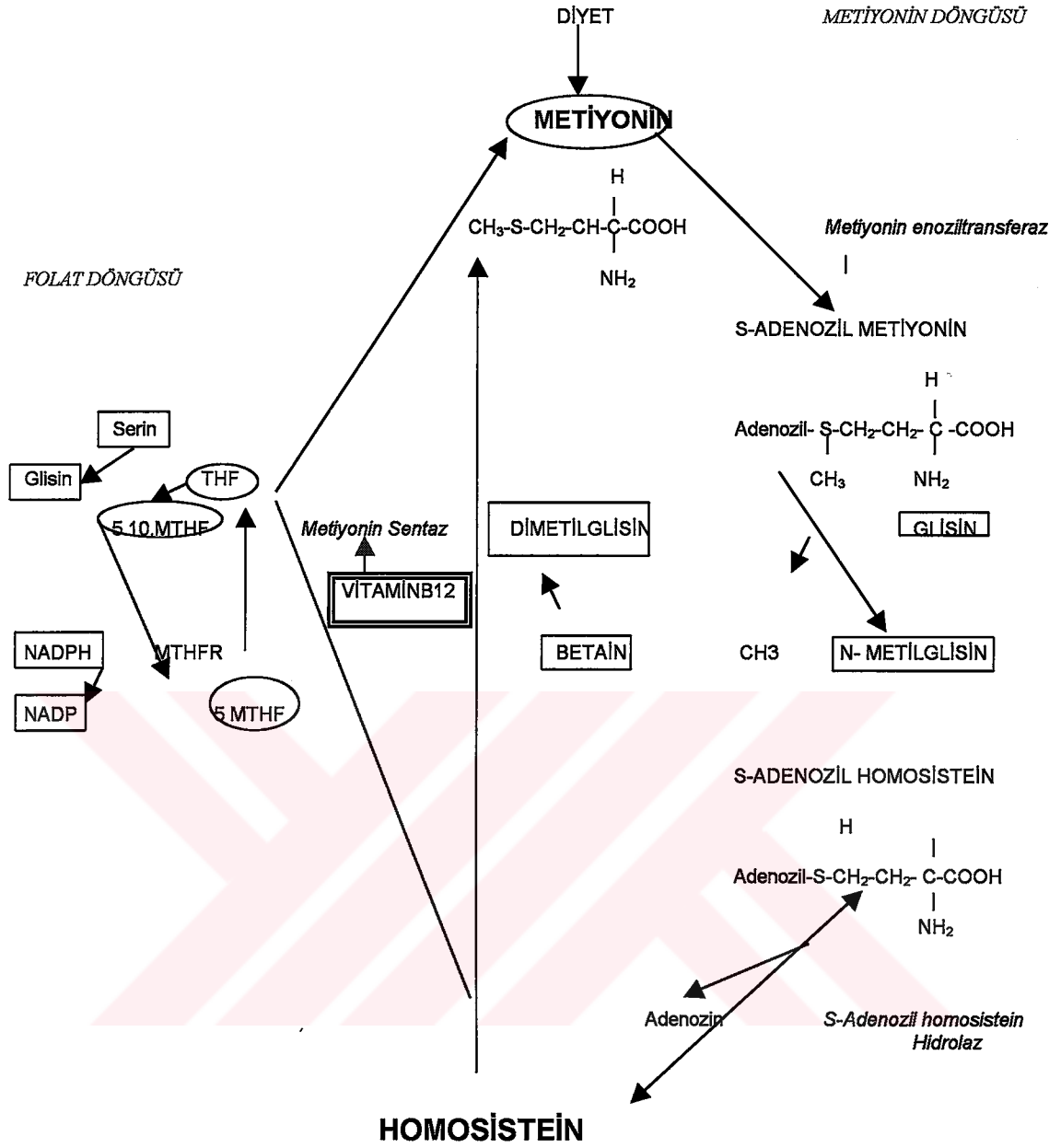
eksikliklerde ve değişik ilaç kullanımı sırasındaki homosistein düzeyleri ölçülebilmektedir. Dolaşımdaki total homosisteinin %2'si redükte haldeki serbest homosistein, %10-20'si okside homosistein olan homosistin, %5-10'u homosistein-sistein karışık disülfid ve %80-90'ıda proteine bağlı homosistein şeklindedir. Bunların hepsi birden total homosistein olarak adlandırılır. Total homosistein vitamin yetersizlik durumlarında ve kardiovasküler risk faktörü olarak birçok çalışmada araştırılmıştır(1,42,95).

Bu güne kadar aşağı yukarı 20 klinik çalışmada 1800'den fazla hastada ve eşit sayıdaki sağlıklı bireylerde orta derecede artmış serum/plazma homosistein düzeyleri prematüre kardiovasküler kalp hastalıkları için bağımsız risk faktörü olarak sorumlu tutulmuştur. Belirgin risk faktörleri bulunmayan prematüre kardiovasküler hastalarının %30'unda normalden yüksek homosistein düzeyleri bulunmuştur. Hiperhomosisteinemi kalp-damar hastalıkları için sigara, hipertansiyon, hiperlipidemi ve şişmanlığın üstüne major risk faktörü olarak eklenmiştir (42, 44,51,52). 1985 yılından beri plazma/serum homosistein düzeyleri folat ve kobalamin yetersizliklerinin teşhis ve takibinde kullanılmaya başlandı. Hamilelerde bu vitaminlerin eksiklikleri sonucu oluşan çeşitli nöral tüp defektleri ile homosistein düzeyleri birbirleri ile ilişkilendirilmiştir(13,49,50,86,89).

## **HOMOSİSTEİN METOBOLİZMASI**

Sülfür içeren bir aminoasit olan homosistein proteinlerin yapısına girmez. Homosistein vücutta sentez edilmesine rağmen diyetle alınan esansiyel bir amino asit olan metiyoninden oluşması nedeniyle esansiyel bir aminoasit olarak kabul edilmektedir(59). Homosistein metiyoninin demetilasyonu sonucu çok yönlü metil vericisi S-adenozilmetiyoninden meydana gelir (Şekil1).

S-adenozilmetiyonin hücre sel alıcılara metil grubunu transfer etmesiyle de S-adenozilhomosistein oluşur. S-adenozilmetiyonin bağımlı transmetilasyon reaksiyonlarının feedback inhibitörü olarak fonksiyon görür. Oluşan S-adenozilhomosistein homosistein ve adenezine ayrılır.



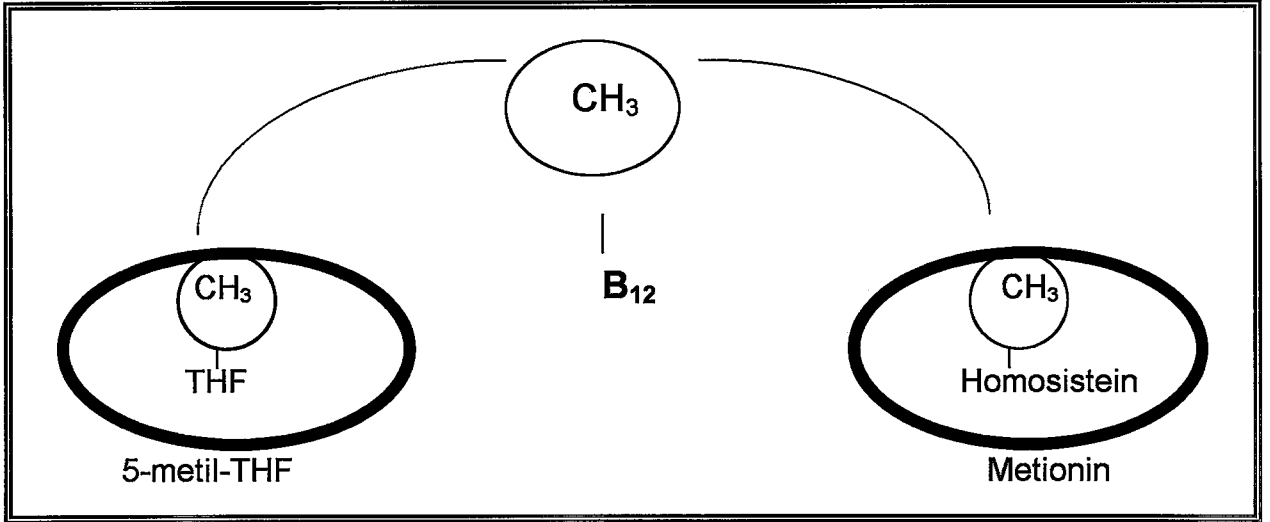
Şekil.1: Homosistein Metabolizması

Bu yolu katalize eden enzim S-adenozilhomosistein hidrolaz enzimidir. Bu reaksiyon vertebralılarda homosistein oluşumunu sağlayan bilinen tek metabolik yoldur. Oluşan her iki ürün de daha ileri metabolizma ile kaldırılır. Metabolik akış hidroliz yönündedir(59,95,96).

Hücre içi homosistein hem metionine remetile edilir, hem de serin ile birleştirilerek sistatyonin oluşturulur. Daha sonraki reaksiyon sistatyonin beta sentetaz enzimi tarafından katalize edilir. Bu enzim B<sub>6</sub> vitamininin biyolojik aktif formu olan pridoksal-5-fosfata kofaktör olarak gereksinim gösterir. Sistatyonin sentezinin fizyolojik önemi bu reaksiyonun irreversibil olmasından dolayı, homosisteinin bir metiyonin prekürsörü olarak daha fazla kullanılmasını engellemesidir. Sistatyoninin artmış sentezi, aşırı metiyonine karşı metabolik bir adaptasyon olarak görülmektedir(25,91).

Sistatyonin gama-sistatyonaz enzimi tarafından sistein ve alfa keto butirata parçalanır. Bu enzim de aktivitesi için pridoksal-5-fosfat'a gereksinim duyar. Gama-sistatyonaz metiyoninin sisteine dönüşümünü tamamlar ki, bu *transsülfürasyon yolu* olarak adlandırılır. Homosisteinin metiyonine dönüştürülmesi ise, hem betain homosistein metil transferaz enzimi (BH), hemde 5-metil tetrahidrofolat homosistein metil transferaz (metiyonin sentetaz) enzimi tarafından katalize edilir(91,94).

BH karaciğere sınırlı bir enzim olmakla birlikte, böbrekte minimal aktivitesi bulunmaktadır. Metiyonin sentetaz ise hayvan dokularında yaygın olarak bulunur ve metil vericisi olarak 5-metil tetrahidrofolat ve kofaktör olarak B<sub>12</sub> vitaminine gereksinim duyar. Bakteriyel enzimlerle yapılan çalışmalar metil kobalaminin (B<sub>12</sub>) homosisteini metillediğini ve 5-metil tetrahidrofolatın metil grubunun kobalamini tekrar metillediğini göstermiştir.(Şekil2) Bu reaksiyonda 5-metil tetrahidrofolat homosistein metil transferaz enzimi homosistein metabolizmasını L-metil malonil KoA mutazla birlikte folatlara ve B<sub>12</sub> vitaminine bağlar(78).



Şekil 2. 5-metil tetrahidrofolat homosistein metiltransferaz reaksiyonunda, redükte folatlar, kobalamin ve homosistein arasında metil transferi. (THF: tetrahidrofolat)

Homosisteinin, folat ve vitamin B<sub>12</sub> 'ye bağlı remetilasyonu vitamin B<sub>12</sub> ve folat arasındaki klinik olarak iyi tesis edilmiş ilişkiyi açıklar. Bunlardan herhangi birinin eksikliği kanda ve kemik iliğinde değişikliklere yol açar ve bunun sonucu megaloblastozis oluşur ki, folat verilimi ile vitamin B<sub>12</sub> eksikliği ile indüklenen kemik iliği değişiklikleri kısmen iyileşebilir(78,95).

Homosistein katabolize edici enzimlerle veya metiyonine dönüştürücü enzimlerle metabolize edilir. Sistatyonin beta sentetaz ve gama sistatyonaz homosistein katabolize eden enzimlerdir. Sistatyonin beta sentetaz S-adenozil metiyonin ile diyetle alınan metiyoninin aşırı miktarda vücutta bulunduğu aktive edilir. Bu özellikler nedeniyle homosisteinin transsülfürasyon yolundan hem çabuk hemde uzun süreli yıkımı sağlanmış olur.

Homosistein remetile edici 5-metil tetrahidrofolat homosistein metil transferaz ve betain-homosistein metil transferaz enzimleri S-adenozilmetiyonin ile inhibe olurlar ve metiyonin fazla olduğu zaman da aktiviteleri azalır. Bu özellikleri ise düşük homosistein düzeylerinde de metiyonine dönüş olduğunu açıklar(26,94). Uzun zaman betain-homosistein metil transferaz enziminin kolin metabolizması ve homosisteinin kaldırılmasından sorumlu olduğuna inanılmıştır. Ancak son kanıtlar bu enzimin memelilerde metiyonin homeostazisi ile ilgili olduğunu göstermektedir(95).

Dokularda homosisteinin az (1-5nmol/gm) fakat stabil miktarlarda protein ile ilişkili bir fraksiyonu daha saptanmıştır. Hücre çalışmaları her iki homosistein fraksiyonunun kısa bir ömre sahip olduğunu ve homosisteinin etkin olarak ekstrasellüler ortama taşındığını göstermiştir. Bu taşınma homosistein üretiminin artması ile artmakta ve üretimin inhibisyonu ile azalmaktadır. Bu durum homosisteinin hücreden dışarı çıkışının, hücre içi seviyesinin belli sınırlarda tutulmasında bir rol oynadığını göstermektedir. İzole hücrelerdeki bu gözlemler plazma ve idrar gibi hücre dışı ortamlardaki homosistein miktarı ile hücre içi homosistein üretimi ve kullanımı arasındaki dengeyi yansıttığı olasılığını desteklediğinden dolayı önemlidir(94,95).

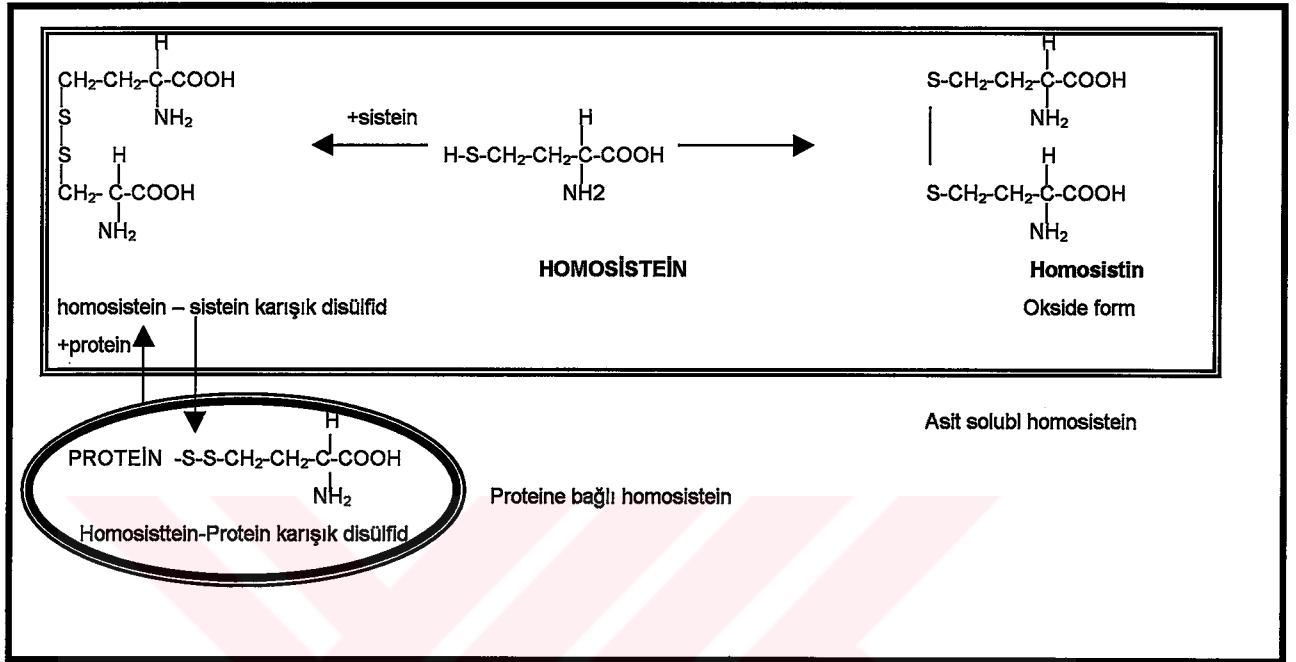
## **PLAZMADA HOMOSİSTEİN FORMLARI VE KONSANTRASYONLARI**

Uzun zaman fizyolojik şartlar altında plazma idrar ve dokularda homosisteinin bulunmadığına inanılmasının nedeni, mevcut aminoasit analizörlerinin saptama limitlerinin altındaki küçük konsantrasyonlarda homosistein bulunması idi. İlk kez 1978 yılında Gupta ve Wilcken tarafından açlıkta normal erkeklerin plazmasında homosistein varlığı gösterilerek asit ile deproteinize edilmiş plazmada homosistein-sistein karışımı bir disülfid olarak saptanmıştır(36).

Kang ve arkadaşları ilk kez homosistinürili ve homosistinüri için heterozigot olanlarda olduğu gibi, normal kişilerde de homosisteinin proteine bağlı önemli bir fraksiyonu olduğunu bulmuşlardır. Bu proteine bağlı homosistein, plazmadaki total homosisteinin %70'ini oluşturmaktadır. Son zamanlarda plazmadaki proteine bağlı homosisteinin hangi proteinlere bağlandığı ve bağlanma bölgeleri ratlarda ve insanlarda çalışılmıştır. Homosisteinin büyük oranda albümine bağlandığı bulunmuştur. Homosisteinin büyük bir kısmı düşük konsantrasyonlarda da proteine bağlanabilmektedir(43,95).

Homosistein plazmada diğer sülfidrillerle reversibl disülfid bağları oluşturarak homosistin, homosistein-sistein karışık disülfidler ve homosistein-protein karışık disülfid (proteine bağlı homosistein)'e dönüşür. Total homosistein; homosistin, homosistein-sistein karışık disülfid ve proteine bağlı homosisteini

İçerir. Serbest homosistein ise homosisteinin sülfidril, disülfid ve karışık disülfid formlarını içerir(2,72). Plazmadaki homosisteinin değişik formları arasındaki ilişki Şekil 3'de gösterilmiştir.



Şekil.3: Total Homosisteini Oluşturan Plazmadaki Homosistein Formları

Plazma homosistein-sistein karışımı disülfidlerdeki cinsiyet ve yaş ile ilişkili farklılıklar, proteine bağlı homosistein içinde ayrıntılı olarak çalışılmıştır. Erkeklerde kadınlara göre daha yüksek total plazma homosistein seviyeleri bildirilmiştir. Plazma homosisteinindeki farklılıklar cinsiyet ve yaş grupları arasında da gözlenmiştir(51,94,95).

### Plazma:

Taze hazırlanmış plazmada homosistein, esas olarak serum albumin ile kompleks yapmış halde ve homosisteinin eser miktarları, muhtemelen serbest tiyol ve karışık disülfidlerin bir kombinasyonu şeklinde bulunur. Plazma asitle deproteinize edildiğinde proteine bağlı homosistein birlikte presipite olur. Solüsyonda homosistein karışık disülfid, homosistin ve homosistein kalır. Bu solubl örneklerin toplamı serbest homosistein olarak isimlendirilir.

Plazmanın hazırlanmasından sonra serbest ve bağılı homosistein arasında belirgin bir tekrar dağılım meydana gelir. Yüksek derecelerde plazma proteinleri ile serbest homosisteinin hızlı bağlanması söz konusudur. -20 C'de birkaç hafta tutulduğunda homosisteinin çoğu proteine bağılı hale gelir ve serbest homosistein eser olarak saptanır. Homosistinürili hastalardan alınan plazmada sistin, homosistin ve homosistein-sistein karışık disülfidler içinde benzer gözlemler elde edilmiştir. Bu durum dikkatsiz örnek toplanması ve saklanması durumlarında total plazma homosistein ölçümünün zorunlu olduğu anlamına gelir. Zira serbest (asit solubl) homosistein bu gibi hallerde yalancı olarak düşük gözükabilir(2,94,95).

### **İdrar:**

Normal bireylerde veya deney hayvanlarında idrarda homosistein tayini son zamanlarda ölçülmeye başlanmıştır. Homosistein renal klerensi kreatinin klerensinin %0.3'ü kadardır ve 3.5-10  $\mu\text{mol}/24$  saat miktarındadır. Bu insanlardaki labil metil gruplarının turnoverinin %0.1'i kadardır. Fizyolojik şartlar altında homosisteinin renal atılımı total homosistein klerensinin küçük bir parçası olarak görülmektedir(95).

### **Örnek Toplama ve Stabilitesi:**

Doğru bir ölçüm için hızlı örnek işlemi ister. Hızlı olarak hazırlanmış plazma, serumdan %10-20 kadar daha az homosistein içerir. Her ne kadar oda sıcaklığında 4 saat bırakılan serumda homosisteinde %35' lik bir artış olmakla beraber 1 saat içinde herhangi bir değişiklik olmamaktadır. Hücre içi homosistein eser miktarlarda olduğundan, kan hücrelerinden serbestleşen homosistein nedeni ile oluşan yapay artış glutatyondan çok daha azdır. Hücrelerden plazma içine homosistein sızması kanın buz içine koyulması ile geciktirilebilir. Bu şartlar altında serbest veya bağılı homosisteinde yarım saatde herhangi bir değişiklik olmaz, en azından 12 saat stabil kalır(94,95).

## **Plazma Homosistein Konsantrasyonunu Etkileyen Durumlar:**

Plazma homosistein konsantrasyonlarını etkileyen birçok faktör vardır. Bunlar genetik, fizyolojik veya patolojik olabilir. Bu faktörler Tablo1'de özetlenmiştir.

Tablo1: Plazma homosistein düzeylerini etkileyen faktörler.

---

### **Genetik**

- ◆ Sistatyonin beta sentetaz yetersizliği (%0.5-1.5)
- ◆ Metiyonin sentetaz eksikliği(seyrek)
- ◆ Metil tetrahidrofolat redüktaz eksikliği (%50)

### **Fizyolojik**

- ◆ Yaş: Homosistein yaşla birlikte artar
- ◆ Cins: Pre ve post menopozal kadınlar erkeklerden daha düşük seviyelere sahiptir
- ◆ Diyet: Metiyonin, folat, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> alımıyla ilişkili
- ◆ Alkol

### **Patolojik**

- ◆ Vitamin yetersizliği
- ◆ Böbrek hastalıkları
- ◆ Transplantasyon
- ◆ Kardiovasküler hastalıklar
- ◆ Ciddi psöriazis

### **İlaçlar**

- ◆ Oral kontraseptifler. Homosistein seviyesini azaltır.
  - ◆ Kortikosteroidler. (Arttırır)
  - ◆ Siklosporin (Arttırır)
  - ◆ Sigara (Arttırır)
-

Sistatyonin beta sentetaz veya metiyonin sentetaz gibi major enzimlerin kalıtsal yetersizliği sonucu homosistinüri oluşur. Homosistinürinin orijinal tarifinde sistatyonin beta sentetaz enziminin homozigot yetersizliği söz konusudur. Bu hastalarda plazma homosistein seviyeleri 50µmol/L nin üzerindedir ve plazma metiyonin konsantrasyonları da artmıştır. Populasyonun %0.5-1.5'unda sistatyonin beta sentetazın heterozigot mutasyonları mevcuttur. Bunlarda hafif homosistein yükseklikleri görülür(7,59) Bu şahıslarda okluziv vasküler hastalık riski diğer sağlıklı insanlara göre daha fazladır(7,46).

Metiyonin sentetaz enzim eksikliği seyrek görülen bir durumdur. Bu hastalarda plazma homosistein seviyelerinde artış olmasına rağmen metiyonin seviyelerinde azalma vardır(59). Erkeklerde dolaşan homosistein konsantrasyonları premenapozal kadınlardan %25 daha yüksektir. Bu farklılık menapozdan sonra azalır fakat kaybolmaz. Hormon replasman tedavisi serum homosistein seviyelerini azaltabilir. Postmenapozal kadınlarda östradiol seviyeleri ile homosistein seviyeleri arasında kuvvetli negatif ilişki vardır(6,97). Hamilelerde dolaşan albumin seviyelerinin fizyolojik azalmasına bağlı olarak total homosistein seviyelerinde de azalma gözlenir(3).

Diyet homosistein seviyelerinde önemli rol oynar. Serum homosistein seviyeleri metiyonin alımıyla direk, vitamin alımı ile ters ilişkilidir. Metiyoninden zengin kimyasal proteinlerle beslenenlerde homosistein seviyeleri yükselir. Taze sebze ve meyveden zengin beslenenlerde homosistein seviyeleri azalır(59). Sigara içme, ileri yaş ve sedanter hayat homosistein sentezinde artmaya yol açar(64).

Erken kardiovasküler hastalarının plazma homosisteinlerindeki artış, sağlıklı kişilerdekine göre %30'un üzerindedir. Koroner arter hastalığında plazma homosistein konsantrasyonu hastalarda normallere göre 1.2-1.3 kat daha fazladır. Periferik ve serebrovasküler hastalıklarda ise bu oran 1.5-1.8'dir(44). Hiperhomosisteinemi prematür kardiovasküler hastalık için hipertansiyon, sigara, diabet ve kollesterol gibi diğer risk faktörlerinden bağımsız major risk faktörüdür.

Homosisteinin aterogenez üzerindeki rolü henüz tam aydınlığa kavuşturulamamıştır(42,90,95).

Plazma homosisteini renal yetmezlikli hastalarda da artmaktadır. Bu artış orta derecededir.(50 $\mu$ mol/L'ye kadar) ve serum kreatinini ile pozitif bir korelasyon vardır(90,95). Psöriazisli, lösemili ve solid tümörü olan hastalarda da orta derecede homosistein artışı tespit edilmiştir(75,90). Down sendromlu bazı hastalarla,hipertroidili birçok hastada ise plazma homosistein konsantrasyonları düşük olarak bulunmuştur(15,40).

Spina bifida, anensefali gibi konjenital malformasyonları içeren nöral tüp defektli çocuk doğuran bayanlarda homosistein seviyeleri yüksek bulunmuştur. Yapılan çalışmalarda folat yetersizliğinin buna yol açabileceği tespit edilmiş ve 0.4mg/gün düşük dozda folat tedavisiyle nöral tüp defekti riskinin azaldığı tespit edilmiştir(19,61).

### **Kobalamin Eksikliği:**

Genellikle 60 yaş ve yukarısında gelişen kobalamin eksikliğinin klasik görüntüsü megaloblastik anemi, makrositoz ve hipersegmente nötrofiller ile buna eşlik eden nörolojik anormallikler şeklindedir. Bu durumlarda hematolojik tablo önemli bir diagnostik özellik olarak alınmaktadır(57). Son yıllarda yapılan klinik araştırmalar, bu klasik görünüşün yanlış olduğunu ve çok hafif biyokimyasal değişikliklerin olduğu ve hiçbir hematolojik anormalliğin olmadığı çok geniş bir hasta grubunda kobalamin eksikliği olduğunu göstermiştir. Ayrıca kobalamin eksikliğinden dolayı olan nöropsikiyatrik bozukluklar, anemi ve makrositoz olmaksızın da görülmektedir(13,49,86).

Kobalamin eksikliğinin tanısı için kurulu testlerin birtakım dezavantajları vardır. Serum kobalamin ölçümleri eksiklik bulunan hastaları normallerden tam olarak ayıramaz. Çünkü normallerin %2.5'i düşük değerlere sahiptir. Ayrıca hastaların %5-10 kadarı klinik olarak kobalamin eksikliği tanısı konmasına rağmen normal serum kobalamin seviyelerine sahiptir. Kobalamin eksikliğini belirlemede kullanılan diğer testlerin de yanlış sonuçlar verme olasılığı yüksektir(49,86).

Kobalamin eksikliği olan birçok hastada plazma/serum total homosistein konsantrasyonu artmaktadır(9,49,86,88,89). Klasik kobalamin eksikliği olan geniş bir hasta popülasyonunda serum kobalamin ve plazma homosistein konsantrasyonları hiperbolik bir ilişki gösterir. Serum kobalamin seviyesi normalin altına(<130pmol/L) yaklaştığı zaman plazma homosistein konsantrasyonu aniden yükselir(94).

Klinik çalışmalar plazma/serum homosisteinin kobalamin eksikliğinin hassas bir markırı olduğunu göstermiştir(80). Total homosistein hücre içi kobalaminin fonksiyonlarındaki bozukluk sonrası hemen ve hızlı şekilde artan bir markırdır. Ancak spesifitesi azdır, ancak başka durumlarda da homosistein artmaktadır. Yine de tedavi öncesi ve sonrası ölçümleri yapılarak spesifitesi artırılabilir. Kobalamin veya folik asit tedavisi sonrası 14 gün içinde homosisteinin normale doğru indiği gözlemlenmiştir(1).

### **Folat Eksikliği:**

Folat eksikliği sıklıkla beslenme bozukluğuna bağlıdır ve genellikle alkolikler, gebeler ve malabsorbsiyonlu hastalar gibi predispoze kişilerde gelişir. Klasik belirtileri makro-ovalositoz, anemi ve hipersegmente nötrofillerdir(5).

Plazma/serum homosisteini folat eksikliği olan hastalarda belirgin olarak artar(44,80,88,89). Normalin alt sınırında konsantrasyonlarda folat bulunan hastaların yarısında serum homosisteini artmış bulunmuştur. Bu durum normalin alt sınırında serum folat konsantrasyonları oluşturan folat alımının homosisteinin optimal remetilasyonu için yeterli olmadığını ve bu şartlar altında rölatif bir doku folat eksikliğinin olabileceğini göstermektedir(44).

Folat eksikliğinin ne klinik ne de laboratuvar bulguları olan kişilerde gerçekte hücre içi bir folat eksikliğinin mümkün olabileceği, yüksek doz folik asit verilmesinden sonra plazma homosistein seviyelerinin azalmasıyla desteklenmiştir. Folik asitin bu etkisi hem hiperhomosisteinemik postmenapozal kadınlarda hem de her yönüyle sağlıklı kişilerde de gözlenmiştir(8,10).

Plazma homosisteinindeki bu artış hücre içi folat eksikliğini veya folat bağımlı reaksiyonların fonksiyonundaki bozukluğu yansıtır. Bu faktörün güvenilirliği antifolat bir ilaç olan metotrexat verilmesinden sonra saatler içinde plazma homosisteinin belirgin olarak artışı gözlenerek gösterilmiştir(73).

Plazma homosisteini folat eksikliğinin bir indikatörü olarak klasik laboratuvar testleri yerine kullanılabilir. Serum folat tayini, folat alımındaki geçici azalma ile doku folat eksikliği ile beraber olan kronik folat eksikliğini birbirinden ayıramaz(4). Ayrıca alkolik ve megaloblastik anemili hastalarda hem serum hem de eritrosit folatı normal olabilir. Ek olarak eritrosit folat ölçümleri sorumludur ve hem laboratuvarlar arası varyasyonları hem de ölçümler arası varyasyonları yüksektir(11).

### **Hiperhomosisteinemi Tedavisi:**

Hiperhomosisteinemi, plazma homosistein konsantrasyonlarına göre hafif, orta ve şiddetli derecede olmak üzere sınıflandırılmaktadır. Her bir durum için etyolojik faktörler farklı olmaktadır. Etiyolojisine göre de hiperhomosisteineminin tedavisi etyolojilerine göre Tablo 2'de özetlenmiştir. Bu tablo dışında N-Asetil sistein homosistein dönüştürücü bir ajan olarak kullanımına dair çalışmalar mevcuttur(94,95).

Tablo2: Hiperhomosisteineminin tedavisi(45)

---

#### **A. Genetik Hiperhomosisteinemi**

- \* Mutant enzim aktivasyonu; pridoksin verilerek pridoksine cevap veren sistatyonin sentetaz
- \* Substrat konsantrasyonunun artırılması; folik asit ile MR
- \* Homosistein sentezinin azaltılması; Metiyonin kısıtlaması
- \* Homosistein turnoverinin yükseltilmesi; folik asit, kolin ve betain

#### **B. Besinsel Hiperhomosisteinemi**

- \* Beslenmeyle ilgili yetersizliklerin düzeltilmesi; folik asit, vitaminB<sub>12</sub>, pridoksin, kolin(betain)
-

## HELICOBACTER PYLORİ

Spiral gastrik bakteri olan *Helicobacter pylori* (Hp) 100 yıllık bir geçmişe sahiptir. İlk olarak Bizzozera ve arkadaşları 1893 yılında kedi köpek gibi birçok hayvanın midesinde spiral şeklinde bir mikroorganizmanın varlığından söz etmişlerdir. 1975 yılında Howard Steer gastritle ilişkili spiral bakteriyi elektron mikroskopta göstermiş fakat bunu kültürde üretememiştir. 1982 yılında Warren ve Marshall bu mikroorganizmayı kültürde üretebilmişler, biyokimyasal ve morfolojik bakımdan bilinen hiçbir mikroorganizmaya benzemeyen bu mikroba *Comphylobacter Like Organyzm* (Clo) adını vermişlerdir(99). 1984 yılında Marshall bu mikroorganizmaya *Comphylobacter pyloridis* adını vermiştir. 1989 yılında *Helicobacter pylori* olarak adlandırılan bu mikroorganizmanın doğal ev sahibi insandır(23,33).

Hp idantifiye edildikten sonra aktif-kronik gastritin etyolojik ajanı olduğu ortaya kondu. Daha sonra peptik ülser, mukus ascoiated tissue (MALT) lenfoma ve mide kanseri etyopatogenezinde Hp'nin esas faktör olduğu birçok araştırmacı tarafından ortaya konmuştur(66,77).

Hp'nin insanda görülen en yaygın kronik enfeksiyon etkeni olduğu tartışılmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerin çoğunda Hp enfeksiyonu endemiktir, nüfusun yaklaşık %80'i 15 yaşına geldiğinde enfeksiyona yakalanmıştır. Gelişmiş bir ülkenin tipik eğrisi prevalansın çocuklukta düşük olduğunu, 45 yaşına kadar artışın minimal olduğunu, daha sonra 60 yaşına kadar artışın hızlandığını, bundan sonra prevalansın %50 düzeyinde kaldığını gösterir(55).

Hp'nin kılıflı polar bir demet (4-6 adet) flagellası vardır; aksiyal falamanı yoktur. Gastrik mukus gibi visköz ortamda optimal hareketlidir. Hp mikroaerofildir, 37°C'de %5-10 CO<sub>2</sub> ve %5-7 O<sub>2</sub>'de optimal üreme gözlenir. Kültür tanı için en duyarlı bir yöntemdir(17).

Tek doğal kaynağı insan olan Hp'nin gelişimi büyük ölçüde midenin antrum yüzeyi ile kısıtlıdır. Burada bazı özelleşmiş virulans etmenleri kaynağa minimal zarar vererek çoğalmasını sağlar(24,48). Bu etmenlerin bazıları şunlardır:

- \* Visköz mukusun içinde hızla yükselmesini sağlayan ve 3-7 kamçının aracılığı ile tipik hızlı motilite.
- \* Endojen üreyi yıkıma uğratarak amonyak oluşmasını sağlayan ve böylece organizmayı mide asidinden koruyan üreaz yapımı.
- \* Bakterilerin bir bölümünün mide mukozası hücrelerine bağlanmasını sağlayan özgül adhezinlerin sentezi.

Hp mide epitelini örten mukus tabakasına yerleşir ve adezinleri ile gastrik epitele tutunur. Bu tutulum bir reseptör-ligand ilişkisi içinde olur ve hemen daima iltihabi yanıt ile beraberdir. İntestinal epitel bu reseptörlerden yoksundur. Her ne kadar fundus mukozasına da yerleşebilir ise de Hp'ye kolonizasyon için en uygun ortamı antral mukoza sağlar. Kardiya ile antrum mukozası yapısal olarak benzer olduğu için Hp'nin burada da kolonizasyon gösterebileceği öne sürülmektedir. Buna göre Hp prevalansının kardiya da %95, korpus küçük kurvaturda %97, antrum büyük kurvaturda %95, korpus büyük kurvaturda %95 oranlarında görüldüğü bildirilmektedir. İltihabi cevabın şiddeti ise özellikle nötrofilik reaksiyon antrum ve kardiya da daha fazladır(66,77).

Helicobacter pylori toksinleri iltihabi reaksiyon, H iyonları ve amonyak ile mukozal defansı zayıflatmakta ya da Hp tarafından yapılan fosfolipaz A<sub>2</sub> lipolitik enzimi ülser oluşmasında etkili olmaktadır. Gastrik mukozada koloni oluşturan bakteri konakta spesifik humoral immün reaksiyon meydana getirmekte ve kolonizasyon en çok duodenal ülser ve aktif kronik gastritte görülmektedir. Oysa gastrik ülserde kolonizasyon o kadar fazla olmamaktadır(54).

Histopatolojik düzeyde Hp ile oluşan tablo aktif kronik gastritis şeklindedir. Önce kolonizasyon bölgesinde epitelde düzensizlik, kabalaşma yüzey epitel hücresi apikalinde müsin kısmında kayıp ve parçalanma olmaktadır. Bu hücreler çoğu zaman dejenerasyon belirtilerinden piknoz göstermekte ve sonunda

ölmektedir. Hp ülserin nekrotik bölgesinde kolonizasyon göstermemektedir. Buradaki iltihabi reaksiyon nötrofil, lökosit, lenfosit ve plazma hücrelerinden oluşmaktadır(66).

Apikal mukus kaybı, epitelyal pit ve mikroerezyon Hp kolonizasyonu için spesifiktir. Bu sahalar direk sitopatolojik etki yerleridir. Başka nedenlerle oluşan gastritiste epitelyal oyuk (pit) oluşmamaktadır. Hücrenin apikal mukus kısmının kaybında belki Hp'nin lipolitik, proteolitik enzimleri ve belki de üreaz enzimi önemli role sahiptir. Zedelenen epitel hücresi sonunda ölmekte, mikroerezyon şeklindeki mukozal mikroskopik defek, gastrik asit ve sindirici enzimlerle koruyucusuz kalmakta ve ülserasyon gelişmektedir. Mukozada, lamina propriada da aynı şekilde akut ve kronik iltihabi hücre infiltrasyonu bulunur. Sıklıkla intra epitelyal nötrofil lökosit infiltrasyonu dikkati çeker(21,66).

Sistemik antikorlar başlıca IgG ve nispeten daha az IgA, lokal immün yanıt ise IgA ve nispeten daha az olmak üzere IgG şeklindedir. Hem serum hem gastrik sıvı ve gastrik biyopsi örneklerinde başlıca IgA ve IgA1 saptanır. Bu antikorlar mikroorganizmanın yüzey yapılarına yöneliktir. Hp ile enfekte kişilerin gastrik sıvılarındaki Hp hücrelerinin sekretuar IgA ile kaplı olduğu gösterilmiştir. IgA antikorları mikroorganizmanın gastrik epitele adheransını engeller. Gerek sistemik gerek lokal IgG cevabında başlıca IgG alt sınıfı IgG1 dir. Hp(+) ve (-) kişilerde IgM düzeyleri benzer bulunmuştur(69).

İmmün yanıtı açan ve kendisine karşı antikor oluşturulan Hp antijenleri

1- Cytotoxin associated protein (CAP)

2- Üreaz polipeptitler

3- Üreaz ile ilişkili 54-58 KD protein (66)

### **Helicobacter Pylori tanı testleri**

Hp'nin tanısında invaziv testler için mideden biyopsi örnekleri alınması gerekir. Hızlı üreaz testi, histopatolojik inceleme, kültür invaziv testlerdir. Antikor testi, C<sup>14</sup>, C<sup>13</sup> üre nefes testi ise noninvaziv Hp tanı testleridir.

**Üreaz testi(Clo test) :** Biyopsi materyalinin üreli ortama konması, Hp'nin yaptığı üreazın üreyi parçalaması sonucu oluşan NH<sub>3</sub> ve bikarbonatın ortamdaki PH'yı yükseltmesi ve bunun bir renk indikatörü ile gösterilmesi esasına dayanır. Clo test ile birkaç dakika ile bir saat arasında tanı konma imkanı mevcuttur. 24 saat sonra yapılan değerlendirmelerde %90-95 spesifik ve sensitif bir test olduğu düşünülmektedir. Clo test hızlı, kolay ve ucuz bir testtir(23,66).

**Kültür:** En iyi tanı yöntemlerinden biridir. Hp en iyi kanlı agarda ve çikolatalı agarda nemli ortamda ürer. Zor ürer, çabuk etkilenir. Üreme olmuşsa tanı kesindir, üreme yoksa sonuç negatif demek değildir. Midenin en az iki yerinden biyopsi örneği alınmalıdır ve 10 gün inkübe edilmelidir. Spesifitesi %100, sensitivitesi %68'dir(32,66).

**Üre nefes testi:** Çok spesifik ve sensitif bir testtir ve endoskopiden daha pahalıdır. C<sup>13</sup> ve C<sup>14</sup> ile işaretli, üre ağızdan verilir. 1 saat içinde nefesle atılan işaretlenmiş CO<sub>2</sub> tespit edilir. Hp'nin yaptığı üreazın üreyi parçalaması ve CO<sub>2</sub> oluşması esasına dayanır(32).

**Antikor testi:** Kolayca ve çok çabuk yapılabilir, ancak çok patik bir test değildir. Testin esası Hp'ye karşı oluşmuş IgG tipi antikorların tespitine dayanır. %95 sensitivite ve spesiviteye sahiptir(68).

**Histopatoloji:** Çok değerli bir tanı yöntemidir. Bu yöntemin en büyük avantajı hem gastritin hemde Hp'nin histopatolojik tespitinde yararlı olmasıdır. Çok spesifik bir testtir, fakat biyopsi doğru yerden alınmalıdır(66).

### **Kronik Gastrit:**

Kronik gastritin başlıca nedeni Hp enfeksiyonudur. Gastrit için tatmin edici bir genel sınıflandırma yoktur. Tanı endoskopik, radyolojik yada klinik bulgulara dayanabilir. Endoskopik, radyolojik ve klinik olarak gastritten şüphelenildiğinde histopatolojik inceleme tamamlayıcı rol üstlenir(22).

Histopatolojik açıdan gastrit eroziv ve eroziv olmayan olarak ikiye ayrılır. İnflamasyon bulunabilir, eğer inflamasyon varsa akut yada kronik olarak

sınıflandırılabilir. Bunun dışında eroziv olmayan gastrit terimi inflamatuvar hücre infiltrasyonu, mide bezlerinin durumu (bütünlüğünü koruyor yada atrofiye uğramış) ve bazen metaplazi gibi histopatolojik bulgulara dayanan genel bir idiyomatik hastalık kategorisini kapsar. Atrofik değişiklikler de metaplazi de gastrit ile yada gastrit olmadan ortaya çıkabilir, bunun terside geçerlidir. Eroziv olmayan gastrit ayrıca hastalığın birincil olarak mide korpus yada antrumunu tutmasına göre de sınıflandırılabilir(85).

Hp'nin amonyak ürünleri yada sitotoksinlerden kaynaklanan doğrudan doku hasarının yüzey epitelindeki dejenerasyon ve mukus bariyerindeki zedelenmeden sorumlu olduğu düşünülmektedir(22). Mukozanın enfeksiyona karşı oluşturduğu bağışık yanıt lamina propriadaki monositler, lenfositler ve polimorf nüveli nötrofillerin varlığını yeterli derecede açıklamaktadır. Nötrofil etkinliğinin sürmesi ve proteazlar ile reaktif oksijen metabolitlerinin yapımı proliferatif kompartımandaki hasardan sorumlu olabilir, bunun sonucunda bezlerde atrofi ve intestinal metaplazi gelişebilir. Şahısların çoğunda hastalık ya yıllar boyunca yavaş gelişir, yada hemen hemen hiç değişmeden olduğu gibi kalır(85).

### **Peptik Ülser:**

Hp ile en sık ilişkilendirilen hastalık peptik ülserasyondur. Duodenum ülserinin yaklaşık %92'si, mide ülserinin %70'inde bu bakterinin etken olduğu tahmin edilmektedir. Enfekte olmayan kişilerdeki dudenum ülserleri genellikle steroid dışı antiinflamatuvar ilaç (NSAİD) kullanımına bağlıdır(55,84). Peptik ülser oluşumu büyük ölçüde mide sıvısında hem asit hemde pepsin etkinliği olmasına bağlıdır. Mide ülseri olan hastalarda asit salgısı genellikle normal sınırlar içindeyse de, önemli bir bölümünde bazal ve uyarılmış salgı normalden daha azdır; bu da mukoza savunmasındaki anormalliklerin etyolojide önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. Duodenum ülseri hiçbir zaman mide asit yokluğunda görülmez(83).

Mide ülseri olan hastalarda mide ve pilor hareketleri de anormal bulunmuştur. Midenin boşalması gecikebilir, böylece mide mukozası zarar veren etkenlere daha uzun süre maruz kalır. Duodenumda asiditenin artması normal

olarak midenin boşalmasını inhibe ederse de, duodenum ülserli hastaların %66 sında mide boşalmasını hızlandırdığı bildirilmiştir.

Hp'nin mide ülserinden çok duodenum ülserine neden olma eğilimi organizmanın inflamasyon yanıtını uyarma kapasitesi ile bağlantılı olabilir. Parietal hücrelerin kütlesi yada gastrine duyarlılığı Hp'ye bağlı olarak arttığında asit yapımı da artar, böylece korpus bakterilerin temasından ve bunun inflamatuvar sonuçlarından korunur ve bakteriler antrumla sınırlı kalır. Mide yükünün artmasına karşı koruyucu bir yanıt olarak proksimal duodenumda gastrik metaplazili alanlar oluşur, böylece antrumdaki Hp bu bölgeye yayılır ve peptik ülser gelişimi için zemin hazırlanır(18,22).

### **Mide Kanseri:**

Patoloji ve epidemiyoloji araştırmalarında elde edilen veriler sonucunda insanda mide kanseri oluşumunun birbirini izleyen aşamalardan geçtiği öne sürülmüştür.

- \* Kronik gastrit
- \* Mide atrofisi
- \* İntestinal metaplazi
- \* Displazi

Gastrit ve atrofinin malignite öncesi evrelerinin Hp enfeksiyonuyla bağlantılı olduğu düşünülmektedir(100).

Hp enfeksiyonu uygun tedavi ile ortadan kaldırılmazsa yaşam boyu aktif kalacağından, bakteri yıllarca aktif inflamasyon kaynağı olabilir. Hp bağlantılı iki tip kanser vardır. Mide karsinomu ve mukoza bağlantılı lenf dokusunun (MALT) düşük evreli B hücreli lenfoması(70).

Hp enfeksiyonunun en azından mide karsinomu riskindeki artışın bir göstergesi olduğu bilinmektedir. Çeşitli malignitelerle sebep sonuç ilişkisi kurulmuş olan kronik inflamasyonun hücre proliferasyonunu uyararak ve serbest radikal oluşumunu arttırarak kanser gelişimini başlattığı düşünülmektedir(40).

Maligniteli hastalarda mide Hp kolonizasyonunun prevalansının yüksek olması ve her iki durum arasında histolojik benzerlikler olması Hp'nin mukoza bağlantılı lenfoid doku (MALT) ve düşük evreli B hücreli lenfoma ile bağlantısını destekler. Son zamanlarda özgül Hp suşlarının hücre kültürlerinde mide MALT lenfomasının proliferasyonunu uyardığı saptanmıştır. Bu uyarı Hp'ye özgül T-hücrelerinden ve ilgili sitokinlerden kaynaklanmaktadır(40,70,71).

Hp' ye karşı mukozal immün yanıt hakkında bildiklerimiz azdır. Organizmanın hücresele immün yanıtı nasıl başlattığı çok açık değildir. Hp doku invazyonu yapmıyor ama Hp ürünleri mide mukozasına taşıyor olabilir. Normal mide mukozasında organize lenfoid doku yoktur. İmmün yapı çok masumdur. Lamina propriada dağınık T lenfositler ve epitelde birkaç intraepitelyal T lenfosit bulunur. Lamina propriada B lenfosit ve plazma hücresi nadirdir. Artış gösteren T lenfositler lamina propriada CD4, epitelde ise CD8 karakterindedir. Antijen sunan hücreler artmıştır. Hp ile enfekte kişilerin mide mukozasında Ig salgılayan B lenfositlerin varlığı iminohistolojik tetkiklerle gösterilmiştir(71).

Yüksek düzeyde immün tanıma ve yanıtı rağmen Hp'nin persistansı bakterinin ya bu immün yanıtıtan kaçabildiğini ya da etkin bir immün yanıtı modifiye ettiğini düşündürmektedir. İmmün yanıt enfeksiyonu gidermekte etkisiz olduğu gibi reenfeksiyona karşı koruyucu da değildir. Hem sistemik hem lokal yeterli immün yanıtı rağmen mikroorganizma niye eradike edilemiyor ve niçin kolonizasyon devam ediyor. Dolaşan antikor varlığının mutlaka enfeksiyon yerindeki yanıtları yansıtmadığı bilinen bir olaydır. Etkin olmayan immün yanıtıdan sorumlu olabilecek mekanizmalar bakteri ya da konağa ait olabilir(23,32). Devam eden kolonizasyon ile birlikte lokal immün yanıt potansiyel olarak hasar verici bir faktör haline geçebilir ve böylece bizzat immün yanıtın kendisi patojenik bir mekanizma oluşturuyor olabilir. Tedavi ile Hp eradike edilmişse mukozal immün yanıtın normale döndüğü bildirilmiştir. Özellikle epitel hücrelerinin eski halini aldığı bildirilmektedir(66).

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma 1998 yılı Şubat-Haziran ayları arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı polikliniğine başvuran ve üst gastrointestinal sistem(GİS) endoskopisi yapılan hastalar arasında yapıldı.

Dipeptik şikayetleri olan, yapılan üst GİS endoskopisi sonucu Hp(+) kronik gastrit tespit edilen 55 hasta çalışmaya alındı. Çalışmaya alınan hastalar en az iki ay süre ile herhangi bir mineral ve vitamin preparatı kullanmamıştı. Daha önceden B<sub>12</sub>, folat tedavisi görenler, barsak ameliyatı ve mide rezeksiyonu yapılanlar, 15 gün içine herhangi bir ilaç kullanmış olanlar, herhangi bir hastalığı olanlar (özellikle serebrovasküler aksedan, iskemik kalp hastalığı, periferik damar hastalığı, kr. karaciğer hastalığı, Diabetes mellitus, renal yetmezlik ) çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların yaşı, cinsi, boyu, kilosu, şikayetleri, kullandıkları ilaçlar, sigara alışkanlıkları ve arteriel tansiyonları ölçülerek kaydedildi. Tüm hastalara üst GİS endoskopisi yapılarak antrum, korpus ve fundustan histopatolojik inceleme için ikişer adet biyopsi alındı. Ayrıca hızlı üreaz testi (Clo test) içinde korpus ve antrumdan birer adet biyopsi alındı. Clo test için Hp tayininde ilk altı saatlik sonuçlar esas alındı. Gastroskopi sonucunda peptik ülser ve gastrik kanser saptanan hastalar çalışmaya alınmadı.

Clo test ve histopatolojik inceleme sonucunda Hp(+) kronik gastrit tespit edilen hastalardan 12 saatlik açlıktan sonra tam kan, rutin biyokimya, sedim, kobalamin, folat ve plazma total homosistein tayini yapılabilmesi için 10 cc düz kan ve 5'er cc iki adet EDTA'lı tüpe kan alındı, ve bunların serum ve plazmaları ayırılarak -40 derecelik derin dondurucuya kondu.

Hastalara Hp eradikasyon tedavisi olarak, 14 süreyle 1x20mg omeprazol, bir hafta süreyle 2x 500mg klaritromisin ve 2x1g amoksisilin tedavisi verildi. Tedavi bitiminden bir ay sonra hastalar kontrol için tekrar çağırıldı. Hastaların 10'u ikinci endoskopiye kabul etmediği için bu hastalardan C<sub>14</sub> üre- nefes testi istendi

diğer hastalara tekrar üst GIS endoskopisi yapılarak histopatolojik tanı için ve Clo test için midenin çeşitli bölgelerinden biyopsiler alındı. Hastalardan 12 saatlik açlıktan sonra tekrar kan alınarak, serum/plazmaları derin dondurucuda saklandı. Çalışmaya alınan 55 hastanın 4'ü verilen ilaçları tolere edemediği için ve 2'si ise kontrole gelmediği için çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubu olarak yapılan endoskopide Hp(-) gastrit tespit edilen 15 hasta alındı.

Çalışmaya dahil edilen 49 Hp(+) gastritli hastanın tedavi sonucunda 35'inde (%71'4) eradikasyon sağlandı, 14'ünde (%28.5) eradikasyon sağlanamadı. Hp(+) hastaların 25'i erkek (%51), 24'ü kadındı(%49). Kontrol grubu hastalarının 8'i erkek (%53), 7'si kadındı.

Alınan kan örneklerinde Hp(-) hastalarda bir kez, Hp(+) hastalarda ise tedavi öncesi ve tedavi sonrası kan örneklerinde iki kez laboratuvar tahlilleri yapıldı. Alınan kan örneklerinden Hb, Hematokrit ve lökosit tayinleri otomatik sayacılarla yapıldı. Rutin biyokimyasal ölçümler ful-enzimatik olarak Technicon RA-1000 otoanalizörde yapıldı.

Alınan kan örneklerinden ölçümler toplu halde aynı anda yapılmıştır. B<sub>12</sub> ve folat ölçümleri dual RIA kit ile yapılmıştır. Plazma total homosistein düzeyleri yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) ile ölçüldü. Bu çalışmada HPLC ile floresans dedektör(FD) kullanıp, sisteme uygulamadan önce 7-fluoro-2, 1,3-benzoxa sulfonamide (ABD-F) reaktifi (Sigma Kit-Cat No F-3639) ile tiyolleri kolon öncesi türevlendirmeyi ve bu seyede floresans üreten bileşikler haline gelen tiyolleri; C18 (ODS) kolon içerisinde ayırıştırarak , plazma total homosistein düzeyleri ölçülmüştür. Plazma total homosistein düzeyleri için referans değerleri; erkekler için 9.27-14.01 µmol/L ve kadınlar için 7.67-11.3 µmol/L dir.

## **Metodun Uygulanışı**

### **1- Örnek Hazırlanması:**

- ◆ 1.5 ml plastik ependorf tüplerine 20 µl, +nM Na<sub>2</sub> EDTA içeren borat tampon (pH=8.0) kondu.

- ◆ Üzerine 100 µl plazma veya standart eklendi ve tekrar tekrar pipetlenerek karışması sağlandı.
- ◆ Bu karışıma borat stok çözeltisi içinde hazırlanmış 0.1 M β-merkaptoetanol çözeltisinden 10 µl kondu ve karıştırıldı.
- ◆ Tiyollerin plazma proteinlerinden ayrılması ve redüksiyonu için oda ısısında 30 dakika inkube edildi.
- ◆ Bunun üzerine 2nM EDTA içeren 0.2 M borat tampon (pH=8.0) içinde 5mg/ml olacak şekilde hazırlanmış ABD-F çözeltisinden 50 µl eklendi
- ◆ Redükte SH gruplarının ve serbest tiyollerin ABD-F ile işaretlenmesi (derivatizasyon) için 10 dakika 50°C deki sirküle eden su banyosunda bekletildi.
- ◆ Bundan sonra, 40 µl %20 lik soğuk TCA dan eklenerek proteinler çöktürüldü.
- ◆ +2°C de 23000 g (15000 rpm) de 10 dakika santrifüj edilerek berrak bir süpernatant elde edildi.
- ◆ Yaklaşık 150 µl kadar supernatant dikkatlice alınarak cam tüplere kondu ve ya hemen analiz edildi veya 24-48 saat içinde analiz edilmek üzere +4°C de saklandı.
- ◆ Analiz için 20 µl örnek kullanıldı.

## **2-Kromatografik Koşullar:**

**Mobil faz:** %8 etanol içeren 0.1 M fosfat tampon, pH=6.0 kullanıldı. İzokratik olarak çalışıldı.

**Akım hızı:** 1.6 ml/dk olarak ayarlandı.

**Örnek uygulaması:** 20 µl olarak uygulandı. (50 µl'lik Hamilton enjektör örnekle tam olarak doldurulduktan sonra, 20 µl'lik loop takılı Rheodyne enjeksiyon modülüne tamamı enjekte edildi.)

**Ayırım (elution):** Ters (reversed) faz iyon değişimi (ion exchange kullanıldı.

**Kolon:** Analitik kolon olarak C<sub>18</sub> hidrokarbon zincirine bağlı silika içeren, partikül büyüklüğü 5µm olan 150×4.6 mm boyutlarındaki Hypersil elik kolon kullanıldı. Analitik kolonla enjeksiyon modülü arasına koruyucu olarak 50×4.6 mm boyutlarında C<sub>18</sub> Hypersil elik kolon yerleştirildi.

**Deteksiyon:** Floresans dedektörle 386nm eksitasyon ve 516 emisyon dalga boylarında yapıldı.

**Çalışma süresi:** 15 dakikalık bir süre deteksiyon yapıldı.

### **İstatistiksel hesaplamalar ve grafikler:**

İstatistiksel hesaplamalar ve grafikler SPSS istatistik bilgisayar programı (SPSS for windows 7.5) ile Microsoft Excel (for windows 5.0) programı ile yapıldı. Gruplar arasında elde edilen değerlerin istatistiksel hesaplamalarında, bağımlı gruplar arasında Student t testi, bağımsız gruplar arasında Student t testi,  $\chi^2$  testi ve korelasyon analizi yapıldı.

## BULGULAR

Çalışmaya alınan Hp(+) gastritli 55 hastanın 6' sını çeşitli nedenlerden dolayı çalışma dışı bırakıldı. 49 hastanın 35'inde (%71.4) Hp eradikasyonu sağlanırken, 14'ünde (%28.3) eradikasyon sağlanamadı. Hp(+) grubun 25'i erkek (%51), 24'ü kadındı (%49). Yaş aralıkları (18-67) arasında değişmekte olup, yaşlarının ortalaması  $40.35 \pm 12.85$  dir. Hp(-) kontrol grubunun 8'i erkek (%37), 7'si kadındı (%43). Bu grubun yaş ortalaması  $38.23 \pm 17.86$  olup, yaş aralıkları (21-72) dir.

Hp(+) kronik gastritli grubun 26'sı (%53) günde 10 adet ve daha fazla sigara kullanmaktaydı. Hp(-) grupta ise 10 kişi (%61) sigara içerken, 7'si (%44) sigara kullanmamaktaydı.

Yapılan üst GİS endoskopiler sonucunda, Hp(+)ve (-) her iki grubun 25'inde gastrit, 13'ünde gastroduodenit, 8'inde antral gastrit, 11'inde gastrit+şiddetli bulbit ve 7'sinde aftöz duodenit tespit edildi. Histopatolojik incelemede 49'ü Hp(+), 15'i Hp(-) olmak üzere 4'ü normal mide mukozası, 5'i intestinal metaplazi ve 55'inde ise kronik yüzeysel gastrit tespit edildi.

Hp(+) grupta total plazma homosistein düzeyleri ortalama  $13.17 \pm 3.21$  bulundu. Hp(-) grupta total plazma homosistein düzeyleri daha düşük bulunmasına rağmen ( $12.91 \pm 4.44$ ) aralarında anlamlı bir fark gözlenmedi ( $p > 0.05$ )

Gruplarda tespit edilen sonuçların aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları Tablo 3'de gösterilmiştir. Hp(+) grup ile Hp(-) gruplar arasında elde edilen tahlil sonuçları ile demografik bulgular arasında herhangi bir fark tespit edilemedi. ( $p > 0.005$ )

Sigara içmeyen hastalarda ( $n=37$ ) total plazma homosistein düzeyleri  $13.10 \pm 3.41$ , sigara içen hastalarda ise ( $n=27$ )  $13.14 \pm 3.59$  bulundu. Sigara içenlerde total plazma homosistein düzeyleri hafif yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark yoktu ( $p > 0.05$ ). Kadınlarda ( $n=29$ ) homosistein düzeyleri ( $11.46 \pm 2.77$ ) bulunurken, erkeklerde ( $n=35$ ) ( $14.58 \pm 3.38$ ) bulundu aralarında anlamlı bir fark mevcuttu ( $p < 0.001$ ).

Tablo 3: Gruplar arasındaki ortalama  $\pm$  standart hata (SH) değerleri.

	Hp(+) Hasta Grubu	Hp(-) Hasta Grubu
Olgu sayısı (n)	49	15
Yaş(yıl)	40.36 $\pm$ 12.85	38.23 $\pm$ 17.86
Cinsiyet(E/K)	25/24	8/7
Vücut Kitle indeksi (kg/m <sup>2</sup> )	25.04 $\pm$ 3.52	23.61 $\pm$ 4.25
Hemoglobin (g/dl)	14.04 $\pm$ 1.93	14.73 $\pm$ 1.67
Hematokrit (%)	42.16 $\pm$ 4.95	44.54 $\pm$ 4.28
Lökosit (K/ul)	6.44 $\pm$ 1.57	6.66 $\pm$ 1.94
Üre (mg/dl)	26.93 $\pm$ 6.99	30.69 $\pm$ 6.34
Ürik Asit (md/dl)	4.44 $\pm$ 1.34	4.46 $\pm$ 1.09
Kolesterol (mg/dl)	193.08 $\pm$ 43.86	193.23 $\pm$ 42.37
Trigliserit (mg/dl)	153.55 $\pm$ 130.33	141.61 $\pm$ 54.84
Kreatinin (mg/dl)	0.89 $\pm$ 0.17	0.86 $\pm$ 0.12
Vitamin B12 (pg/ml)	375.51 $\pm$ 179.49	350.61 $\pm$ 93.26
Folat (ng/ml)	9.78 $\pm$ 4.59	10.88 $\pm$ 4.08
Plazma Total Homosistein ( $\mu$ mol/l)	13.17 $\pm$ 3.21	12.91 $\pm$ 4.44

Hp eradikasyonu sağlanan grupta tedaviden önce total plazma homosistein düzeyleri 21 hastada (%42.8) normalden daha yüksek olduğu tespit edildi. Tedaviden sonra ölçülen plazma total homosistein düzeylerinde anlamlı derecede düşmeler tespit edildi ( $p < 0.01$ ). Fakat normalden yüksek düzeyleri olanlardan yalnızca 7'sinde total plazma homosistein düzeyleri normal değerlere indi.

Bu grupta tedaviden sonra kobalamin düzeylerinde belirgin artma tespit edildi, bu yükselme istatistiksel olarak anlamlıydı ( $p < 0.001$ ). Folat değerlerinde de artma tespit edildi fakat bu artış istatistiksel olarak anlamsızdı ( $p > 0.05$ ). Hemoglobin(Hb) ve hematokrit(Htc) düzeylerinde de artmalar tespit edildi, bu artma istatistiksel olarak Hb için anlamsız iken ( $p > 0.05$ ), Htc için anlamlı idi ( $p < 0.05$ ). Bu grupta elde edilen değerlerin ortalamaları ve aralarında yapılan istatistiksel anlamlılık testlerinin sonuçları Tablo4'de gösterilmiştir.

Tablo 4: Hp eradikasyonu sağlanan grupta tedaviden önce ve sonraki değerlerin ortalamaları ve arasında yapılan istatistiksel anlamlılık testlerinin sonuçları.

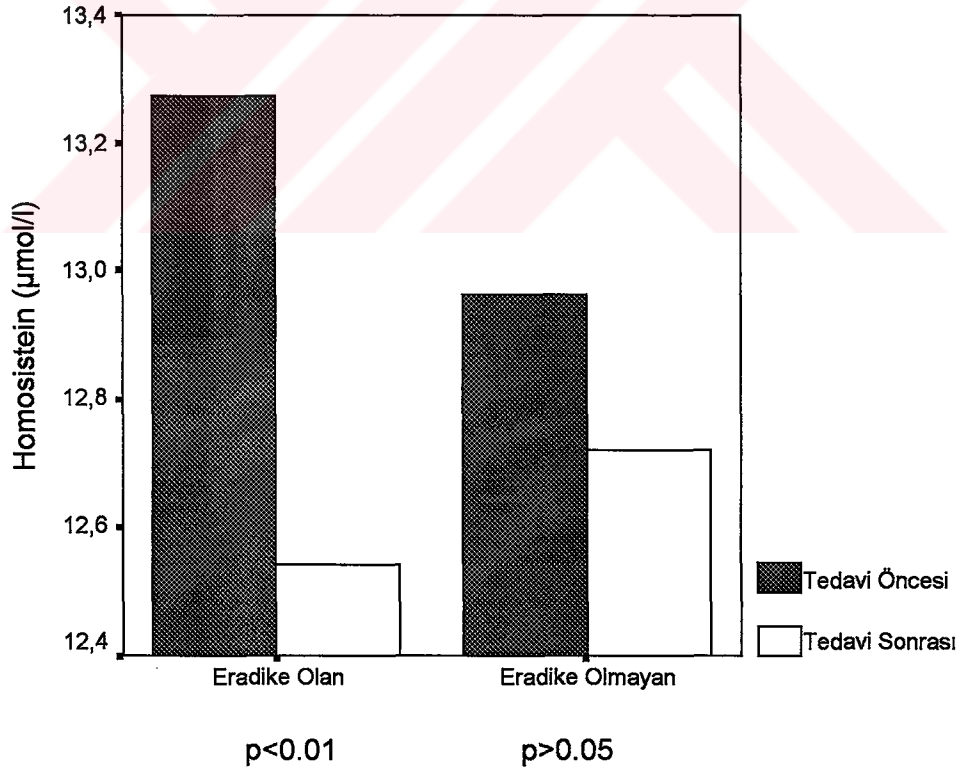
	Tedaviden Önce	Tedaviden Sonra	P
Vitamin B <sub>12</sub>	403.32 ± 198.82	509.61 ± 237.67	p<0.001
Folat	9.84 ± 4.98	10.36± 4.47	p>0.05
Homosistein	13.27± 2.83	12.54± 2.16	p<0.01
Hemoglobin	14.44 ± 1.96	14.62± 1.87	p>0.05
Hematokrit	43.14 ± 5.14	43.73± 4.91	p<0.05

Hp eradikasyonu sağlanamayan grupta yalnızca 3 hastada (%20) total plazma homosistein düzeylerinde normalden yüksek değerler tespit edildi. Tedaviden sonra bu grupta total homosistein düzeylerinde de azalma tespit edilmesine rağmen, bu azalma istatistiksel olarak anlamsız bulundu (P>0.05).

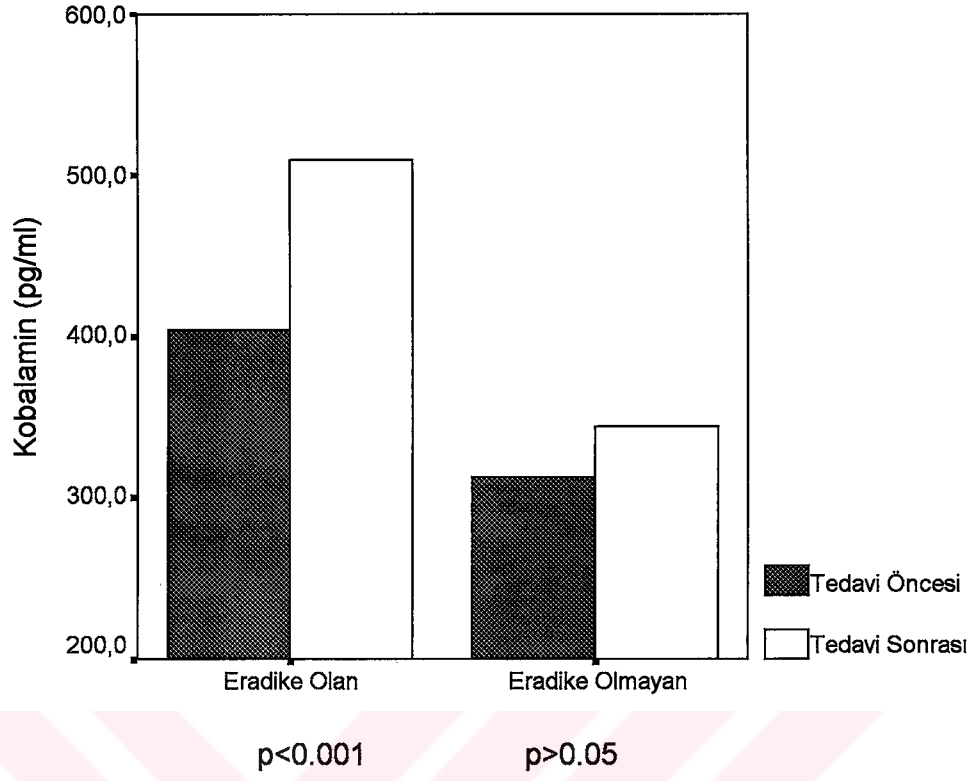
Ayrıca bu grupta kobalamin, folat, Hb ve Htc düzeylerinde tedaviden sonra hafif artma tespit edilmesine rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamsızdı (p>0.05). Bu grupta elde edilen değerlerin ortalamaları ve aralarında yapılan istatistiksel anlamlılık testlerinin sonuçları Tablo5'de gösterilmiştir. Hp eradikasyonu sağlanan ve sağlanamayan gruplardaki tedavi öncesi ve sonrası homosistein, vitamin B<sub>12</sub> ve folat değerlerinin ortalamalarına ait grafikler Sekil 4,5,6' da gösterilmiştir.

Tablo 5: Hp eradikasyonu sağlanamayan grupta tedaviden önce ve sonraki değerlerin ortalamaları ve arasında yapılan istatistiksel anlamlılık testlerinin sonuçları.

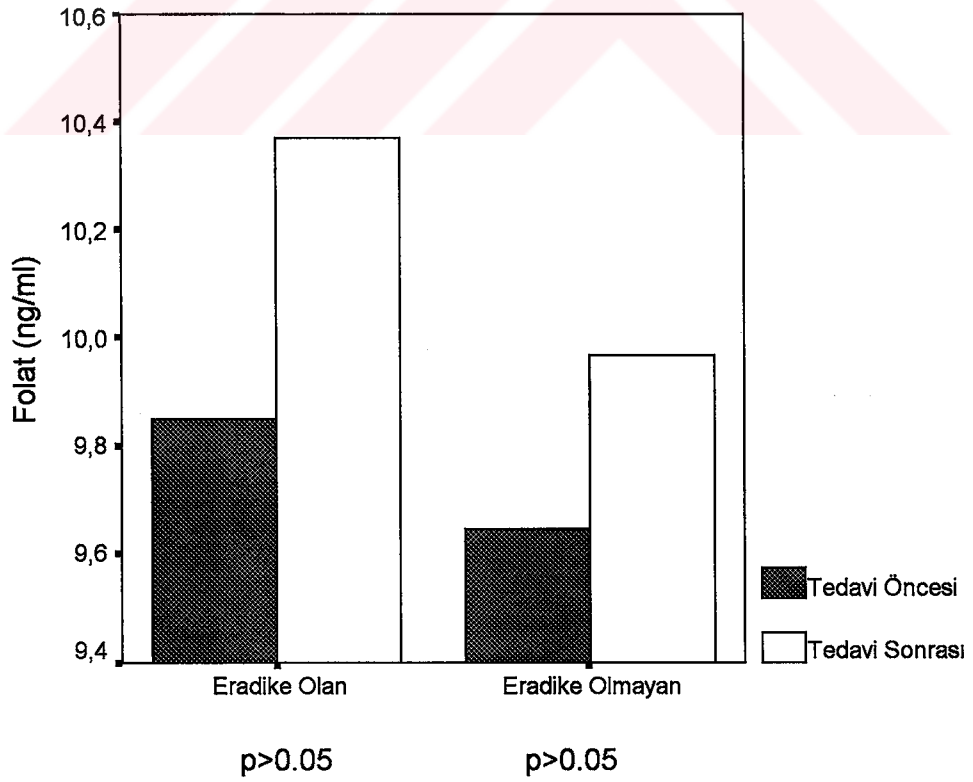
	Tedaviden Önce	Tedaviden Sonra	P
Vitamin B <sub>12</sub>	312.46 ± 143.10	344.4 ± 86.95	p>0.05
Folat	9.64 ± 3.72	9.96 ± 1.54	p>0.05
Homosistein	12.96 ± 3.49	12.72 ± 3.83	p>0.05
Hemoglobin	13.12 ± 1.54	13.20 ± 1.35	p>0.05
Hematokrit	40.0 ± 3.83	39.96 ± 3.37	p>0.005



Şekil 4: Her iki grupta tedaviden önce ve sonra plazma total homosistein ortalamaları.



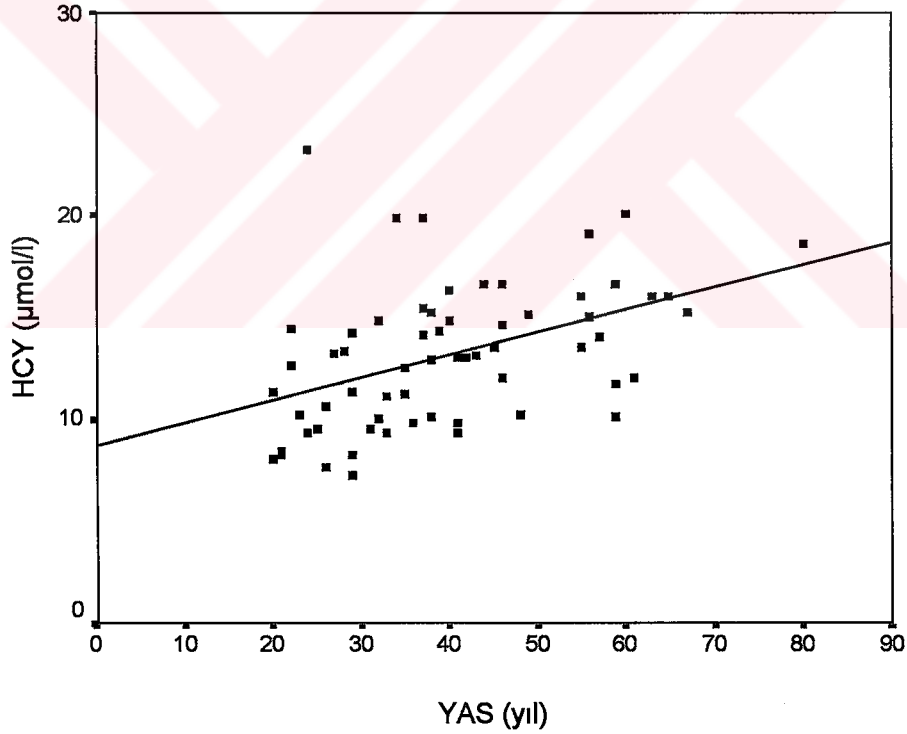
Şekil 5: Her iki grupta tedaviden önce ve sonra kobalamin ortalamaları.



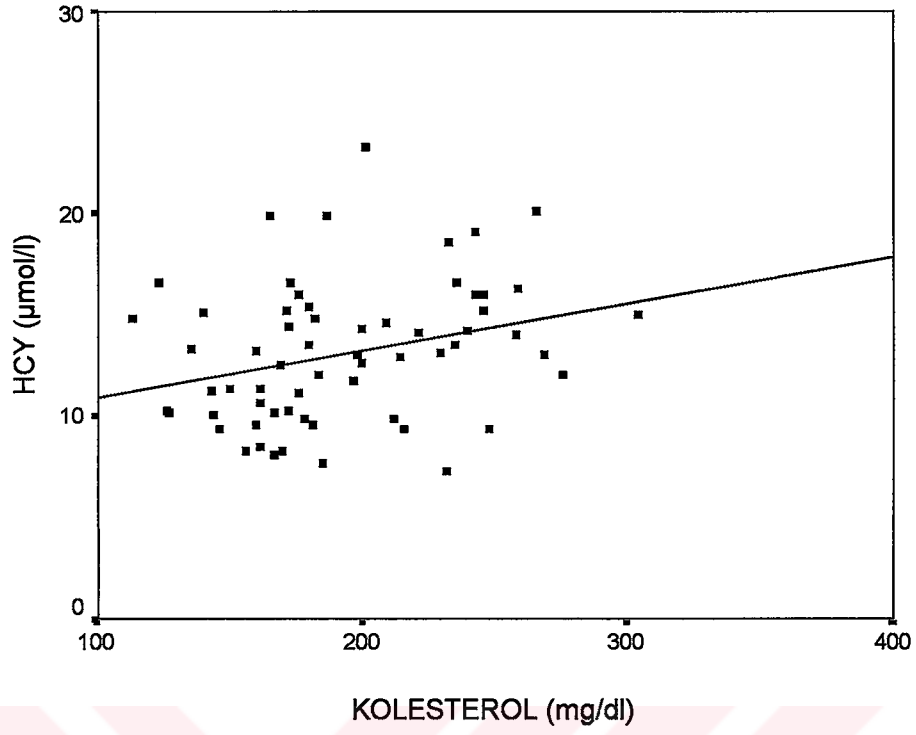
Şekil 6: Her iki grupta tedaviden önce ve sonra folat ortalamaları.

Total plazma homosistein düzeylerinin yaş ile ilişkisini araştırmak için yapılan korelasyon analizinde, plazma homosistein düzeyleri ile yaş arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon bulundu ( $r=0.444$   $p<0.001$ )(Şekil 7). Bu sonuca göre yaşla birlikte homosistein değerlerinde de artma olmaktadır. Total plazma homosistein düzeyleri ile kolesterol değerleri arasında da pozitif bir korelasyon bulundu ( $r=0.288$  ,  $p<0.05$ ) (Şekil 8). Ayrıca B<sub>12</sub> ile de total homosistein seviyeleri arasında negatif korelasyon bulundu ( $r=-0.251$ ,  $p<0.05$ )(Şekil 9)

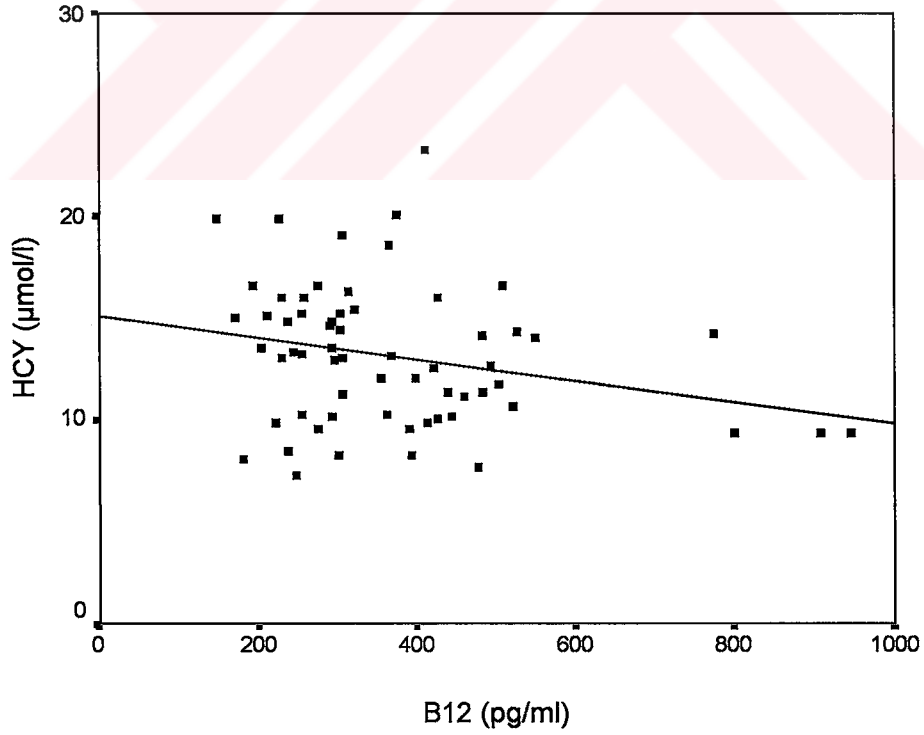
Bütün hastalarda vitamin B12, folat, kreatinin, albumin, ürik asit ile homosistein değerleri arasında ise herhangi bir korelasyon kurulamadı ( $p>0.005$ ). Homosistein ile yapılan korelasyon analizleri ve anlamlılık sonuçları Tablo 6'da özetlenmiştir.



Şekil 7: Total plazma homosistein seviyeleri ile yaş arasındaki korelasyon



Şekil 8: Total plazma homosistein seviyeleri ile kolesterol arasındaki korelasyon.



Şekil 9: Total plazma homosistein seviyeleri ile kobalamin arasındaki korelasyon.

Tablo 6: Plazma total homosistein ile diğ er parametreler arasındaki korelasyon analiz sonuçları.

	r	P
Vit. B <sub>12</sub> - Homosistein	-0.251	p<0.05
Folat- Homosistein	-0.002	p>0.05
Ürik asit- Homosistein	0.208	p>0.05
Kreatinin- Homosistein	0.066	p>0.05
Kolesterol- Homosistein	0.288	p<0.05
Trigliserit- Homosistein	0.248	p>0.05
Yaş- Homosistein	0.444	p<0.001
Albumin- Homosistein	-0.177	p>0.05

## TARTIŞMA

Homosistein sülfür içeren bir aminoasit olup, diyetle alınan metioninin vücutta demetilasyonu sonucu oluşur. Oluşan homosistein iki yol ile metabolize olur. Metionin sentetaz enzimi ile metionine, sistatyonin beta sentetaz ile sisteine dönüşür. Bu enzimler B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> ve folat gibi vitaminleri kofaktör olarak kullanırlar. Bu enzimlerin eksikliklerinde homosistein metabolize olamayacağı için plazma seviyeleri yükselir(59,94,95).

Plazma homosistein konsantrasyonlarının artması, hem metabolizmasında yer alan enzimlerin genetik defektlerinde, hem de ilaç ve beslenmeye bağlı olarak B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> ve folat vitaminlerinin eksikliğinden kaynaklanabileceği yapılan birçok çalışmada belirtilmiştir(1,9,50,82). Son yıllarda yapılan çalışmaların çoğunda, yüksek plazma homosistein konsantrasyonlarının kardiovasküler kalp hastalıkları için risk faktörü olabileceği kabul edilmektedir(33,42,45,60).

Hiperhomosisteineminin aterosklerozise neden oluş mekanizmaları halen tam olarak açıklanamamış olmasına rağmen, yapılan hayvan çalışmalarında homosisteinin endotelial hasara yol açtığı, endotel hücrelerine direkt toksik etkisinin olduğu, endotel hücrelerinden nitrik oksit sekresyonunu inhibe ettiği, platelet agregasyonunu kolaylaştırdığı ve vazokonstrüksiyona yol açtığı tespit edilmiştir(37,92).

Tüm dünyada insanda görülen en yaygın kronik enfeksiyon etkeni olduğu tartışılan Hp, toplumumuzda da yüksek prevalansa sahiptir(65). Hp enfeksiyonunun kronik gastrit, peptik ülser, MALT(mucosa associated lymphoid tissue) lenfoma ve mide kanseri etyopatogenezinde rol oynadığını destekleyen çalışmalar mevcuttur(29,79).

Hematoloji polikliniklerinden anemi ve düşük serum kobalamin düzeyi olan ve atrofik gastrit yönünden araştırılmak üzere çok sayıda hastanın gastroenteroloji kliniğine gönderilmesi ve bu hastaların büyük bir kısmında atrofi bulgularına rastlanmaması ve çoğunda Hp(+) bulunması kobalamin-Hp ilişkisine dikkati çekmektedir.

Gülşen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, serum kobalamin düşüklüğü olan ve yapılan gastroskopilerde Hp(+) bulunan 73 hastaya eradikasyon tedavisi vermişler. Hp eradikasyonu sağlanan hastaların kontrollerinde serum kobalamin seviyelerinde anlamlı artış tespit etmişlerdir. 73 hastanın 42'sinde(%58) Hp tedavisinden sonra serum kobalamin seviyelerinin normale geldiğini tespit etmişlerdir. Sonuç olarak de Hp enfeksiyonunun kobalamin noksanlığına yol açan klasik etyolojik faktörler listesine eklenebileceğini vurgulamışlardır(35).

Biz de yaptığımız çalışmada, eradikasyon tedavisi verdiğimiz Hp(+) hastalarda özellikle eradikasyon sağlanan grupta serum kobalamin seviyelerinde artma olduğunu tespit ettik, Aralarında istatistiksel olarak belirgin anlamlılık mevcuttu( $p<0.001$ ). Yalnızca 2 hastada serum kobalamin seviyeleri normalden düşük bulundu, bunlarda da tedaviden sonra normal değerlerine yükseldi.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda Hp tarafından oluşan kronik enfeksiyonun koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceği bildirilmiştir(56,58,101). Homosisteinemi gibi Hp enfeksiyonunun da sigara, hipertansiyon ve hiperlipidemi gibi kardiovasküler kalp hastalığı için bağımsız risk faktörü olabileceği belirtilmiştir (67).

Hp enfeksiyonunun ateroskleroze nasıl yol açtığı tam olarak bilinmemekle birlikte, iki hipotez öne sürülmektedir. Bunlardan biri, Hp'ye bağlı kronik enfeksiyon nedeniyle siyalik asit, fibrinojen gibi akut faz reaktanlarında artmalar olmaktadır, ki bunlar koroner arter hastalığı için risk faktörleridir. Patel ve arkadaşları, kardiovasküler kalp hastalığı olan Hp(+) hastalarda fibrinojen ve lökosit sayılarını yüksek saptamışlardır( 67). Diğer bir hipoteze göre, Hp'ye bağlı kronik gastrit nedeniyle vitamin B<sub>12</sub> ve folatın emilimi bozulmasına bağlı olarak, bu vitaminlerin serum seviyelerinde azalma olacağı için metabolizması için bu vitaminlere gereksinim duyan homosistein seviyeleri yükselecektir. Artmış homosistein konsantrasyonları kardiovasküler kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörü olduğundan, Hp enfeksiyonunun da koroner arter hastalığı için bir risk faktörü olabileceği öne sürülmektedir(35,53,12).

Bu çalışmaların aksine Whincup ve arkadaşları, miyokard enfarktüsü geçirmiş 110 hastada plazma total homosistein konsantrasyonlarını ölçmüşler ve Hp(+) ve (-) hastalar arasında herhangi bir fark olmadığını görmüşlerdir(102). Saxena ve arkadaşları ise 122 Hp(+), 98 Hp(-) kişide plazma total homosistein düzeylerini ölçmüşler ve aralarında anlamlı bir fark bulamamışlardır. Her iki çalışmada da sonuç olarak, Hp ile homosisteinin birbirleri ile ilişkili olamayacağını ve Hp'nin bu nedenle koroner arter hastalığı için risk faktörü olamayacağını savunmuşlardır(81). Bizim yaptığımız çalışmada da, plazma total homosistein konsantrasyonları Hp (+) hastalarda daha yüksek bulundu, fakat bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi( $p>0.05$ ).

Lindenbaum ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, klinik olarak kobalamin yetersizliğini düşündüren, hafif anemisi olan 173 hastanın hepsinde plazma total homosistein düzeylerini yüksek saptamışlar, fakat aynı hastaların 9'unda serum kobalamin düzeylerini normal bulmuşlardır(%5.2). Buna göre total plazma homosistein düzeylerinin kobalamin yetersizliğinde önemli bir tanı aracı olabileceğini, özellikle erken fazlarda serum kobalamin düzeylerinin doku seviyesinde eksilikleri ortaya çıkarabileceğini belirtmişlerdir. Bu evrede plazma total homosistein düzeylerinin daha yararlı olacağını söylemişlerdir (42).

Yaptığımız bu çalışmada yalnızca 4 hastada anemi bulguları mevcut idi. Bu hastaların hepsinde plazma total homosistein düzeylerini yüksek bulduk, birinde kobalamin seviyeleri düşük iken diğer üçünde kobalamin seviyeleri normal değerler içindeydi. Diğer hastalarımızda ise klinik ve hematolojik açıdan anemi bulguları yoktu.

Hofmann ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, Tip I diabetes mellituslu hastaların % 35'inde plazma homosistein konsantrasyonlarını yüksek saptamışlardır. Özellikle mikro ve makrovasküler komplikasyonlar gelişen hastalarda homosistein seviyelerini daha yüksek bulmuşlardır. Bu tip hastalarda folik asit tedavisinin yararlı olacağını vurgulamışlardır(38). Yapılan bir çok çalışmada plazma homosistein düzeyleri ile kreatinin arasında direk ilişki bulunmuştur(31,51,82). Hultdberg yaptığı çalışmada, hafif renal disfonksiyonu

olan hastalarda plazma homosistein düzeylerini normal saptamışlar. Belirgin üremik hastalarda ise kreatinin ile ilişkili olarak yüksek bulmuştur(39).

Lussier-Cecon ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, sağlıklı 380 erkek ve 204 kadında plazma total homosistein düzeylerini ölçmüşler ve erkeklerde daha yüksek saptamışlardır. Kadınlardaki bu düşüklüğün seks hormonlarının koruyucu etkisine bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Ayrıca bu çalışmada, homosistein ile ürik asit, kreatinin, albümin, folat, ve B<sub>12</sub> arasında kuvvetli ilişki bulmuşlar, yaş, glisemi, total lipit değerleri ile herhangi bir ilişki bulamamışlardır(51).

Selhub ve arkadaşları ise yaşla birlikte plazma total homosistein konsantrasyonlarında artma olduğunu bulmuşlar ve bunu homosistein metabolizmasında yer alan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına bağlamışlardır. Ayrıca bu çalışmada da erkeklerde kadınlardan daha yüksek homosistein değerleri saptanmıştır(82).

Yapılan diğer bir çalışmada plazma total homosistein düzeyleri ile yaş, trigliserit, kreatinin, üre arasında pozitif korelasyon, HDL kolesterol ile negatif korelasyon bulunmuştur. Plazma homosistein seviyeleri yüksek olan hastalarda aterosklerozis gelişiminin 2.7 kat daha fazla olabileceği vurgulanmıştır. Hiper lipidemik hastalarda rutin olarak plazma homosistein konsantrasyonlarının ölçülmesi gerektiği ve yüksek çıkanların tedavi edilmesi gerektiği söylenmiştir(31).

Bizim çalışmamızda plazma total homosistein düzeyleri ile yaş arasında kuvvetli korelasyon mevcuttu( $r=0.444$ ). Özellikle yaşla birlikte plazma homosistein seviyeleri artmaktadır. Bu artış muhtamelen yaşlılardaki kronik atrofik gastritin daha fazla olması nedeniyle B<sub>12</sub>, folat emilimindeki azalmaya bağlı olabilir. Plazma homosistein seviyeleri ile vitamin B<sub>12</sub> arasında negatif bir korelasyon bulundu( $r=-0.251$ ), B<sub>12</sub> düzeyleri azaldıkça homosistein seviyeleri artmaktadır. Kolesterol ile homosistein arasında da zayıf bir pozitif korelasyon bulundu ( $r=0.288$ ). Üre, kreatinin, Trigliserit ve sigara içimi arasında herhangi bir ilişki bulunamadı( $p>0.05$ ).

Son zamanlarda yapılan birçok çalışmada pridoxin, B<sub>12</sub> ve folik asit tedavisinin plazma homosistein düzeylerini düşürdüğü bulunmuştur (1,16,50,93).

Franken ve arkadaşları 21 hiperhomosisteinemili hastayı 250mg/gün pridoksin ve 5mg/gün folik asit ile tedavi etmişler ve 6 hafta içerisinde homosistein düzeylerinin normale düştüğünü bulmuşlardır(28). Aynı şekilde Ubbink ve arkadaşları, 10 mg/gün pridoksin, 1mg/gün folat ve 0.4 mg/gün B12 vitamini vererek 6 hafta içerisinde homosistein seviyelerinin normale indiğini bulmuşlardır(93).

Bizim çalışmamızda Hp(+) bulunan 49 hastaya eradikasyon verildikten sonra 35 hastada (%71.4) eradikasyon sağlandı bu oran Gülşen ve arkadaşlarının oranıyla aynı seviyededir(35). Tedaviden 1 ay sonra yapılan ölçümlerde Hp eradikasyonu sağladığımız grupta plazma total homosistein konsantrasyonlarında anlamlı derecede düşme tespit ettik ( $p<0.01$ ). Eradikasyon sağlanamayan grupta da düşme görüldü fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamsızdı( $p>0.05$ ).

Hp eradikasyonununundan sonra plazma homosistein seviyelerinde azalma olmasına rağmen, özellikle normalden daha yüksek homosistein düzeyi olan hastalarda plazma homosistein düzeyleri normal seviyelere düşmedi. Bunu tedaviden sonra yaptığımız kontrollerin erken olabileceğine bağladık. Daha uzun süre yapılacak takiplerde plazma homosistein düzeylerinin normal seviyelere düşeceği kanaatindeyiz.

Sonuç olarak Hp'nin toplumun büyük çoğunluğunu etkileyen kronik bir enfeksiyon etkenidir. Çeşitli nedenlerle kobalamin ve folat yetersizliğine yol açması nedeniyle plazma homosistein düzeylerinde yükselmelere yol açabilmektedir. Homosistein kardiovasküler kalp hastalığı için bağımsız risk faktörü olduğu için Hp enfeksiyonu da kardiovasküler kalp hastalığı için risk faktörü olarak kabul edilebilir. Bu nedenlerden dolayı, Hp pozitif hastalarda kardiovasküler kalp hastalığı riski varsa plazma homosistein konsantrasyonlarının ölçülmesini, yüksek olanlarda mutlaka eradikasyon tedavisi yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Özellikle plazma homosistein düzeyleri yüksek daha geniş Hp(+) gruplarda uzun süreli takipli yeni araştırmalar yapılması gerekmektedir.

## ÖZET

Homosistein sülfür içeren bir aminoasit olup, vucutta diyetle alınan metionin metabolizması sonucu oluşur. Bu metabolik yolda kompleks enzimatik sistem rol alır ve bu enzimler vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub> ve folatı kofaktör olarak kullanırlar. Vitamin B<sub>12</sub> ve folat yetersizliklerinde plazma total homosistein seviyeleri yükselir.

Kobalamin ve folat yetersizliklerinde ve bu iki vitamin yetersizliğinin birbirinden ayırımında total homosistein seviyeleri önemlidir. Hafif hiperhomosisteinemi kardiovasküler kalp hastalıkları için bağımsız risk faktörüdür.

Açıklanamayan serum kobalamin düzeyi düşüklüğü olan hastalarda Helicobacter pylori infeksiyonunun rolü olduğu düşünülmektedir. Hp tedavisinden sonra serum kobalamin seviyeleri artmaktadır.

Bu çalışmanın amacı, Helicobacter pylori tedavisi ile plazma total homosistein seviyelerinde düşme olup olmadığını ve bunların vitamin B<sub>12</sub> ve folat ile ilişkisini araştırmak.

Bu çalışmaya Hp(+) kronik gastritli 49 hasta dahil edildi. Hastaların hiçbirinde herhangi bir hastalık yoktu ve hastalar herhangi bir ilaç kullanmıyorlardı. Bu hastalara bir haftalık omeprazol (40mg/g), klaritromisin (1gr/g) ve amoksisilin (2gr/g) tedavisi verildi. Bütün hastaların tedaviden önce ve tedaviden bir ay sonra vitamin B<sub>12</sub>, folat ve total plazma homosistein konsantrasyonları ölçüldü.

49 hastanın 35'inde (%71.4) Hp eradikasyonu sağlandı. Tedaviden sonra plazma total homosistein seviyelerinde azalma gözlemlendi (p<0.01). Vitamin B<sub>12</sub> seviyelerinde belirgin(p<0.001), folat seviyelerinde hafif artma tespit edildi (p>0.05). Plazma total homosistein seviyeleri ile yaş ve kolesterol arasında kuvvetli korelasyon vardı (p<0.01). Fakat üre, kreatinin B<sub>12</sub> folat ve trigliseritler arasında herhangi bir korelasyon yoktu (p>0.05).

Sonuç olarak, Homosistein kardiovasküler kalp hastalığı için bağımsız bir risk faktörüdür. Helicobacter pylori ile homosistein arasındaki ilişkiye dayanarak, Helicobacter pylori kardiovasküler kalp hastalıkları için bir risk faktörüdür denilebilir. Hp(+) hastalarda, beraberinde kardiovasküler risk faktörlerinden biri varsa Hp tedavisi mutlaka yapılmalıdır.



## SUMMARY

### **Plasma Total Homocysteine Concentrations in Patients with Chronic Gastritis and Its Relation with *Helicobacter pylori* Infections**

Homocysteine is a sulfur containing amino acid that is formed by demethylation of dietary methionine. Its metabolic pathways are regulated by complex enzymatic systems, which in turn, depend on B<sub>12</sub>, B<sub>6</sub>, folate vitamins as cofactors. In deficiencies of folate and B<sub>12</sub> vitamins are always contribute to elevated levels of plasma total homocysteine.

Total homocysteine levels are important in diagnosing patients with cobalamin and folate deficiency and in distinguishing between these two vitamin deficiencies. Mild hyperhomocysteinemia is an independent risk factor for cardiovascular heart disease. It is considered that *Helicobacter pylori* infection has a role in patients with unexplained low serum cobalamin levels, serum cobalamin levels increased after Hp treatment.

The aim of this study is, to investigate after *Helicobacter pylori* treatment plasma homocysteine levels will decrease or not, and is there any relation with vitamin B<sub>12</sub> and folate status.

49 Hp(+) patients with chronic gastritis were included in this study. They have no other health problems and they did not take any medications. These patients were received therapy with omeprazole (40mg/d), clarithromycin (1gr/d) and amoxicillin (2gr/d) for one week. We measured all of them vitamin B<sub>12</sub>, folate and total plasma homocysteine concentrations before treatment and one month after treatment.

Hp eradication were achieved in 35 of 49 patients (%71.4). Plasma total homocysteine levels decreased ( $p < 0.01$ ), vitamin B<sub>12</sub> levels increased more than folate levels after treatment ( $p < 0.001$ ,  $p > 0.05$ ). There was a significant correlations between plasma homocysteine, age and cholesterol ( $p < 0.01$ ). But no correlations between blood urea nitrogen, creatinine, B<sub>12</sub>, folate and triglycerides ( $p > 0.05$ ).

In conclusion, homocysteine is an independent risk factor for cardiovascular heart disease. According to relation with Helicobacter pylori and homocysteine, Hp is a risk factor for cardiovascular heart disease. Hp(+) patients, if they have high risk of cardiovascular heart disease Hp treatment must be given.



## KAYNAKLAR

1. Allen, R.H., Stabler, S.P., Savage, D.G., Lindenbaum, J.: Diagnosis of cobalamin deficiency. I. Usefulness of serum methylmalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol.* 34: 90-98,1990.
2. Andersson, A., Brattström, L., Isaksson, A., Israelsson, B., Hultberg, B.: Determination of homocysteine in plasma by ion-exchange chromatography. *Scan J Clin Lab Invest.* 49: 445-450, 1989.
3. Andersson, A., Hultberg, B., Brattstrom, L., Isaksoon, A.: Decreased serum homocysteine in pregnancy. *Eur J Clin Chem Clin Biochem.* 30: 377-379,1992.
4. Bailey, L.B.: Folate status assessment. *J Nutr.* 120: 1508-1511, 1990.
5. Beck, W.S.: Diagnosis of megaloblastic anemia. *Annu Rev Med.* 42:311-322, 1991.
6. Boers, G.H.J., Smals, A.G.H., Trijbels, F.J.M., et al.: Unique efficiency and methionine metabolism in premenopausal women and protect against vascular disease in the reproductive years. *J Clin Invest.* 72: 1971-1976, 1983.
7. Boers, G.H.J., Smals, A.G.H., Trijbels, F.J.M., et al.: Heterozygosity for homocystinuria in premature peripheral and cerebral occlusive arterial disease. *N Eng J Med.* 313: 709-715, 1985.
8. Brattström L.E., Israelsson, B., Jeppson, J.O., Hultberg, B.L.: Folic acid-an innocuous means to reduce plasma homocysteine. *Scand L Clin Lab Invest.* 48: 215-221,1988.
9. Brattström, L.E., Israelsson, B., Lindgarde, F., Hultberg, B.: Higher total plasma homocysteine in vitamin B<sub>12</sub> deficiency than in heterozygosity for homocystinuria due to cystathione β-synthase deficiency. *Metabolism.* 37: 175-178, 1988.

10. Brattström, L.E., Hultberg, B.L., Hardebo, J.E.: Folic acid responsive postmenopausal homocysteinemia. *Metabolism*. 34: 1073-1077, 1985.
11. Brown, R.D., Jun, R., Hughes, W., Watmen, R., Arnold, B., Kronenberg, H.: Red cell folate assay: some answers to current problems with radioassay variability. *Pathology*. 22: 82-87, 1990.
12. Carmel, R., Perez-Perez, G.I., Blaser, M.J.: Helicobacter pylori infections and food cobalamin malabsorption. *Dig Dis Sci*. 39: 309-314, 1994.
13. Carmel, R., Sinow, R.M., Karnaze, D.Z.: Atypical cobalamin deficiency-subtle biochemical evidence of deficiency is commonly demonstrated in patients without megaloblastic anemia and is often associated with protein-bound cobalamin malabsorption. *J Clin Med*. 109: 454-463, 1987.
14. Carson, N.A.J., Neil, D.W.: Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. *Arc Dis Child*. 37: 505-513, 1962.
15. Chadeaux, B., Ceballos, I., Hamet, M.; et al.: Is absence of atheroma in Down syndrome due to decreased homocysteine levels? *Lancet*. 11: 741, 1988.
16. Chu, R.C., Hall, C.A.: The total serum homocysteine as an indicator of vitamin B<sub>12</sub> and folate status. *Am J Clin Pathol*. 90: 446-449, 1988.
17. Clyne, M., Drumm, B.: Adherence of Helicobacter pylori to primary human gastrointestinal cells. *Infect Immun*. 61: 4051, 1993.
18. Correa, P.: Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process-first American Cancer Society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Research*. 52: 6735-6740, 1992.
19. Czeizel, A.E., Dudas, I.: Prevention of the first occurrence of neural tube defects by periconceptional vitamin supplementation. *N Eng L Med*. 327: 1832-1835, 1992.

20. De Vigneaud, V.E.: Trail of research in sulfur chemistry and metabolism, and related fields. Ithaca NY, Cornell University Press, 1952.
21. Dixon, M.F.: Helicobacter pylori and peptic ulceration . Histopathological aspects J Gastroenterol Hepatol. 6: 125-130,1991.
22. Dixon, M.F.: Pathophysiology of Helicobacter pylori infection. Scand J Gastroenterol. 29(suppl101):7-10, 1994.
23. Dooley, C.P.: Background and historical considerations of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin N Am. 22: 1-4,1993.
24. Dunn, B.E.: Pathogenic mechanisms of Helicobacter pylori. Gastroenterol Clin N Am. 22: 43-57,1993.
25. Finkelstein, J.D., Martin, J.J.: Methionine metabolism in mammals. Adaptation to methionine excess. L Biol Chem. 261: 1582-1587,1986.
26. Finkelstein, J.D.: Methionine metabolism in mammals. J Nutr Biochem. 1:228-237,1990.
27. Finkelstein, J.D.: Methionine metabolism in mammals: the biochemical basis for homocystinuria. Metabolism. 23: 387-398, 1974.
28. Franken, D.G., Boers, G.H.J., Blom, H.J., et al.: Treatment of mild hyperhomocysteinemia in vascular disease patients. Arterioscler Thromb. 14: 465-470, 1994.
29. Genta, R.M., Hammer, H.W., Graham, D.Y.: Gastric lymphoid follicles in Helicobacter pylori infection: Frequency, distribution and response to triple therapy. Human Pathol. 24: 577-583, 1993.
30. Gerritsen, T., Waisman, H. A.: Homocystinuria, an error in the metabolism of methionine. Pediatrics. 33: 413-420, 1964.

31. Glueck, C.J., Shaw, P., Lang, J.E., et al.: Evidence that homocysteine is an independent risk factor for atherosclerosis in hyperlipidemic patient. *Am J Card.* 75: 132-136, 1995.
32. Goodwin, C.S., Mendall, M.M., Northfield T.C.: *Helicobacter pylori* infection. *Lancet.* 349: 265-269, 1997.
33. Goodwin, C.S., Worsley, B.W.: Microbiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin N Am.* 22: 5-19, 1993.
34. Graham, M., Daly, L.E., Refsum, H., et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. *Jama.* 277(22): 1775-1781, 1997.
35. Gülşen, M., Battal, A., Uygurer, C., et al.: *Helicobacter pylori* and cobalamin deficiency. *Gut.* 41(suppl3): A165;1997.
36. Gupta, V.J., Wilcken, D.E.L.: The detection of cysteine-homocysteine mixed disulphide in plasma of normal fasting man. *Eur L Clin Invest.* 8: 205-207, 1978.
37. Harker, L.A., Slichter, S.L., Scott, C.R., Ross, R.: Homocysteinemia: vascular injury and arterial thrombosis. *Nev Eng J Med.* 291: 537-543, 1974.
38. Hofmann, M.A., Kona, B., Zumbach, M.S.: Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in IDDM. *Diabetes Care.* 20: 1880-1886, 1997.
39. Hultberg, B., Andersson, A., Sterner, G.: Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nefr.* 40(4): 230-234, 1993.
40. Isaacson, P., Wright, D.H.: Extranodal malignant lymphoma arising from mucosa associated lymphoid tissue. *Cancer.* 53: 2515-2524, 1984.
41. Jacobsen, D.W., Gatautis, V.J., Green, R.: Determination of plasma homocysteine by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Anal Biochem.* 178: 208-214, 1989.

42. Jacobsen, D.W.: Determinants of hiperhomocysteinemia: a matter of nature and nurture. *Am J Clin Nutr.* 64: 641-642, 1996.
43. Kang S.S., Wong, P.W.K., Becker, N.: Proteine bound homocyst(e)ine in normal subjects and in patients with homocystinuria. *Pediat Res.* 13: 1141-1143, 1979.
44. Kang, S.S., Wong, P.W.K., Malinow, M.R.: Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr.* 12:279-298, 1992.
45. Kang, S.S.: Treatment of hyperhomocyst(e)inemia: Physiological basis. *J Nutr* 126: 1273s-1275s, 1996.
46. Kluijtmans, L.A.J., Hauvel L.P.W.J., Boers, G.H.J., et al.: Molecular genetic analysis in mild hiperhomocysteinemia: a cammon mutation in the methylenetetrahydtofolate reductase gene is a genetic risk factor for cardiovascular disease. *Am J Hum Genet.* 58: 35-41, 1996.
47. Kolts, B.E., Joseph, B., Achem, S.R., Bianchi, T., Monterio, C.: *Helicobacter pylori* detection: a quality and cost analysis. *Am J Gastroenterol.* 88: 650-655, 1993.
48. Lee, A.: The microbiology and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol.* 29(suppl201): 2-6, 1994.
49. Lindenbaum, J., Healton E.B., Savage, D.G., et al.: Neurepsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence anemia or macrocytosis. *N Eng J Med.* 318: 1720-1728, 1988.
50. Lindenbaum, J., Savage, D.G., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Diagnosis of cobalamin deficiency. II: Relative sensitivities of serum cobalamin, metylomalonic acid and total homocysteine concentrations. *Am J Hematol.* 34: 99-107, 1990.
51. Lussier, S., Cacan, S., Xhignesse, M., et al.: Plasma total homocysteine in healthy subjects: sex-spesific relation with biological traits. *Am J Clin Nutr.* 64: 587-593, 1996.

52. Malinow, M. R.: Hyperhomocysteinemia. A common and easily reversible risk factor for occlusive atherosclerosis. *Circulation*. 81: 2004-2006, 1990.
53. Markle, H.V.: Coronary artery disease associated with helicobacter pylori infection is at least partially due to inadequate folate status. *Medical Hypothesis*. 49: 289-292, 1997.
54. Marshall, B.J., McGeachie, D.B., Francis G.J., Utley, P. J.: Ploric compylobacter serology. *Lancet*. 2: 281-284, 1984.
55. Marshall, B.J.: Helicobacter pylori. *Am J Gastroenterol*. 89: s117-s118, 1994.
56. Martide-de-Argila, C., Boixeda, D., Fuertes, A., et al.: Helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Gut*. 37(suppl1): A25, 1995.
57. McRae, T.D., Freedman, M.L.: Why vitamin B<sub>12</sub> deficiency should be managed aggressively. *Geriatrics*. 44: 70-79, 1989.
58. Mendall, M.A., Goggin, P.M., Molineaux, N., et al.: Relation of helicobacter pylori infection and coronary heart disease. *Br Heart J*. 71: 437-439, 1994.
59. Miner, S.E.S., Evrovski, J., Cole, D.E.C.: Clinical chemistry and molecular biology of homocysteine metabolism: An update. *Clin Biochem*. 30: 189-201, 1997.
60. Mølgaard, J., Malinow, M.R., Lassvik, C. et al.: Hiperhomocyst(e)inemia: an independent risk factor for intermittent claudication. *J Int Med*. 231: 273-279, 1992.
61. MRC Vitamin Study Research Group. Prevention of neural tube defects: results of the medical research council vitamin study. *Lancet*. 338: 131-137, 1991.
62. Mudd, S.H., Finkelstein, J.D., Irreverre, F., Laster.: Homocystinuria: an enzymatic defect. *Science*. 143: 1443-1445, 1964.

- 63.Mudd, S.H., Levy, H.L.: Disorders of transsulfuration. In: Standbury, J.B., (Ed.), Metabolic basis of inherited diseases. New York, McGraw-Hill Publications, 522-559, 1983.
- 64.Nygard, O., Volset, S.E., Refsum, H., et al.: Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. J Am Med Assoc. 274: 1526-1533, 1995.
- 65.Özden, A., Dumlu, Ş., Gönderici, Ö., ve ark.: Helicobacter pylori enfeksiyonunun ülkemizde seroepidemiolojisi. Gastroenteroloji Dergisi. 3: 664-668, 1992
- 66.Özden, A.: Helicobacter pylori, gastritis, peptik ülser. Türk Gastroenteroloji Derneği yayını. 1-49,1995.
- 67.Patel, P., Mendall, M.A., Carrington, D., et al.: Helicobacter pylori and chlamydia pneumonia infections with coronary heart disease and cardiovascular risk factor. Br Med J. 311: 711-714, 1995.
- 68.Paura, D.A.: Helicobacter pylori: a diagnostic dilemma and a dilemma of diagnosis. Gastroenterology 109: 313-315, 1995.
- 69.Perez-Perez, G.I., Dworkin, B.M., Chodos, J.E., Blaser, M.J.: Comphylobacter pylori antibodies in humans. Ann Int Med. 109: 11-17, 1988.
- 70.Personnet, J.: Helicobacter pylori and gastric cancer. Gastroenterol Clin N Am. 122: 89-104, 1993.
- 71.Rathbone, B.J., Wyatt, J.I.: In vitro production of comphylobacter pyloridis spesific antibodies by gastric mucosal biopsies. Gut. 27: A607,1986.
- 72.Refsum, H., Helland, S., Ueland, P.M.: Radioenzymic determination of homocysteine in plasma and urine. Clin Chem. 31: 624-628, 1985.
- 73.Refsum, H., Ueland, P.M., Kvinnsland, S.: Acute and long term effects of high dose methotrexate treatment on homocysteine in plasma and urine. Cancer Res. 46: 5385-5391,1986.

74. Refsum, H., Ueland, P.M., Svardal, A.M.: Fully automated fluorescence assay for determining total homocysteine in plasma. *Clin Chem.* 35: 1921-1927, 1989.
75. Refsum, H., Wesenberg, F., Ueland, P.M.: Plasma homocysteine in children with acute lymphoblastic leukemia. Changes during a chemotherapeutic regimen including methotrexate. *Cancer Res.* 51: 828-835, 1991.
76. Robinson, K., Gupta, A., Dennis, V.: Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation.* 94(11): 2743-2748, 1996.
77. Rothbone, B.J., Heatley, R.V.: *Comphylobacter pylori and duodenal disease.* Black Well Scientific pub. 1989.
78. Sahne, B.: Vitamin B12-folat interrelationships. *Annu Rev Nutr.* 5: 115-141, 1985.
79. Sandıkcı, M., Doran, F., Köksal, F., et al.: Helicobacter pylori prevalence in a routine upper gastrointestinal endoscopy population. *Br J Clin Pract.* 47(4): 187-189, 1993.
80. Savage, D.G., Lindenbaum, J., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Serum methylmalonic acid and total homocysteine in diagnosis of deficiencies of cobalamin and folate. *Am J Med.* 1993.
81. Saxena, V., Markus, H., Swaminathan, S., Mendall, M.E.: Hyperhomocysteinemia, Helicobacter pylori, and coronary heart disease. *Heart.* 78: 524, 1997.
82. Selhub, J., Jacques, P.F., Wilson, P.W.F., et al.: Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *Jama.* 270(22): 2693-2698, 1993.
83. Soll, A.H.: Pathogenesis of peptic ulcer and implications for therapy. *N Eng J Med.* 322: 909-916, 1990.

84. Sonnenberg, A., Townsend, T.W.: Testing for *Helicobacter pylori* in the diagnosis of Zollinger-Ellison syndrome. *Am J Gastroenterol.* 86: 606-608, 1991.
85. Sponen, P., Hyvarinen, H.: Role of *Helicobacter pylori* in the pathogenesis of gastritis, peptic ulcer and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol.* 28(suppl196): 3-6, 1993.
86. Stabler, S.P., Allen, R.H., Savage, D.G., Lindenbaum, J.: Clinical spectrum and diagnosis of cobalamin deficiency. *Blood.* 76: 871-881, 1990.
87. Stabler, S.P., Lindenbaum, J., Savage, D.G., Allen, R.H.: Elevation of serum cystathionine levels in patients with cobalamin and folate deficiency. *Blood.* 81: 3404-3413, 1993.
88. Stabler, S.P., Marcell, P.D., Podell, E.R., et al.: Elevation of total homocysteine in serum of patients with cobalamin or folate deficiency detected by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J Clin Invest.* 81: 446-474, 1988.
89. Stabler, S.P., Marcell, P.D., Podell, E.R., et al.: Serum homocysteine (Hcy) is a sensitive indicator of cobalamin (Cbl) and folate deficiency. *Blood.* 66(suppl): 55a, 1987.
90. Stampfer, M.J., Malinow, M.R., Willet, W.C., et al.: A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in United States physicians. *J Am Med Assoc.* 268: 877-881, 1992.
91. Stipanuk, M.H.: Metabolism of sulfur-containing amino acids. *Annu Rev Nutr.* 6:179-209, 1986.
92. Sung, J.J.Y., Sanderson, J. E.: Hyperhomocysteinemia, *Helicobacter pylori*, and coronary heart disease. *Heart.* 76: 305-307, 1996.
93. Ubbink, J.B., Vermaak, W.J.H., Merwe, A., Becker, P.J.: Vitamin B<sub>12</sub>, vitamin B<sub>6</sub>, and folate nutritional status in men with hyperhomocysteinemia. *Am J Clin Nutr.* 57: 47-53, 1993.

94. Ueland, P.M., Refsum, H., Stabler, S.P., Malinow, M.R., Andersson, A.: Total homocysteine in plasma or serum: Methods and clinical applications. *Clin Chem.* 39 (9): 1764-1779, 1993.
95. Ueland, P.M., Refsum, H.: Plasma homocysteine, as a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease, and drug therapy. *J Clin Med.* 114: 473-501, 1989.
96. Ueland, P.M.: Pharmacological and biochemical aspect of S-adenosylhomocysteine and S-adenosylhomocysteine hydrolase. *Pharmacol. Rev.* 34: 223-253, 1982.
97. Van der Mooren, M.J., Wouters, M.G.A.J., Blom, H.J., et al.: Hormone replacement therapy may deduce high serum homocysteine in postmenapousal women. *Eur J Clin Invest.* 24: 733-736, 1994.
98. Wannmacker, C.M.D., Wajner, M., Giugliani, R., Filho, C.S.D.: An improved specific laboratuary test for homocystinütia: *Clin Chim Acta.* 125: 367-369, 1982.
99. Warren, J.R., Marshall, B.J.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet.* I: 1310-1314, 1984.
100. Weber, D.M., Dimopoulos, M.A., Anandu, D.P., et al.: Regression of gastric lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue with antibiotic threapy. *Hum Pathol.* 24: 577-583, 1993.
101. Whincup, P., Mendall, M.A., Perry, I.J., Strechan, D.P., Walker, M.: Prospective relations between *Helicobacter pylori* infection, coronary heart disease, and stroke in middle aged men. *Heart.* 75: 568-572, 1996.
102. Whincup, P.H., Mendall, M.A., Perry, I.J., Strachan, D.P.: Hyper homocysteinemia, *Helicobacter pylori*, and coronary heart disease. *Heart.* 78: 524, 1997.

103. Wilcken, D.E.L., Gupta V.J.: Cysteine-homocysteine mixed disulphide: differing plasma concentrations in normal men and women. *Clin Sci.* 57: 211-215, 1979.
104. Wilcken, D.E.L., Reddy, S.G., Gupta, V.J.: Homocysteinemia, ischemic heart disease, and the carrier state for homocystinuria. *Metabolism.* 32: 363-370, 1983.

