

ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ

HELICOBACTER PYLORI PATOGENEZİNDE İNFLAMATUAR
SİTOKİNLERİN İMMÜN REAKTİF MOLEKÜLLERİN ROLÜ

Salah Shayyal Shinjar SHINJAR

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ÇANKIRI
2024

Her hakkı saklıdır

TEZ ONAYI

Salah Shayyal Shinjar SHINJAR tarafından hazırlanan “*Helicobacter pylori* Patogenezinde İnflamatuvar Sitokinlerin İmmün Reaktif Moleküllerin Rolü” adlı tez çalışması 10/07/2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Prof. Dr. Ali Anouk NJUM

Jüri Üyeleri :

Başkan : Prof. Dr. Seçil Akıllı ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç.Dr. İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. Efehan ULAŞ
Biyostatistik ve Temel Tıp Bilişimi Anabilim Dalı
Kırklareli Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Müge FIRAT
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Neslihan BAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Gazi Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum “*Helicobacter pylori* Patogeneğinde İnflamatuvar Sitokinlerin İmmün Reaktif Moleküllerin Rolü” konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü’nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını, “intihal içermediğini” beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (10/07/2024).

Salah Shayyal Shinjar SHINJAR

ÖZET

Doktora Tezi

HELICOBACTER PYLORİ PATOGENEZİNDE İNFLAMATUAR SİTOKİNLER VE İMMÜN REAKTİF MOLEKÜLLERİN ROLÜ

Salah Najar Shayyal SHAYYAL

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Prof. Dr. Ali Anouk NJUM

Helicobacter pylori gram-negatif bir bakteridir. Üreaz üretir, spiral benzeri bir konformasyona sahiptir, mikroaerofiliktir ve flagella sayesinde hareketlidir. *H. pylori* mide ortamında hayatta kalmak ve kalıcı kolonizasyon sağlamak için mekanizmalar geliştirmiştir. Hem doğuştan gelen hem de edinilmiş bağışıklık yanıtlarının aktif bir uyarıcısıdır. *H. pylori* enfeksiyonunun ayırt edici özelliği, çeşitli bağışıklık hücrelerinin enfekte mide mukozasına infiltrasyonu ile belirgin bir inflamatuvar yanıtıdır; konakçı bağışıklık yanıtı enfeksiyonu temizleyemez ve aslında ilişkili patogeneze katkıda bulunabilir. Bu çalışma için yaşları 5 ile 60 arasında değişen toplam 150 hasta (70 kadın ve 80 erkek) taranmıştır. Hastalar 1 Ekim-1 Nisan 2023 tarihleri arasında tekrarlayan karın ağrısı ve diğer gastrointestinal şikayetler nedeniyle Samawa şehrindeki AL-Hussien Eğitim Hastanesi Gastroenteroloji Ünitesine başvurmuştur. Antrumun kabaca iltihaplı bölgelerinden üç biyopsi alınmıştır. Biyopsilerden biri Ultra Hızlı Üreaz testi ve ure ve dupA genini tespit etmek için moleküler analizler için kullanılırken, diğer biyopsi örnekleri, histolojik değerlendirme için parafine gömülü doku bloklarının hazırlanması, TNF alfa ve CD54 tespiti için immünohistokimyasal boyama testleri (IHC) için %10 tamponlanmış formalize salin ile sabitlenmiştir. Ayrıca, endoskopiden sonra her hastadan *H. pylori* için IgG antikoları; serum gastrin-17 ve (serum interlökin-6,10 ve interlökin-8) tespiti için kan örneği alınmıştır. Sonuçlarımız 150 hastadan sadece 86'sının (%57,3) *H. pylori* ile enfekte olduğunu göstermektedir. UreB ve dup A genlerinin tespiti için yapılan moleküler analizler 20 biyopsi için sadece 13 örneğin ureB geni için pozitif olduğunu ve 9 örneğin dup A geni için pozitif olduğunu göstermiştir. Mevcut çalışmada, *H. pylori* ile ilişkili gastritteki histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için histolojik çalışma yapılmıştır. Tüm *H. pylori* pozitif bireylerde kronik aktif gastritin yanı sıra, *H. pylori* ile enfekte kişilerin gastrik hasarının patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülen çok sayıda inflamatuvar infiltrat lenfosit ve nötrofil gözlenmiştir. *H. pylori* ile ilişkili gastritin derecelendirilmesi, inflamatuvar aktivitenin derecesinin değerlendirilmesi için güncellenmiş Sydney sistemi kullanılmıştır. Buna göre, kronik enflamasyon, atrofik gastrit ve yüzey epitel hasarlarına ek olarak pozitif ve negatif *H. pylori* enfekte hastalar arasında anlamlı bir fark ($P < 0,005$) tespit edilmiştir. Ayrıca, bu çalışmada, *H. pylori* ile enfekte hastalarda Gastrit şiddetinin tespiti için IL-6, 8, 10 ve TNF alfa seviyeleri ELISA

testi ile ölçülmüştür. Sonuçlar, normal bireylerle karşılaştırıldığında enfekte hastalarda IL-10 dışında IL-6, 8 ve TNF alfa ekspresyonunun yüksek olduğunu göstermiştir. Biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal çalışmasına göre, enfekte bireylerde CD54 ve TNF alfanın aşırı ekspresyonu gözlenmiştir. Enfekte ve enfekte olmayan biyopsi örnekleri arasında mide mukozasında TNF alfa ve IL-6, 8'in yanı sıra PMNC'ler ve MNC'lerin artmış lokal varlığı ile birlikte CD54 ve TNF alfa ekspresyonunda anlamlı bir fark belirlenmiştir (p=0,005).



2024, 105 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: *Helicobacter pylori*, İnflamatuar, Reaktif moleküller, Sitokinler

ABSTRACT

PhD Thesis

THE ROLE OF INFLAMMATORY CYTOKINES AND IMMUNE REACTIVE MOLECULES IN THE PATHOGENESIS OF *HELICOBACTER PYLORI*

Salah Shayyal Shinjar SHINJAR

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Advisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Co-Advisor: Prof. Dr. Ali Anouk NJUM

Helicobacter pylori is a gram-negative bacterium. It produces urease, has a spiral-like conformation, is microaerophilic and is motile by flagella. *H. pylori* has evolved mechanisms to survive in the gastric environment and achieve permanent colonization. It is an active stimulator of both innate and acquired immune responses. The hallmark of *H. pylori* infection is an inflammatory response marked by infiltration of various immune cells into the infected gastric mucosa; the host immune response is unable to clear the infection and may in fact contribute to the associated pathogenesis. A total of 150 patients (70 women and 80 men) aged between 5 and 60 years were screened for this study. Patients were admitted to the Gastroenterology Unit of AL-Hussien Teaching Hospital in Samawa city for recurrent abdominal pain and other gastrointestinal complaints between October 1 and April 1, 2023. Three biopsies were taken from roughly inflamed areas of the antrum. One of the biopsies was used for Ultra-Rapid Urease assay and molecular analyses to detect urea and dupA gene, while the other biopsy samples were fixed with 10% buffered formalized saline for preparation of paraffin-embedded tissue blocks for histological evaluation, immunohistochemical staining tests (IHC) for detection of TNF alpha and CD54. In addition, blood samples were collected from each patient after endoscopy for IgG antibodies to *H. pylori*, serum gastrin-17 and (serum interleukin-6,10 and interleukin-8) detection. Our results show that only 86 out of 150 patients (57.3%) were infected with *H. pylori*. Molecular analysis for detection of ureB and dup A genes showed that only 13 samples out of 20 biopsies were positive for ureB gene and 9 samples were positive for dup A gene. In the present study, a histologic study was performed to evaluate histopathologic changes in *H. pylori*-associated gastritis. In addition to chronic active gastritis in all *H. pylori*-positive individuals, a large number of inflammatory infiltrating lymphocytes and neutrophils were observed, which are thought to play an important role in the pathogenesis of gastric damage in *H. pylori*-infected individuals. The grading of *H. pylori*-associated gastritis used the updated Sydney system for the assessment of the degree of inflammatory activity. Accordingly, in addition to chronic inflammation, atrophic gastritis and surface epithelial damage, a significant difference ($P<0.005$) was found between positive and negative *H. pylori*-infected patients. Furthermore, in this study, IL-6, 8, 10 and TNF alpha levels were measured by ELISA

assay to determine the severity of gastritis in *H. pylori*-infected patients. The results showed that the expression of IL-6, 8 and TNF alpha, but not IL-10, was higher in infected patients compared to normal individuals. According to immunohistochemical study of biopsy specimens, overexpression of CD54 and TNF alpha was observed in infected individuals. There was a significant difference in the expression of CD54 and TNF alpha in the gastric mucosa between infected and uninfected biopsy specimens, with increased local presence of TNF alpha and IL-6, 8, as well as PMNCs and MNCs (p=0.005).



2024, 105 pages

Keywords: *Helicobacter pylori*, Inflammatory, Reactive molecules, Cytokines

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Tez danışmanım Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK'e sabrı, rehberliği ve anlayışı için teşekkür ederim.

Salah Shayyal Shinjar SHINJAR

Çankırı, Temmuz 2024



İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	i
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER DİZİNİ	vii
KISALTMALAR DİZİNİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	4
2.1 <i>Helicobacter pylori</i>	4
2.2 Doğal Yaşam Alanları.....	4
2.3 Klinik Önem	5
2.4 Bakteriyel Virülans Faktörleri, Kolonizasyon ve Enfeksiyon Açısından Önemi	7
2.4.1 Üreaz	7
2.4.2 Müsin'e bağlanma.....	8
2.4.3 Hareketlilik ve şekil	9
2.4.4 Adezinler.....	9
2.4.5 Sitotoksinite ile ilişkili patojenite adası	10
2.4.6 Vakuolleştirici sitotoksin.....	12
2.4.7 Diğer virülans <i>H. pylori</i> faktörleri.....	13
2.5 <i>H. pylori</i> 'ye Karşı İnflamatuar Yanıt ve Hastalık Riskini Etkileyen Konakçı Genetik Faktörleri	14
2.6 <i>H. pylori</i> Enfeksiyonuna Karşı İnsanların Bağışıklık Tepkisi	15
2.6.1 Akut enfeksiyon	15
2.6.2 Kronik enfeksiyon.....	16
2.6.3 Humoral tepki	19
2.7 Atrofik Gastritte Biyobelirteç Olarak Gastrin-17	20
2.7.1 Morfolojik değişkenlerin derecelendirilmesi	21
2.8 <i>Helicobacter pylori</i> Enfeksiyonunun Tanısı	23

2.8.1 İnvaziv olmayan testler	23
2.8.2 İnvazif testler.....	26
2.9 <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunda Güncel Tedaviler.....	31
2.9.1 Bizmut dörtlü tedavisi	31
2.9.2 Sıralı terapi.....	32
2.9.3 Bizmut dışı dörtlü (eş zamanlı) tedavi	33
2.9.4 Hibrit terapi	33
2.9.5 Levofloksasin bazlı tedaviler	34
2.9.6 Yardımcı probiyotikler	34
3. MATERYAL VE METOT	36
3.1 Materyal	36
3.2 Antibiyotik Duyarlılık Testi	38
3.2.1 Kültür ortamları.....	39
3.2.2 Çözeltiler, boyalar ve reaktifler.....	40
3.3 Örnekler	41
3.3.1 Kan örnekleri	41
3.3.2 Biyopsi örnekleri.....	41
3.4 Yöntemler.....	42
3.4.1 Kültür ortamının hazırlanması	42
3.4.2 Hızlı üreaz testi (RUT)	42
3.5 Virülans Genlerinin Moleküler Tespiti.....	42
3.5.1 DNA ekstraksiyonu.....	42
3.5.2 Virülans genleri için PCR reaksiyonu	46
3.5.3 Gen Tanısı	47
3.5.4 Serumda <i>H. pylori</i> 'ye karşı insan IgG antikorunun ölçümü için enzime bağlı immünosorbant testi	48
3.6 İnterlökin-6, 8, 10 ve TNF-Alfa Tahlil Prosedürü	49
3.7 İmmünohistokimya Testi.....	49
3.7.1 TNF-alfa için immünboyamanın değerlendirilmesi	51
3.8 İstatistiksel Analiz	52
4. BULGULAR.....	53
4.1 Gastroduodenal Hastalarda <i>H. pylori</i> 'nin Tespiti.....	54

4.1.1 Bakteriolojik ve histolojik çalışma	54
4.2 Yaş Gruplarına göre Hastalarda <i>H. pylori</i> Enfeksiyonu Görülme Sıklığı.....	55
4.3 <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunun Cinsiyete göre Dağılımı	55
4.4 <i>H. pylori</i> için Virülans Genlerinin Moleküler Tespiti.....	56
4.5 <i>H. pylori</i> Enfeksiyonu ve Sitokin Üretimi	58
4.5.1 <i>H. pylori</i> ile enfekte olmuş ve enfekte olmamış hastalarda IHC ve ELISA tekniki ile IL-6, IL-10 ve TNF α proteinlerinin üretimi.....	58
4.6 <i>H. pylori</i> Tedavisi.....	60
5. TARTIŞMA.....	63
5.1.1 <i>H. pylori</i> Enfeksiyonunun Yaş, Cinsiyet ve Semptomlarla İlişkisi.....	63
5.1.2 Farklı yaşlardaki enfekte hastalarda serum anti- <i>H. pylori</i> IgG antikor titresi	64
5.1.3 Biyopsi örneklerinden <i>H. pylori</i> 'nin moleküler tanı yöntemiyle doğrudan tespiti	66
5.1.4 <i>H. pylori</i> enfeksiyonunun patojenik ve immün mekanizmasında sitokinlerin ve inflamatuvar hücrelerin rolü	69
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	75
ÖZGEÇMİŞ.....	105

SİMGELER DİZİNİ

bp	Baz çifti
β	Beta
g	Gram
kb	Kilobaz
kg	Kilogram
L	Litre
μ g	Mikrogram
μ L	Mikrolitre
mL	Mililitre
mm	Milimetre
nm	Nanometre
$^{\circ}$ C	Santigrat derece
%	Yüzde

KISALTMALAR DİZİNİ

ACME	Arginin katabolik mobil eleman
DNA	Deoksiribonükleik asit
CD54	Farklılaşma kümesi 54
IHC	İmmünohistokimyasal
IL-6	İnterlökin 6
CLSI	Klinik ve laboratuvar standartları enstitüsü
COVID-19	Koronavirüs hastalığı 2019
MALT	Mukoza ile ilişkili lenfoid doku
PMN's	Polimorfonükleer lökositler
TNF	Tümör nekroz faktörü alfa



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1	Cag tip IV sekresyon sisteminin şematik gösterimi (Kusters <i>et al.</i> 2006)	12
Şekil 2.2	VacA proteini hücresel süreçleri (Kusters <i>et al.</i> 2006)	13
Şekil 2.3	<i>H. pylori</i> 'nin doğuştan gelen immün tanınması (Algood and Cover 2006)....	16
Şekil 2.4	<i>H. pylori</i> enfeksiyonu sırasında CD4+ T hücrelerinin düzenlenmesi (Suarez <i>et al.</i> 2006).....	19
Şekil 3.1	SiZer DNA işaretleyicileri (intron).....	45
Şekil 4.1	Gastroduodenal hastalığı olan hastalarda <i>H. pylori</i> enfeksiyonunun prevalansı.....	54
Şekil 4.2	Yaş gruplarına göre hastalarda <i>H. pylori</i> enfeksiyonu görülme sıklığı.....	55
Şekil 4.3	<i>H. pylori</i> hastalarında cinsiyet dağılımı.....	56
Şekil 4.4	PCR ürünü agaroz jel elektroforezi: bant büyüklüğü 584 bp	56
Şekil 4.5	PCR ürünü agaroz jel elektroforezi: bant büyüklüğü 645 bp	57
Şekil 4.6	Antral gastritli hastalarda IL-6 ve TNF-a proteinlerinin immünohistokimyasal boyanması	60
Şekil 4.7	Antibiyotik direncinin sonucu	61
Şekil 4.8	<i>H. pylori</i> 'ye karşı daha yüksek düzeyde direnç gösteren antibiyotiklerin yüzdeleri	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1	Çalışmada kullanılan cihazlar	36
Çizelge 3.2	Çalışmada kullanılan kimyasallar	37
Çizelge 3.3	Antibiyotik bölge çapına göre sınıflandırma standartları	38
Çizelge 3.4	Çalışmada kullanılan ticari kitler	39
Çizelge 3.5	Bakteriyolojik ortam	39
Çizelge 3.6	McFarland'ın standart çözeltisi	40
Çizelge 3.7	Hematoksilen lekesi bileşenleri	40
Çizelge 3.8	G-spin DNA ekstraksiyon kiti içeriği	43
Çizelge 3.9	ureB geninin spesifik primeri	46
Çizelge 3.10	Maxime PCR PreMix kitinin (i-Taq) Bileşenleri	46
Çizelge 3.11	Teşhis geni için spesifik etkileşimin karışımı	47
Çizelge 3.12	Optimum tespit koşulu	47
Çizelge 3.13	dupA geninin spesifik primer	47
Çizelge 3.14	Skorlama sistemi	51
Çizelge 4.1	Gastroduodenal hastalığı olan hastalarda <i>H. pylori</i> enfeksiyonunun prevalansı	54
Çizelge 4.2	Virulans genleri için moleküler analizlerin sonuçları	57
Çizelge 4.3	<i>H. pylori</i> ile enfekte olmuş hastalarda ve IHC ile enfekte olmamış deneklerde sitokinlerin (IL-6, IL-8 ve TNF- α) ekspresyonu	59
Çizelge 4.4	<i>H. pylori</i> ile enfekte hastalarda ve ELISA yöntemiyle enfekte olmamış deneklerde sitokinlerin (IL-6, IL-10 ve TNF- α) serum düzeyi	59
Çizelge 4.5	Antibiyotik direncinin sonucu	61

1. GİRİŞ

Helicobacter pylori insan midesinde bulunan gram-negatif, spiral bir bakteridir ve dünya nüfusunun yaklaşık %50'sini enfekte eden en başarılı insan patojenlerinden biridir (Dunn *et al.* 1997). Warren and Marshall (1983) kronik aktif gastrit ve peptik ülseri olan hastaların mukozal örneklerinden *Helicobacter pylori*'yi izole etmeden önce, hastalık strese, diyet faktörlerine ve mide asidi gibi sindirim salgılarının zararlı etkilerine bağlanıyordu.

H. pylori enfeksiyonu peptik ülser, gastrik adenokarsinom, Mukoza İlişkili Lenfoid Doku (MALT) lenfoması ve diğer gastrointestinal olmayan hastalıkların gelişimi için önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmıştır (Suerbaum and Michetti 2002, Kusters *et al.* 2006). *H. pylori*, bağışıklık yanıtından kaçınmasında rol oynayan ve konakta kalıcı olmasına yardımcı olan bir dizi virülans faktörüne sahiptir. *H. pylori* suşları geleneksel olarak Vakumlu sitotoksin (VacA) ve Sitotoksisite ile ilişkili gen patojenite adası (PAI) virülans faktörleri temelinde iki tip olarak sınıflandırılmıştır (Xiang *et al.* 1995). Tip 1 suşlar vakumlu sitotoksinin aktif bir formunu salgılar ve cagPAI'ye sahipken, tip 2 suşlar VacA'nın inaktif bir formunu salgılar ve cagPAI'ye sahip değildir (Odenbreit *et al.* 2000, Bourzac and Guillemin 2005).

H. pylori'nin bu sınıflandırması klinik sunum ile de ilişkilendirilmiştir. Tip 1 suşlar tipik olarak peptik ülser veya mide kanseri gibi ciddi patolojisi olan kişilerden izole edilirken, tip 2 suşlar asemptomatik gastriti olan bireylerden izole edilme eğilimindedir (Telford *et al.* 1997). *H. pylori* enfeksiyonu insanlarda güçlü bir humoral ve hücreli bağışıklık tepkisine neden olur, ancak organizma mide mukozasından nadiren elimine edilir ve enfeksiyon tedavi edilmediğinde ömür boyu devam eder (Blaser and Atherton 2004). *H. pylori* insan midesinde kolonize olur ve genellikle ya mide mukozasında hücre dışı bir patojen olarak ya da mide epitel hücrelerine sıkıca bağlı olarak bulunur. *H. pylori* tarafından kolonizasyon, enfeksiyon bölgesine monositleri, makrofajları, nötrofilleri ve diğer lenfositleri toplayan bir dizi enflamatuar aracı maddenin (örn. interlökin (IL)-8, IL-

1 β , IL-6, interferon (IFN)- γ , tümör nekroz faktörü (TNF)- α ve siklooksijenaz (COX-2)) salınmasına neden olur (Robinson *et al.* 2007).

H. pylori'ye karşı edinilen bağışıklık yanıtı hem Th1 hem de Th2 hücrelerini içerir, sitokin profilleri Th1 baskınlığını gösterir ve çalışmalar artık bu Th1 baskın yanıtın işlevsiz olduğunu ve kalıcılıkta önemli bir rolü olabileceğini düşündürmektedir. Kandulski *et al.* (2008) *H. pylori* kaynaklı gastritin, bakteriyel kolonizasyon derecesi ve mukozal TGF- β 1 ekspresyonu ile korelasyon gösteren doğal olarak oluşan FOXP3+ Treg hücrelerinin toplanması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. İndüklenen kronik bağışıklık yanıtı, yapışma yerlerinin daha iyi kullanılabilirliğini sağlayarak bakteriler için bir kolonizasyon avantajı sağlayabilir. Bunun bir örneği, *H. pylori* tarafından reseptör olarak kullanılan IFN- γ ve IL-8 tarafından indüklenen sınıf II majör histokompatibilite kompleksi (MHC) ve CD54'te ortaya çıkan artıştır (Fan *et al.* 1998, Beswick *et al.* 2005a, Beswick *et al.* 2005b).

Pathak *et al.* (2006) *H. pylori* enfeksiyonunun kemokin ve sitokinlerin lokal üretimi ile ilişkili olduğunu, bunlardan IL-8'in *H. pylori* pozitif gastritte gastrik ülser sınırında aşırı eksprese olduğunu bulmuştur. Monositik soydan hücreler IL-6'nın ana kaynaklarıdır ve lamina propriadaki mononükleer hücre infiltrasyonu *H. pylori* kaynaklı kronik enfeksiyonun karakteristiğidir ve makrofajlardan IL-6 salınımını sağlar.

Bu organizmanın neden olduğu enfeksiyonların etkili tedavisi ve yönetimi için doğru tanı esastır. Sonuç olarak, *H. pylori*'nin doğrudan mide biyopsilerinden tespit edilmesi ve duyarlılık testi için kültür sorunlarının üstesinden gelmek için çeşitli polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) tabanlı yöntemler tanımlanmıştır. Gerçek zamanlı PCR ve hibridizasyon prob testleri (Chisholm *et al.* 2001, Matsumura *et al.* 2001, Oleastro *et al.* 2003, Lawson *et al.* 2005), *H. pylori* kültürünün başarısız olduğu durumlarda gelişmiş tespit oranları ve antibiyotik duyarlılığı bilgisi sağlamada değerlidir. Parafin kesitlerde *H. pylori*'nin saptanması için (modifiye) Giemsa, Warthin-Starry gibi çeşitli boyama yöntemleri kullanılabilir. Bu boyama yöntemlerinden herhangi biri *H. pylori* için spesifik olmamakla birlikte, her biri rutin tanı için yeterlidir. Parafin kesitlerde *H. pylori*'nin spesifik ve hassas tespiti için immünohistokimya veya *H. pylori*'nin 16S rRNA bölgesi ve 23S rRNA geni için bir PCR kullanılabilir (Scholte *et al.* 1997, Chisholm *et al.* 2001).

Enfekte hastalarda inflamatuvar sitokinler ve immün reaktif moleküller ile *H. pylori* patogenezi arasındaki ilişkiyi belirlemek için, *H. pylori* enfeksiyonu olduğu teşhis edildikten sonra, Antral mukozada *H. pylori* enfeksiyonunun immüno-patojenezini incelenmesi gerekmektedir. Bu sebeple; *H. pylori* ile enfekte hastalarda CD54 mukozal ekspresyonunu tespit etmek ve enfekte olmayan hastalarla karşılaştırmak için immünohistokimyasal çalışmaların yapılması, Th1 düzenleyici sitokin alfa TNF ve Th2 sitokinini (IL-10, IL-6) tespit etmek için immünohistokimyasal çalışmanın yanı sıra, Alfa TNF ve IL-10, IL 6 monoklonal antikoları ile boyanan mide mukozasına infiltre olan inflamatuvar hücrelerin tespiti, gastrik immün yanıtın Th1 düzenleyici sitokin (alfa-TNF) ve Th2 sitokin (IL-10, IL-6) polarizasyonunun büyük ölçüde CD54 ekspresyonuna bağlı olması olasılığının incelenmesi, enfekte ve enfekte olmayan hastalarda serum Alfa TNF ve IL-10, IL-6 sitokinlerinin seviyesini Enzimle Güçlendirilmiş Hassasiyet İmmüno Tahlil (EASIA) testi kullanılarak tespit edilmesi ve biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin moleküler analizlerle saptanması amaçlanmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 *Helicobacter pylori*

Gastrik spiral şekilli bakteriler hayvanlarda ve insanlarda 100 yılı aşkın bir süredir gözlemlenmektedir. Başlangıçta, memeli gastrointestinal sisteminden izole edilen birçok spiral gram-negatif bakteri kampilobakterler olarak gruplandırılmıştır. Bu sınıflandırma benzer mikroskopik ve ultra yapısal morfolojilere, ortak mikroaerobik büyüme gereksinimlerine ve benzer ekolojik nişlere dayanıyordu. Ancak, 16S rRNA genlerinin kısmi dizilimi *Helicobacter pylori*'nin farklı bir cinse ait olduğuna dair kanıt sağlamıştır (Romaniuk *et al.* 1987). *Helicobacter* cinsi, enzimatik aktivitelerin, yağ asidi profillerinin, büyüme özelliklerinin ve nükleik asit hibridizasyon profillerinin, 16S rRNA (ribozomal RNA) dizi analizinin ve son olarak 23SrRNA analizinin kapsamlı analizinin ardından diğer gram-negatif kıvrımlı çubuklardan (örneğin *Campylobacter*) resmi olarak ayırt edilmiştir, *Helicobacter*'ler mikroaerobiktir ve solunum metabolik yeteneklerine sahiptir. Bu organizmaların başarılı bir şekilde yetiştirilmesi için 37°C'de tutulan, düşük oksijen (%5 ile 10) ve yüksek karbondioksit (%5 ile 12) seviyelerine sahip nemli bir atmosfer gerekmektedir (Dewhirst *et al.* 2005).

2.2 Doğal Yaşam Alanları

H. pylori insan midesinin kardial, korpus ve antrumunda (distal kısım) kolonize olur. Gastrik helikobakterler ayrıca proksimal ince bağırsak (duodenum), mide suyu (kusmuk), tükürük ve dışkıdaki gastrik metaplazi alanlarında da geçici olarak bulunabilir. Gastrik helikobakterler öncelikle midede epitele bitişik mukus jel tabakasının içinde veya altında yaşar ve nadiren kan dolaşımını istila eder. Son veriler *H. pylori*'nin zaman zaman hücre içinde de bulunabileceğini göstermektedir (Semino-Mora *et al.* 2003, Oh *et al.* 2005).

H. pylori'nin rezervuarı esasen insan midesidir ve *H. pylori* insanların gastrik helikobakteri olarak kabul edilebilir (Megraud and Broutet 2000). Bununla birlikte, *H. pylori* suşları zaman zaman hayvanlardan (kediler ve insan olmayan primatlar) da izole

edilmiştir; bu hayvanlar büyük olasılıkla insanlarla yakın yaşamaları ya da kediler söz konusu olduğunda bir vivaryumda bakılırken yanlışlıkla *H. pylori*'ye maruz kalmaları nedeniyle insanlar tarafından enfekte edilmiştir (Dubois *et al.* 1994, Handt *et al.* 1994).

H. pylori'nin bir insanın midesinden başka bir insanın midesine bulaşma yolu kesin olarak tanımlanmamıştır. Hem oral-oral hem de fekal-oral bulaşma için kanıtlar vardır. Fekal-oral bulaşma, (i) *H. pylori*'nin bağırsak geçişinden sağ çıkması gerektiğini (Dore *et al.* 2000), bunun da esas olarak kısa geçiş süresi (ishal) durumunda (Parsonnet *et al.* 1999), (ii) fekal hijyenin optimal olmadığını ve (iii) su kaynağının uygun şekilde arıtılmadığını ifade eder. Bu koşullar genellikle gelişmekte olan ülkelerde mevcuttur ve fekal-oral bulaşmanın bu bağlamda meydana gelmesini muhtemel kılmaktadır. Oral-ağız yoluyla bulaşmanın mantığı, *H. pylori*'nin kusulan mide suyunda bulunmasına ve böylece *H. pylori*'nin ağız boşluğunda geçici olarak kolonize olmasına dayanmaktadır. *H. pylori*'nin dental plak ve tükürükten izole edildiğine dair raporlar mevcuttur (Parsonnet *et al.* 1999, Goosen *et al.* 2002, Kignel *et al.* 2005). Sheu *et al.* (2007) ise dental hastalık varlığının *H. pylori* nüksüne zemin hazırlayabileceği sonucuna varmıştır. Yapılan çalışmalar ağız boşluğunun *H. pylori* için bir niş görevi görebileceğini göstermiştir (Gebara *et al.* 2004, Anand *et al.* 2006). Dahası, yakın zamanda yapılan 6 yıllık prospektif bir çalışma, diş hekimlerinin *H. pylori* ile enfekte olma riskinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (Matsuda and Morizane 2005). Bir başka olasılık da kusmuk yoluyla bulaşmadır çünkü *H. pylori* bu biyolojik ortamda saatlerce canlı kalabilmektedir (Parsonnet *et al.* 1999). Her durumda, oral-oral bulaşma yolu muhtemelen fekal-oral yoldan daha az etkilidir. Bu gerçek, gelişmiş ülkelerde *H. pylori* prevalansının daha düşük olmasına katkıda bulunmaktadır. Bulaşma en sık çocukluk döneminde aile içi ortamlarda görülmekte ve vakaların en fazla üçte ikisini oluşturmaktadır; ancak vakaların üçte birinde çocuklar enfekte olurken ebeveynleri enfekte olmamaktadır (Dominici *et al.* 1999).

2.3 Klinik Önem

H. pylori, peptik ülser hastalığının ana nedeni ve mide kanseri için önemli bir risk faktörüdür (Suerbaum and Michetti 2002). Warren and Marshall (1983) *H. pylori*'nin

peptik ülser hastalığı ile ilişkisini ilk kez ortaya koymuşlardır. Şubat 1994'te, ABD Ulusal Sağlık Enstitüleri Konsensüs Geliştirme Konferansı, *H. pylori* enfeksiyonunun peptik ülser hastalığının başlıca nedeni olduğu sonucuna varmış ve *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkili olduğu doğrulanmış peptik ülser hastalığı olan tüm hastaların anti-mikrobiyal tedavi alması gerektiğini belirtmiştir (National Institutes of Health Consensus Conference 1994). Haziran 1994'te, Dünya Sağlık Örgütü'nün Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı Çalışma Grubu, *H. pylori*'yi grup I veya kesin insan kanserojeni olarak tanımlamıştır. Dünya nüfusunun yaklaşık %50'sinin *H. pylori* ile enfekte olduğu tahmin edilmektedir. Ancak, gelişmekte olan ve gelişmiş ülkeler arasında *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı açısından büyük farklar bulunmaktadır (Whary *et al.* 2005). Gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon yaşamın çok erken dönemlerinde ortaya çıkmakta ve çocukların çoğu 10 yaşına kadar enfekte olmaktadır. Prevalans, gelişmekte olan ülkelerde tüm yetişkin yaş grupları için %80 ile 90 aralığında kalmaktadır. Gelişmiş ülkelerde, çocuklarda düşük enfeksiyon yüzdesinden ileri yaş gruplarında %40 ile 50 enfeksiyon oranlarına kadar prevalansta pro- gresif bir artış gözlenmektedir. Başarılı eradikasyondan sonra *H. pylori* enfeksiyonunun nüksetmesi gelişmiş ülkelerde nadirdir, ancak gelişmekte olan ülkelerde daha sıktır (Gisbert 2005).

Gelişmiş ülkelerdeki nüks vakalarının çoğunun nüksetmeye (aynı suşla enfeksiyon) bağlı olduğu düşünülmektedir; gelişmekte olan ülkelerde ise nüks vakalarının çoğunun reinfeksiyona (yeni bir suşla enfeksiyon) bağlı olduğu düşünülmektedir (Niv and Hazazi 2008). *H. pylori* ile enfekte olan bireylerde enfeksiyonu takip eden 2 hafta içinde akut gastrit (karın ağrısı, bulantı ve kusma) gelişebilir. *H. pylori*, enfekte kişilerin çoğunda farklı tiplerde kronik gastrit ile temsil edilen kronik bir enfeksiyon oluşturur. Kronik aktif gastritte belirgin mukozal inflamasyon genellikle antrumda görülür (antral baskın gastrit) ve hiperasidite ve duodenal ülser hastalığına zemin hazırlar. *H. pylori* ile enfekte birçok hastada nonülser dispepsi vardır (Moayyedi *et al.* 2003). *H. pylori* enfeksiyonu duodenal ve gastrik ülserlerin çoğu ile ilişkilendirilmiştir (Anand and Graham 1999). *H. pylori* ile ilişkili multifokal atrofik pangastrit veya atrofik korpus baskın gastrit uzun süreli enfeksiyondan kaynaklanır ve glandüler atrofi, intestinal metaplazi ve seyrek inflamatuvar hücreler ile karakterizedir, patofizyolojik özellikler hastada düşük asidite ve artmış mide karsinomu riski olarak kendini gösterir (Hansson *et al.* 1996, El-Omar *et al.* 1997). *H.*

pylori enfeksiyonu atrofik gastrit, gastrik ülser hastalığı (Sung *et al.* 1995), gastrik adenokarsinom (Parsonnet *et al.* 1999) ve gastrik MALT lenfoma (Farinha and Gascoyne 2005) gelişimi için bağımsız bir risk faktörüdür. Nadir görülen bir mide kanseri olan gastrik MALT lenfoma, *H. pylori* enfeksiyonundan kaynaklanır. Gerçekten de antibiyotiklerle tedavi edilebilen tek kanserdir (Wundisch *et al.* 2005). Ancak, genetik translokasyon içeren ilerlemiş MALT lenfoma vakalarının antibiyotik tedavisine yanıt vermediği görülmektedir (Alpen *et al.* 2000).

2.4 Bakteriyel Virülans Faktörleri, Kolonizasyon ve Enfeksiyon Açısından Önemi

H. pylori'nin mide mukozasında kolonize olabilmesi ve enfeksiyon oluşturabilmesi için en az dört temel özelliğe sahip olması gerekir: üreaz, flagella, belirli bir şekil ve adezyonlar. *H. pylori* mide epitelinin apikal yüzeyinde kolonize olur, ancak yapışma ve patogenezin kesin mekanizmaları hala açıklanamamıştır. Yapışan suşlar mide mukozasında hayatta kalabilir, yüksek yoğunluklarda kolonileşebilir ve yeniden kolonileşebilirken, yapışmayan suşlar kolaylıkla uzaklaştırılır (Hayashi *et al.* 1998). Bu nedenle, *H. pylori*'nin varlığını sürdürmesi ve hastalığa neden olması açısından yapışma çok önemlidir. Uyum, kolonizasyona katkıda bulunmanın yanı sıra sinyal iletimi, NF- κ B'nin aktivasyonu ve ardından enfeksiyon sırasındaki inflamatuvar yanıtta önemli olan interlökin-8'in salgılanmasıyla sonuçlanır (Beswick *et al.* 2006a).

2.4.1 Üreaz

H. pylori'nin ana virülans faktörü, tüm suşlar tarafından ifade edilen üreazdır. Üreaz, yaklaşık 24 kDa olan α ve yaklaşık 68 kDa olan β olmak üzere iki alt birimden oluşur. *H. pylori*, bakterinin toplam protein içeriğinin %5 ile %10'unu temsil eden büyük miktarda üreaz üretir. Bu enzim bakterilerin hayatta kalması ve patogenezi için gereklidir. Belki de üreazın oynadığı en önemli rol, üreyi CO₂ ve NH₃'e hidrolize etmektir. Bu durum, bakterilerin midede karşılaşılabileceği asidik koşullardan korunmasına yardımcı olur ve böylece *H. pylori*'nin hayatta kalmasını ve çoğalmasını sağlar (Eaton *et al.* 1991). Üreaz,

H. pylori kolonizasyonu için çok önemlidir. Birçok hayvan çalışmasında üreaz negatif suşların kolonileşemediği tespit edilmiştir (Karita *et al.* 1995).

Üreaz negatif suşların kolonileşememesinin, başlangıçta, nişlerini tamponlayamamalarından kaynaklandığı varsayılmıştır. Ancak hiposidik koşullar altında yapılan benzer çalışmalar da aynı sonuçlara yol açmış; *H. pylori*'nin üreaz negatif mutantları bir hayvan modelinde kolonileşememiştir. Bu gözlemler, üreazın enzimatik fonksiyonunun ötesinde bir rol oynadığını ortaya koymuştur. Üreazın büyük bir kısmı hücre içinde bulunmasına rağmen, bir kısmı da bakteriyel yüzeyde mevcuttur (Phadnis *et al.* 1996). *H. pylori* yüzeyiyle ilişkili üreaz, bakteriler için bir adezin görevi görebilir. Bu durum, hem gastrik epitel hücrelerinden hem de makrofajlardan inflamatuvar sitokinlerin üretimini ve bazı hücrelerin apoptozunu (Fan *et al.* 2000) indükler (Takahashi *et al.* 2004). Apoptozun indüklenmesi, sınıf II MHC'ye bağlanmanın bir sonucu olarak ortaya çıkabilir (Fan *et al.* 1998). Diğer çalışmalar ayrıca üreaz β alt ünitesinin, epitelyumun luminal tarafında polarize biçimde eksprese edilen CD74'e bağlandığını (Barrera *et al.* 2005) ve bunu yaparken gastrik epitelyal IL-8 salınımını uyardığını öne sürmektedir (Beswick *et al.* 2005b, Beswick *et al.* 2006a).

2.4.2 Müsin'e bağlanma

H. pylori, epitel hücrelerini kaplayan müsin tabakası ile aktif veya pasif bir süreçle temasa geçer ve *H. pylori*, vücutta bulunan üre ve bikarbonatın en yüksek konsantrasyonlara (kemo-çekim) sahip olduğu bölgelere doğru aktif olarak hareket eder (Yoshiyama *et al.* 1999). Müsin ile temas, müsin ve *H. pylori* arasında suşa bağlı bir etkileşime (adherans) neden olur. Müsin içindeki sialik asite bağlılık çoğu *H. pylori* suşunda ortak bir özellik gibi görünmektedir. *H. pylori*'nin sialik asit üzerinde en az altı adezini vardır ve bunlardan üç gen (hpaA, nap ve sapA) tanımlanmıştır (Wadstrom *et al.* 1996). Başka bir *H. pylori* yapışkanı, müsin içindeki Lewis B (LeB) antijenine spesifik olarak bağlanan BabA'dır (Van De Bovenkamp *et al.* 2003). *H. pylori*'nin insan tükürük müsinine yapıştığı gösterildiğinden, birincil kolonizasyon ağız boşluğunda bile gerçekleşebilir (Prakobphol *et al.* 1999).

2.4.3 Hareketlilik ve şekil

H. pylori'nin hareketliliği, mûsin tabakasına nüfuz etmede önemli bir faktördür. *H. pylori*, bakterilerin belirli bir hedefe doğru hareket etmesini sağlayan, iki ile altı arası kılıflı kamçıdan oluşan tek kutuplu bir demete sahiptir. Flagella esas olarak flagellinlerden FlaA ve FlaB'den oluşur. Bu flagellinleri kodlayan her iki gen de *H. pylori*'nin tam hareketliliği için gereklidir (Eaton *et al.* 1992). Flagellanın kılıflanmasının onları midedeki asidik ortamdan koruduğuna inanılmaktadır (Delany *et al.* 2001). Mûsin tabakası düzenli bir polisakkarit ağından oluşur. Hareketlilik kadar önemli bir faktör de *H. pylori*'nin şeklidir. *H. pylori*'nin kavisli s şekli, bakterilerin mûsin ağını delmesini sağlar (Slomiany *et al.* 1992).

2.4.4 Adezinler

H. pylori, epitel hücrelerinin yüzeyine ve bölgelerine ve gastrik epitel hücrelerinin bazal membranına yapışma yeteneğine sahiptir (Israel and Peek 2006). İyi bilinen birkaç adezin BabA, SabA ve AlpAB'dir. BabA ve SabA sırasıyla fukosile edilmiş ve sialile edilmiş kan grubu antijenlerine bağlanır. *H. pylori* için açıkça çok sayıda adezin ve reseptör vardır, çünkü ABD'deki suşların yalnızca yarısında saptanabilir (Hennig *et al.* 2004). Bir adezin olarak BabA kullanılarak *H. pylori*'nin bağlanması, konakçı hücrelerden sinyalleme veya bağışıklık tepkilerini indüklemeyken, SabA'nın, nötrofillerin aktivasyonu ve sialile edilmiş nötrofil reseptörlerine bağlanarak ortaya çıkan oksidatif patlama için gerekli olduğu görülmektedir (Unemo *et al.* 2005). *H. pylori* üreazı ayrıca bakteriyel bir yapıştırıcı görevi de görebilir (Fan *et al.* 2000).

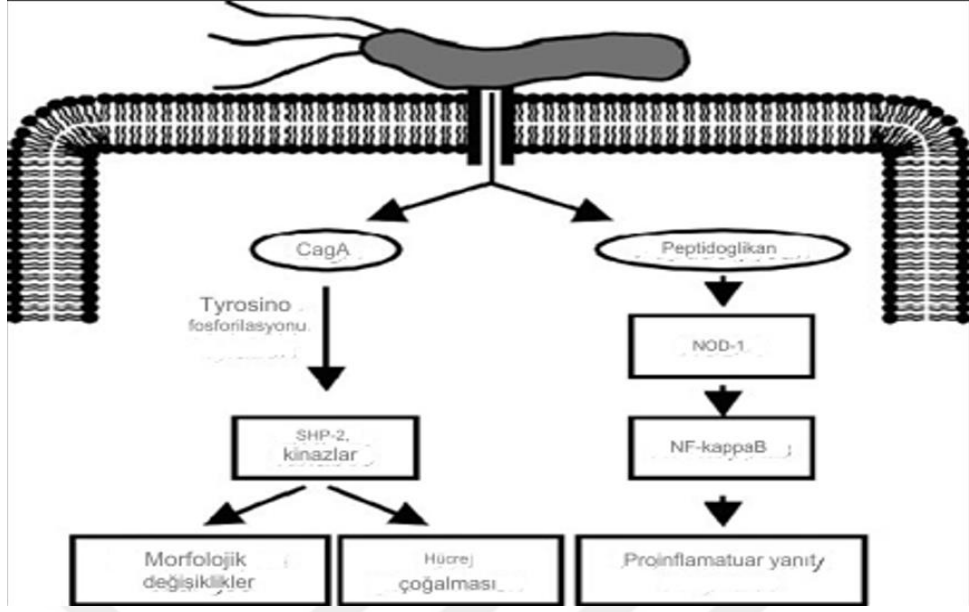
H. pylori'nin, diğer patojenlere benzer şekilde, mide epiteline bağlanmak için bir reseptör olarak çürüme hızlandırıcı faktörü (CD55) kullandığını göstermiştir. Çok sayıda *H. pylori* adezini tanımlandığından, bakteriyel yapışmanın, konakçı hücre reseptörüne bağlı olarak birden fazla sonucu olan karmaşık bir mekanizma olduğu açıktır (O'Brien *et al.* 2006).

2.4.5 Sitotoksosite ile ilişkili patojenite adası

Kolonizasyon ve bağlanmanın ardından, belirli *H. pylori* suşları tarafından ifade edilen çeşitli virülans faktörlerinin hastalığı teşvik ettiği görülmektedir. Örneğin *H. pylori* suşları tarafından CagA ve VacA genlerinin ekspresyonu hastalıkla oldukça ilişkilidir (Leunk 1991). Bu CagA genini eksprese eden suşlar aynı zamanda peptik ülserle de ilişkilendirilmiştir ve bu suşlarla enfekte olan hastalarda mide kanseri riski yüksektir (Tee *et al.* 1995). cagA geni, patojenite adası (PAI) olarak adlandırılan bir grup gen için bir işaretleyici olarak kabul edilir. CagPAI'nin, CagA'nın ve muhtemelen peptidoglikanın epitel hücrelerine verilmesine izin veren tip IV salgı sistemini kodladığı bilinmektedir (Şekil 2.1). CagA, Src ailesi kinazları tarafından fosforile edilen tirozindir (Selbach *et al.* 2003). Fosforile edilmiş CagA, bir protein tirozin fosfataz, SRC-homoloji 2 alanı içeren protein tirozin fosfataz 2 (SHP2) ile etkileşime girerek onun fosfataz aktivitesini indükler. SHP-2'nin aktivasyonu üzerine, Ras/Raf yoluyla MAP kinaz/MEK/ERK (hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz) 1/2 sinyalleme gibi konakçı hücre sinyalleşmesini indükleyebilir. Bu yoldaki düzensizlik, artan hücre çoğalmasından ve mide epitel hücrelerinin hareket etmesinden (hücre yayılması) ve hücre uzamasından sorumludur (Higashi *et al.* 2004). CagA'nın büyüme faktörü reseptör bağlayıcı protein-2 (Grb-2) ve fosfolipaz C gama (PLC- γ) gibi diğer sinyal molekülleri ile etkileşimi, mide epitel hücrelerinde benzer fenotipleri indükleyebilir (Mimuro *et al.* 2002). Fosforile CagA, negatif geri besleme döngüsünde Src kinazların aktivitesini inhibe eder (Selbach *et al.* 2003). Dolayısıyla Src kinaz aktivitesinin inhibisyonu aynı zamanda aktin bağlayıcı protein kortaktin de dahil olmak üzere bir dizi konakçı hücre proteininin fosforilasyonu ile sonuçlanır. ERK1/2 sinyallemesine paralel olarak NF- κ B de aktive edilebilir ve proinflamatuar sitokinlerin yukarı regülasyonu da ortaya çıkabilir. Başlangıçta CagA enjeksiyonunun proinflamatuar sitokinlerin üretiminden sorumlu olmadığı, ancak cagPAI'nin diğer proteinlerinin önemli bir rol oynadığı düşünülürken, son zamanlarda konakçı mide epitel hücrelerine CagA enjeksiyonunun indükleyebildiği gösterilmiştir (Brandt *et al.* 2005).

Yapılan çalışmalar, cagA'nın mide epitel hücrelerine transfeksiyonunun IL-8 üretimini indüklediğini göstermiştir (Kim *et al.* 2006). Ras/MEK/ERK yolunun aktivasyonu

CagA'nın Grb2 ile etkileşiminin ardından gerçekleşir. CagA, konakçı hücrelerdeki önemli sinyal araçları ile etkileşime girdiğinden, hücre morfolojisi, yapışma ve cirodaki değişikliklerden sorumlu olduğu düşünülmektedir. CagA ayrıca bakteriyel bağlanma bölgesine bağlantısal yapışma molekülünü (JAM) indükleyerek epitel bariyerinin bozulmasına ve epitel hücre morfolojisinde displastik değişikliklere neden olur. Bu etki fosforilasyondan bağımsızdır (Amieva *et al.* 2003). *H. pylori* peptidoglikanının cagPAI tarafından kodlanan tip IV sekresyon sistemi aracılığıyla verilmesi, peptidoglikanın hücre içi patojen tanıma molekülü olan Nod1 (nükleotid bağlayıcı oligomerizasyon alanı-1) tarafından hücre içi bağlanmasıyla sonuçlanır ve bu aynı zamanda peptidoglikanın indüksiyonuna da katkıda bulunabilir (Viala *et al.* 2004). *H. pylori* Tip IV sekresyon sistemi (T4SS), bağımsız bir CagA translokasyon mekanizmasıyla mide epitel hücrelerinde Rho familyası GTPazları Rac1 ve Cdc42'yi uyarır (Churin *et al.* 2001). Böylece, Rac1 ve Cdc42, p21 ile aktifleştirilen kinazı (PAK1) aktive eden enfeksiyon bölgelerinde ve hücre iskeletinin yeniden düzenlenmelerinde membrana alınır (Guillemin *et al.* 2002). T4SS ayrıca Ras fosforilasyonu yoluyla ERK1/2 yolunu düzenleyen epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) olan reseptör tirozin kinazı aktive edebilir (Keates *et al.* 2001). Ayrıca CagA, JAK-STAT sinyal yolunu baskılayarak B hücresi proliferasyonunu inhibe edebilir. Dolayısıyla CagA, fosforilasyondan bağımsız bir yolda *H. pylori*'ye karşı immün yanıtı azaltabilir ve p53'e bağımlı apoptoz yolunu bozarak MALT lenfoma gelişiminde rol oynayabilir (Umehara *et al.* 2003). CagA bir virülans olarak kullanılabilir ancak nötrofil kemotaksisi ile bir ilişkisi yoktur (Akyön and Hascelik 1999).

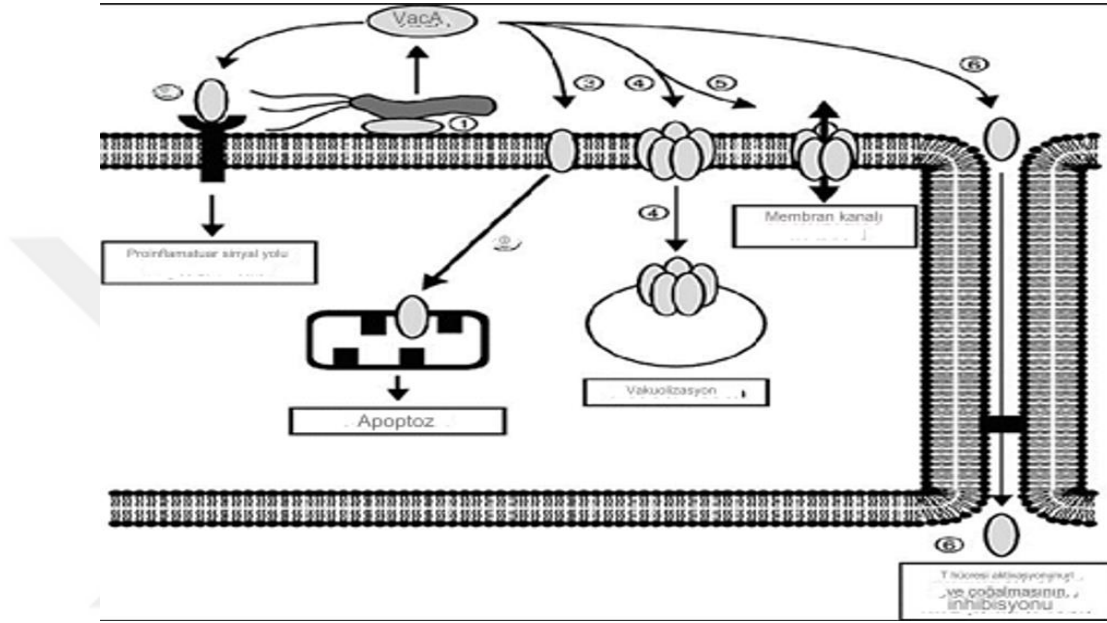


Şekil 2.1 Cag tip IV sekresyon sisteminin şematik gösterimi (Kusters *et al.* 2006)

2.4.6 Vakuolleştirici sitotoksin

Vakuolleştirici toksin veya VacA'nın, *H. pylori*'nin mide boşluğunda kalıcılığına katkıda bulunabilecek çeşitli spesifik etkileri vardır. Epitelyal hücre zarlarında gözenekler oluşturarak anyonların ve ürenin çıkışına izin verir (Tummuru *et al.* 1995), VacA ayrıca epitelyal sıkı bağlantıların gevşemesine neden olur ve potansiyel olarak besinlerin *H. pylori*'nin mide lümen boşluğuna mukozal bariyeri geçmesini sağlar (Şekil 2.2) (Yamazaki *et al.* 2003). Son zamanlarda yapılan *in vitro* çalışmalar, VacA'nın spesifik immün baskılama yoluyla *H. pylori*'nin kalıcılığına yardımcı olabileceğini düşündürmektedir. VacA, makrofajlarda fagozom olgunlaşmasını bloke eder (Zheng and Jones 2003), VacA ayrıca mitokondriyal membran potansiyelini bozabilir ve hücre ATP konsantrasyonlarını etkileyebilir, bu da hücre döngüsünün ilerlemesini bozabilir ve apoptoza yol açabilir (Cover *et al.* 2003). VacA'nın patogeneze katkıda bulunmasının bir diğer önemli yolu, antijenlerin B hücreleri tarafından işlenmesini ve bunların CD4+ T hücrelerine sunulmasını (Molinari *et al.* 1998) ve aynı zamanda T hücresi aktivasyonunu, proliferasyonunu inhibe etmesi ve Th1 etkilerini aşağı regüle etmesidir (Gebert *et al.* 2003). VacA, T hücreleriyle karıştırıldığında NFAT'ı (Boncristiano *et al.* 2003, Gebert *et al.* 2003, Sundrud *et al.* 2004), IL-2 üretimini ve T hücresi proliferasyonu için gerekli olan IL-2 reseptörlerinin yüzey ekspresyonunu baskılar (Cover and Blanke 2005). T

hücreyi aktivasyonunun çoklu sinyal yolları da *H. pylori*'nin bağışıklık tepkilerinden kaçmak için kullanabileceği mekanizmalardan biri olan VacA maruziyetinden etkilenir. Mide epitel hücrelerinde VacA, p38 ve ERK-1/2 MAP kinazlarını aktive ederek bu hücreler tarafından immün yanıtların indüklenmesine katkıda bulunur (Nakayama *et al.* 2004).



Şekil 2.2 VacA proteini hücresel süreçleri (Kusters *et al.* 2006)

Şekil 2.2'ye göre, (1) Yüzeyle bağlı VacA doğrudan hücre zarına iletilir. Salgılanan VacA, (2) bir hücre zarı reseptörüne bağlanabilir ve bir proinflatuar yanıt başlatabilir, (3) doğrudan hücre tarafından alınabilir ve mitokondriye taşınarak apoptozu indükleyebilir, (4) pinositoz tarafından alınabilir ve vakuolizasyonu indükleyebilir. (5) besinlerin hücre dışı boşluğa sızmasıyla sonuçlanan bir membran kanalı oluşturur veya (6) sıkı bağlantılardan geçerek T hücreyi aktivasyonu ve çoğalmasını engeller (Kusters *et al.* 2006).

2.4.7 Diğer virülans *H. pylori* faktörleri

H. pylori'nin hastalıkla ilişkili bir diğer önemli virülans faktörü, dış inflamatuar protein A'dır (OipA). OipA, *H. pylori* genomunun bir parçası olarak tanımlanan 32 dış zar

proteini ailesinin bir parçasıdır. Bu proteinin mide epitelyal hücre hatlarından proinflatuar yanıtları indüklediği öne sürülmüştür. *H. pylori* klinik izolatları ile yapılan bir çalışmada, OipA'yı eksprese eden ancak cagPAI proteinlerini eksprese etmeyen izolatlar, gastrik epitelyal hücre hatlarından, ikisini de eksprese etmeyen suşların seviyesinin 3 katı seviyesinde IL-8 üretimini indüklemiştir (Yamaoka *et al.* 2000). *H. pylori* tarafından ifade edilen diğer bazı hastalık oluşturma faktörleri arasında nötrofil aktive edici protein (NAP) ve ısı şoku proteini 60 (Hsp60) yer alır (Bai *et al.* 2003). NAP'ın, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında hem monositler hem de nötrofiller için kemotaktik olduğu gösterilmiştir (Satin *et al.* 2000). Hsp60'ın, Toll benzeri reseptörlerin (TLR'ler) aracılık ettiği görünen makrofajlar ve mide epitel hücreleri tarafından proinflatuar sitokinleri indüklediği gösterilmiştir (Gobert *et al.* 2004). *H. pylori* tarafından ifade edilen lipopolisakkarit, diğer gram negatif bakterilerle karşılaştırıldığında çok zayıf bir immünojendir ancak bazı proinflatuar sitokinleri indüklediği gösterilmiştir (Bliss *et al.* 1998).

2.5 *H. pylori*'ye Karşı İnflatuar Yanıt ve Hastalık Riskini Etkileyen Konakçı Genetik Faktörleri

Mevcut araştırmalar, CagA ve VacA genleri gibi çeşitli bakteriyel virülans faktörlerinin yanı sıra bireysel konağın genetik yatkınlığının *H. pylori* ile ilişkili hastalıkların ilerlemesini etkilediğini ileri sürmektedir (Figueiredo *et al.* 2002). Dünya Sağlık Örgütü yakın zamanda *H. pylori*'yi kronik enfeksiyonun bir sonucu olarak mide kanserini geliştirme risk faktörü nedeniyle sınıf I kanserojen olarak sınıflandırmıştır (Suerbaum and Michetti 2002, Atherton 2006). İnsan sitokin genlerindeki polimorfizmler, *H. pylori* ile temastan sonra hücrelerin sitokin üretim düzeyini etkiler. IL-1 β (interlökin-1-beta) genindeki ve IL-1 reseptör-antagonist genindeki (IR-1RN) spesifik polimorfizmler, *H. pylori* ile enfekte olmuş bireylerde gastrik mukozal IL-1 β seviyelerinin artmasına yol açar (Liou *et al.* 2007). IL-1 β önemli bir proinflatuar sitokindir ve mide asidi salgısının güçlü bir inhibitörüdür. Polimorfizmler ayrıca gastrik atrofi, hipoklorhidri, bağırsak metaplazisi ve mide kanseri (Atherton 2006) riskini ve IL-10, tümör nekroz faktörü (TNF- α) ve IL-10 dahil olmak üzere inflammatuar yanıtın büyüklüğünü düzenleyen diğer genleri de artırır (El-Omar *et al.* 2003).

2.6 *H. pylori* Enfeksiyonuna Karşı İnsanların Bağışıklık Tepkisi

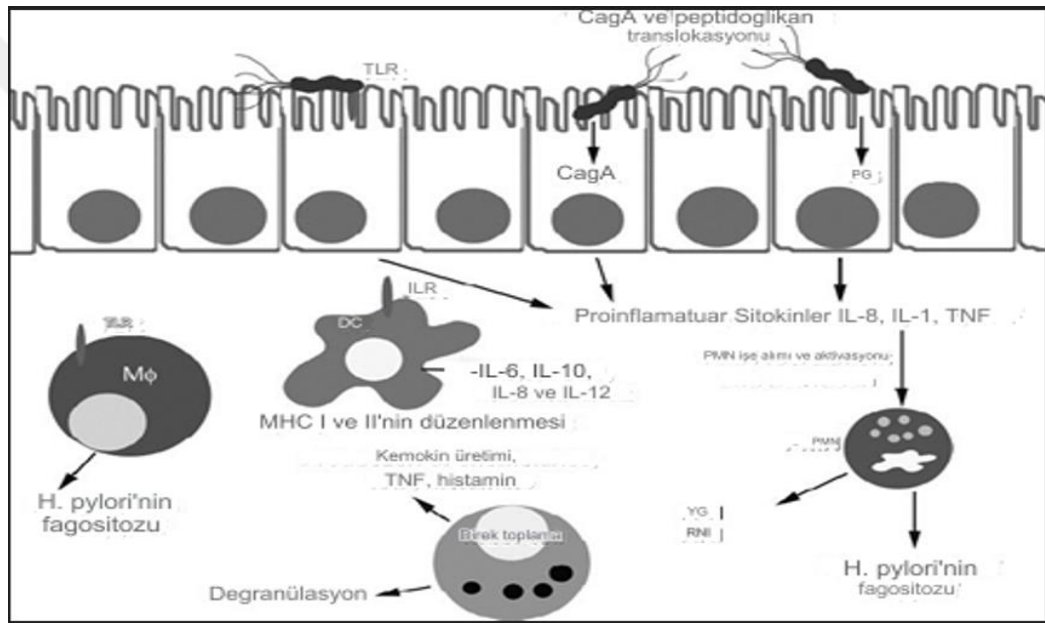
H. pylori enfeksiyonu her zaman konakçının enfeksiyona neden olan suşa karşı güçlü bir bağışıklık tepkisi ile sonuçlanır. *H. pylori* enfeksiyonuyla ilişkili patolojilerin çoğu, doğrudan bakteriyel aktiviteden ziyade konağın bağışıklık sisteminin aktivitelerinden kaynaklanır. *H. pylori*'nin iltihaplanmayı azalttığı ve proinflamatuvar bir bağışıklık tepkisinin hem kışkırtılmasında hem de sürdürülmesinde rol oynayan çok çeşitli virülans faktörleri aracılığıyla konağın bağışıklık tepkisini kontrol ettiği düşünülmektedir.

2.6.1 Akut enfeksiyon

İnsanlarda akut *H. pylori* enfeksiyonuna ilişkin birkaç rapor bulunmaktadır ve bunlar enfeksiyondan sonraki ilk birkaç gün içinde *H. pylori*'ye karşı oluşan bağışıklık tepkileri hakkında fikir vermektedir. B lenfositleri antijen sunan hücreler tarafından aktive edildiğinde, *H. pylori*'ye karşı humoral bir immün yanıt başlatılır (Lundgren *et al.* 2005) İlk olarak IgM antikorları üretilir, bunu IgA ve IgG antikorları takip eder (Nurgalieva *et al.* 2005). CD4 T ve CD 19 B hücre antikorlarına yönelik yanıt, sitotoksik T-lenfositleri (CTL) ile CD8 yanıtından ziyade *H. pylori* enfeksiyonuna verilen başlıca yanıttır (Goll *et al.* 2005). *H. pylori*'de majör humoral immün yanıtlara neden olan antijenlerden bazıları üreaz, flagella, dış membran proteinleri, CagA ve VacA'dır. Bu antijenlerden bazıları diğer bakterilerle çapraz reaksiyona girebilir ve bu nedenle tanı amaçlı olarak geçersiz olabilir. Ayrıca, *H. pylori*'nin CagA ve VacA gibi çeşitli virülans faktörleri muhtemelen birincil kolonizasyon ve enfeksiyonda spesifik roller oynamaktadır (Marshall 2002).

Yakın zamanda, 20 gönüllü insan deneysel olarak 10⁴ ile 10¹⁰ CFU *H. pylori* suşu ile enfekte edilmiştir. Semptomlar en sık enfeksiyondan sonraki ikinci haftada ortaya çıkmış ve dispepsi (deneklerin >%50'sinde), baş ağrısı, anoreksi, karın ağrısı, geğirme ve ağız kokusunu içermiştir. Enfeksiyondan 2 hafta sonra yapılan mide biyopsilerinde lenfosit ve monosit infiltrasyonunun yanı sıra mide antrumunda IL-1 β , IL-8 ve IL-6 ekspresyonunda belirgin artış görülmüştür (Graham *et al.* 2004). Enfeksiyondan dört hafta sonra, gastrik CD4+ ve CD8+ T hücrelerinin sayıları enfeksiyon öncesi seviyelere kıyasla artmıştır, bu da erken adaptif immün yanıtın geliştiğini göstermektedir (Nurgalieva *et al.* 2005). Bu

vakalar, gastrik inflamasyonun *H. pylori* enfeksiyonundan sonra kısa bir süre içinde geliştiğine ve midenin *H. pylori* tarafından ilk kolonizasyonunun sıklıkla üst gastrointestinal semptomlarla sonuçlandığına dair kanıtlar sunmaktadır. Mide epitel hücreleri tarafından salgılanan sitokinler ve kemokinler granülositlerin, monositlerin ve lenfositlerin iltihaplı mukozaya göçünü uyarır ve yüksek yoğunlukta infiltrasyon yapan hücrelerin daha şiddetli iltihap patolojisi ile ilişkili olduğu bilinmektedir (Ernst and Gold 2000). Hem *H. pylori*'ye karşı doğuştan gelen immün yanıtlar hem de erken adaptif immün yanıtlar, akut enfeksiyona eşlik eden gastrik mukozal enflamatuvar yanıtları ve semptomları açıklayabilir (Şekil 2.3) (Algood and Cover 2006).



Şekil 2.3 *H. pylori*'nin doğuştan gelen immün tanınması (Algood and Cover 2006)

2.6.2 Kronik enfeksiyon

H. pylori ile enfekte olan insanlardan alınan gastrik mukozal biyopsiler, enfekte olmayan insanlardan alınan biyopsilerle karşılaştırıldığında çeşitli lökosit türlerinin konsantrasyonunun arttığını ortaya koymaktadır. *H. pylori*'ye karşı oluşan bu inflamatuvar yanıt, "kronik yüzeysel gastrit" olarak adlandırılmıştır (Dixon *et al.* 1996). Lenfositler (hem T hücreleri hem de B hücreleri), makrofajlar, nötrofiller, mast hücreleri ve dendritik hücreler (DC'ler) genellikle mevcuttur (Dixon *et al.* 1996, Bergman *et al.* 2004). CD4+ T

hücreleri tipik olarak CD8+ T hücrelerinden daha fazladır (Quiding-Järbrink *et al.* 2001, Lundgren *et al.* 2005). Ayrıca, FOXP3'ü eksprese eden CD4+/CD25hi düzenleyici T hücreleri, *H. pylori* ile enfekte kişilerin mide mukozasında, enfekte olmayan kişilere göre daha yüksek sayılarda mevcuttur ve bunların, inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli bir rol oynadığı tahmin edilmektedir (Lundgren *et al.* 2003, Lundgren *et al.* 2005).

Lundgren *et al.* (2003), enfekte bireylerdeki hafıza hücrelerinin, sağlıklı bireylerin hafıza hücrelerine kıyasla çok daha az çoğaldığını öne sürmüştür. Bu, enfekte olmuş bireylerde hafıza T hücresi proliferasyonunun azaltılmış duyarlılığının *H. pylori*'ye özgü hücrelerle sınırlı olduğu anlamına gelir. Bu bulgu, düzenleyici CD4+CD25 yüksek T hücrelerinin (Treg hücreleri) bellek T hücrelerinin çoğalmasını bastırdığı varsayımına yol açmıştır. Treg hücreleri, yabancı antijenlere karşı bağışıklık tepkisini kontrol etmek ve otoimmün tepkileri önlemek için hayati öneme sahiptir. Bu nedenle, T hücrelerinin *H. pylori* antijeni ile tekrar tekrar uyarılmasının, hafıza hücrelerinin tepkisini aktif olarak baskılayan Treg hücrelerinin aktivasyonuna yol açabileceği ileri sürülmektedir. Bu nedenle, çalışmalar, uzun süreli enfeksiyon durumunda, konağın kendi bağışıklığının, *H. pylori*'ye özgü Treg hücrelerini aktive ettiğini, bunun da patogenezi teşvik eden hafıza hücresi proliferasyonunu baskıladığını göstermiştir. B hücreleri ve CD4+ hücreleri de dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri bazen lenfoid foliküller halinde organize olur (Terres and Pajares 1998). *H. pylori*'ye özgü CD4+ T hücreleri, *H. pylori* ile enfekte olmuş kişilerin mide mukozasında tespit edilebilir, ancak enfekte olmamış kişilerin mide mukozasında saptanamaz (D'Elis *et al.* 1997a, Lundgren *et al.* 2005). Bir çalışma, *H. pylori* ile enfekte kişilerin midelerinden izole edilen CD4+ T hücresi klonlarının yaklaşık %15'inin *H. pylori*'ye spesifik olduğunu, diğer T hücresi klonlarının ise *H. pylori* lizatındaki antijenlere yanıt olarak çoğalmadığını bildirmiştir (D'Elis *et al.* 1997b).

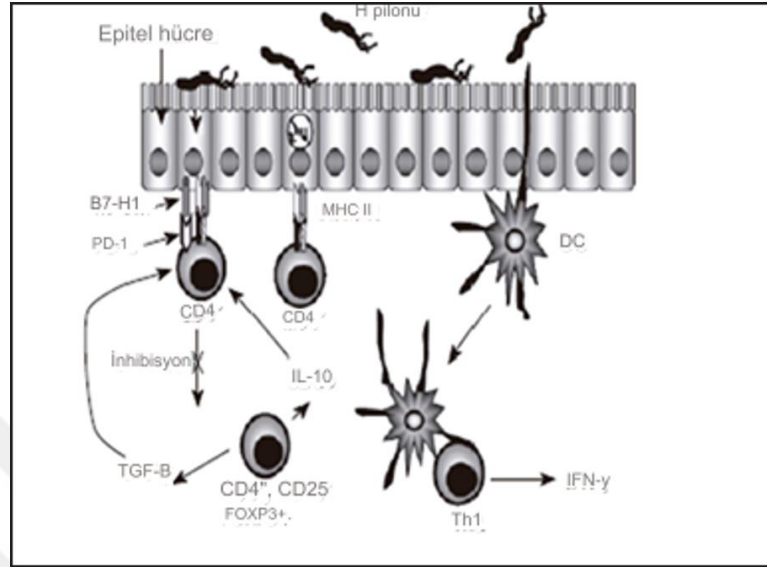
Suarez *et al.* (2006) tarafından yapılan bir araştırma, düzenleyici T hücresi fenotipine sahip CD4+ T hücreleri ile inhibitör B7 ile ilgili moleküllerin ekspresyonunun, efektör CD4+ T hücrelerinin fonksiyonunu sınırlamada rol oynayabileceğini tespit etmiştir. *H. pylori* ile enfekte hastalardan alınan bazı T hücresi klonları, paryetal hücre H+,K+-ATPase üzerindeki epitoplara tanır (Amedei *et al.* 2003) ve H+,K+-ATPaz'ın gastrik T hücreleri tarafından tanınmasının katkıda bulunabileceği ileri sürülmüştür (D'Elis *et al.*

2004). *H. pylori*'ye verilen kronik gastrik mukozal inflamatuvar yanıt muhtemelen hücrel immün yanıtın ve doğuştan gelen immün yanıtın devam eden uyarılmasının birleşik etkilerini yansıtmaktadır (Şekil 2.4).

Bağırsakların aksine mide Peyer plaklarını veya M hücrelerini içermez (Neutra *et al.* 1996). Bu nedenle *H. pylori*'ye karşı bağışıklık tepkisinin oluştuğu yer hakkında bazı belirsizlikler vardır. Gastrik epitel hücreleri, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında MHC sınıf II ve ortak uyarıcı moleküllerin ekspresyonunu yukarı doğru düzenler (Archimandritis *et al.* 2000) ve potansiyel olarak bu hücrelerin antijen sunumunda bir rolü vardır. Mide mukozasının lamina propriasındaki monositler, makrofajlar ve dendritik hücreler de antijen sunumunda önemli roller oynayabilir (Suzuki *et al.* 2002, Kranzer *et al.* 2004). Diğer bir çalışma *H. pylori*'nin başka bir reseptör olan sialil'i indüklediğini göstermiştir (Mahdavi *et al.* 2002). Epitelyal hücre dönüşümünü hesaba katan mekanizmalardan biri, hücre ölümünün artmasıdır. Apoptozun normal epitelyal hücre döngüsünün kontrolünde önemli olduğu, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında ise mide epitelinde arttığı belirtilmektedir (Moss *et al.* 1996). Apoptoz indüksiyon hızı, ekzojen sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından düzenlenebilir; IFN- γ , *H. pylori*'nin gastrik epitelyal hücrelerin apoptozunu indüklemeye yeteneğini doğrudan artırabilir (Fan *et al.* 1998).

Gama interferon (IFN- γ), tümör nekroz faktörü (TNF), IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 ve IL-18 dahil olmak üzere çok sayıda sitokinin seviyeleri artar. *H. pylori* ile enfekte olmuş insanların mideleri, enfekte olmamış insanlarla karşılaştırıldığında (Lindholm *et al.* 1998), IL-4, *H. pylori* ile enfekte kişilerin çoğunun mide mukozasında tespit edilmemiştir (Lindholm *et al.* 1998, Quiding-Järbrink *et al.* 2001). Th1'i tanımlayan sitokin IFN- γ , *H. pylori* ile enfekte olmuş kişilerden alınan gastrik T hücrelerinin, enfekte olmayan kişilerden alınan gastrik T hücrelerine göre daha yüksek oranda eksprese edilir (Lindholm *et al.* 1998, Sommer *et al.* 1998). Bir çalışmada, *H. pylori*'ye özgü mide T hücresi klonlarının %83'ü, *H. pylori* antijenleri ile uyarılma üzerine IFN- γ üretmiş ancak IL-4 üretmemiştir; buna karşılık IL-4 üreten klonların %17'si (D'Elis *et al.* 1997a, Bamford *et al.* 1998). *H. pylori* enfeksiyonu ortamında IFN- γ üreten T hücrelerinin göreceli bolluğuna ve IL-4 üreten gastrik T hücrelerinin göreceli azlığına dayanarak, *H. pylori*

enfeksiyonunun Th1 polarize bir tepkiye yol açtığı sonucuna varılmıştır (Sommer *et al.* 1998).



Şekil 2.4 *H. pylori* enfeksiyonu sırasında CD4+ T hücrelerinin düzenlenmesi (Suarez *et al.* 2006)

2.6.3 Humoral tepki

H. pylori ile enfekte olan hemen hemen herkes, serumda, mide aspiratlarında veya mide ekstraktlarında bulunan spesifik antikorlar geliştirir. *H. pylori* ile enfekte olmuş insanların neredeyse tamamında *H. pylori*'ye karşı humoral bir bağışıklık tepkisi ortaya çıkar (Perez-Perez *et al.* 1988). *H. pylori* ile enfekte insan gönüllüleri üzerinde yapılan bir çalışmada, *H. pylori*'ye özgü serum IgM antikorları enfeksiyondan 4 hafta sonra mevcut olduğunu belirlemiştir (Nurgalieva *et al.* 2005). Kronik *H. pylori* enfeksiyonu olan kişilerde serum IgA ve IgG antikorları birçok farklı *H. pylori* antijenine yöneliktir (Perez-Perez *et al.* 1988, Mattsson *et al.* 1998). *H. pylori*'ye özgü IgA veya IgM antikorları üreten antikor salgılayan hücreler, *H. pylori* ile enfekte olmuş kişilerin mide mukozasında tespit edilebilir (Mattsson *et al.* 1998) ve *H. pylori*'ye yönelik salgılayıcı IgA antikorları, mide suyunda tespit edilebilir. *H. pylori* enfeksiyonunun midede lokal salgısal bir IgA tepkisi ortaya çıkardığını bilinmektedir (Hayashi *et al.* 1998, Mattsson *et al.* 1998). Buna göre, *H. pylori* ile enfekte hastalarda membran proteinleri (MP), flagellinler, üreaz,

Lipopolisakkarit (LPS) ve *H. pylori* adhesin A'ya (HpaA) yönelik yüksek IgG ve IgA antikor titreleri rapor edilmiştir (Mattsson *et al.* 1998).

2.7 Atrofik Gastritte Biyobelirteç Olarak Gastrin-17

H. pylori enfeksiyonu ve plazma gastrin konsantrasyonları arasındaki ilişkiye dair ilk çalışma Levi *et al.* (1989) tarafından belirtilmiştir. *H. pylori* pozitif DU hastalarında hem bazal ve uyarılmış asit sekresyonunun hem de bazal ve yemekle uyarılmış plazma gastrin düzeylerinin *H. pylori* negatif DU hastalarına kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu bildirmişler ve bunu 'gastrin bağlantısı' olarak adlandırmışlardır. Elde ettikleri veriler, *H. pylori* enfeksiyonunun hipergastrinemiye neden olduğunu ve bunu DU hastalarında asit salgısında bir artışın izlediğini açıkça göstermiştir. Antral hormon gastrin (gastrin-17) gastrik asit salgısını ve gastrik mukozanın büyümesini düzenler (Rozenfurt and Walsh 2001). Progastrinin hücresele post-translasyonel olgunlaşma sürecinin bir sonucu olarak, antrumdaki G hücreleri dolaşıma farklı asit uyarıcı gastrinlerin ve diğer öncü parçaların bir karışımını salar (Sawada and Dickinson 1997). Bu karışım gastrin-71, -52, -34, -17, -14 ve -6'dan oluşur. Sağlıklı insanların serum/plazmasındaki baskın gastrin formları amidli gastrin 34 ve 17'dir (Rehfeld 1998); bunlardan ikincisi olan G-17, sağlıklı antral mukozada baskın ve güçlü doku formudur ve neredeyse yalnızca antrum G hücreleri tarafından üretilir. G-17'nin antrum mukozasındaki G-hücrelerinden salgılanması, diyetle alınan protein uyarısı gibi çeşitli faktörler tarafından uyarılmanın bir sonucudur. Midedeki yüksek asit oranı G-17 salgılanmasını engellemeye başlar (Sipponen *et al.* 1990). Normal bir midede, protein uyarımı veya asit eksikliği S/P-G-17 seviyesinde artışa neden olur. Antrumun ilerlemiş veya şiddetli atrofik gastritinde, serum/plazmadaki açlık (bazal) G-17 seviyesi düşüktür ve stimülasyonla bağlantılı olarak herhangi bir artış meydana gelmez. G-17 konsantrasyonundaki düşüşün büyüklüğü ve uyarana verdiği yanıt atrofinin derecesine bağlıdır: atrofi ne kadar şiddetli olursa konsantrasyon o kadar düşük olur ve G-17 seviyelerindeki artış o kadar zayıf olur. *H. pylori* ile kronik enfeksiyonun mide kanseri gelişiminde önemli bir risk faktörü olduğu artık kabul edilmektedir. Kronik *H. pylori* kaynaklı enflamasyon, mide bezlerinin tahrip olması ve fibrozis ve bağırsak tipi epitel ile yer değiştirmesi ile normal mide mukozal mimarisinin kaybına yol açabilir. Bu atrofik gastrit ve intestinal metaplazi süreci, *H. pylori* kolonize

popülasyonun yaklaşık yarısında, öncelikle inflamasyonun en şiddetli olduğu kişilerde ve bölgelerde ortaya çıkar (Kuipers *et al.* 1995). *H. pylori*'nin atrofi ve metaplazi dizisi yoluyla mide kanseri gelişme riskini artırdığına dair kanıtlar, *H. pylori* pozitif deneklerde bu durumların enfekte olmayan kontrollere göre daha sık geliştiğinin gösterildiği çeşitli çalışmalardan kaynaklanmaktadır (Kuipers 1998). Yakın zamanda Zhang *et al.* (2007) 60 yaşın üzerindeki kişilerde serum gastrin-17 seviyesinin artma eğiliminde olduğunu tespit etmişlerdir. Prekanseroz mide lezyonları olan kişilerde, mide hastalığının ilerlemesiyle birlikte önemli ölçüde artabilir ve sonuçta mide kanserinde azalabilir.

İnflamatuvar aktivite derecesinin değerlendirilmesi için, Gastritin sınıflandırılması için Sydney Sistemi, topografik, morfolojik ve etiyolojik bilgilerin tekrarlanabilir ve klinik olarak yararlı tanımlar oluşturmaya yardımcı olacak bir şemada birleştirilmesinin önemini vurgulamıştır. Güncellenen kronik gastrit sınıflandırmasında topografi, morfoloji ve etiyoloji temel alınmıştır (Dixon *et al.* 1996). Gastrit, atrofinin varlığı veya yokluğu ve topografik dağılımına göre iki ana kategoriye ayrılır, *H. pylori* gibi bazı etkenler birden fazla gastrit tipinde rol oynayabilir, ayrıca bireysel bir hasta, muhtemelen birden fazla etiyolojik ajana maruz kalmanın bir sonucu olarak, birden fazla gastrit tipinin histopatolojik kanıtlarına sahip olabilir. Bu durumun yaygın bir örneği, aynı hastada nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların kronik alımına bağlı gastrit (kimyasal gastrit) ve *H. pylori* ile ilişkili kronik aktif gastritin aynı anda bulunmasıdır (Quinn *et al.* 1993).

2.7.1 Morfolojik değişkenlerin derecelendirilmesi

Güncellenmiş Sidney Sistemine göre (Dixon *et al.* 1996), histopatolojik gözlemler iyi tanımlanmış topografik modellere dönüştürülmüştür veya karşılaştırma amacıyla, standartlaştırılmış tekrarlanabilir bir ölçek kullanılarak ilgili her özelliğin derecelendirilmesi gerekir. Morfolojik değişkenlerin derecelendirilmesi, *H. pylori* gastriti ve onunla ilişkili formların (natrofik ve atrofik gastrit) karşılaştırılmasında önemlidir.

i) *H. pylori* yoğunluğu: *H. pylori* yoğunluğundaki farklılıklar hastalık ilişkileri üzerinde etkili olabilir ve epidemiyolojik öneme sahip olabilir (Davies *et al.* 1994).

ii) Polimorfonükleer nötrofil aktivitesi: *H. pylori*'nin varlığının veya yokluğunun çok hassas bir göstergesidir ve enfeksiyonun iyileşmesinden birkaç gün sonra kaybolur. Devam eden akut inflamasyonun bir ölçüsüdür; Nötrofilden türetilen reaktif oksijen türlerinin ve proteazların olası rolü göz önüne alındığında (Davies *et al.* 1994), nötrofil aktivitesinin doku hasarıyla bağlantılı olması muhtemeldir. Nötrofillerin yokluğunda kronik inflamasyon aynı zamanda sitotoksik T-lenfositlerin ve diğer hücre efektörlerinin doku hasarında rol oynayabilmesi ve bazı gastrit modellerinde glandüler yıkımda çalışabilmesi anlamında aktiftir.

iii) Kronik iltihap: Normal mide mukozası, lamina propriada yalnızca ayrı ayrı dağılmış kronik inflamatuvar hücreleri (mononükleer hücreler) içerir. Dolayısıyla herhangi bir artış kronik gastritin göstergesidir. *H. pylori* enfeksiyonunda hücreyel infiltrasyon, CD4+ ve CD8+ T-lenfositleri, B-lenfositleri, plazma hücreleri, monositler, mast hücreleri ve eozinofiller dahil olmak üzere bağışıklık tepkisinin efektörlerini içerir. Mide mukozasının lamina propriasında her zaman birkaç mononükleer lökosit bulunur (2 ila 5 lenfosit). Kronik inflamatuvar hücrelerin, *H. pylori*'nin yok edilmesinden sonra kaybolmasının yavaş olduğu ve normal seviyelere düşmesinin bir yıl veya daha fazla sürebileceği gösterilmiştir (Solcia *et al.* 1994).

iv) Glandüler Atrofi: Mide mukozasının atrofisi, glandüler doku kaybı olarak tanımlanır. Genellikle bağırsak metaplazisi ile ilişkili olan antral mukozadaki yaygın atrofi aynı zamanda artan malignite riskini de taşır (Sipponen *et al.* 1994). Bağırsak metaplazisi yokluğunda atrofi bulunabilir.

v) Bağırsak Metaplazisi: Bağırsak metaplazisi tüm nedenlere bağlı kronik gastritte sık görülür ve hastalığın süresi arttıkça prevalansı artar. Bağırsak metaplazisi genellikle maligniteye yatkınlık yaratan bir durum olarak kabul edilir. Tam (tip I) metaplazinin en düşük mide kanseri riskini taşıdığına inanılırken, kalın bağırsak özelliklerine sahip metaplazi formları (tip III metaplazi veya eksik formlar) karsinoma ile yakından bağlantılıdır (Rokkas *et al.* 1991).

vi) Yüzey Epitel Hücreleri Hasarı: *H. pylori* kronik gastrit vakalarında çarpıcı özellikler olabilir ve sitotoksin üretim tipi ve peptik ülser riski ile ilişkili olabilir (Hui *et al.* 1992); ancak nötrofilik polimorfonükleer inflamasyon genellikle epitelyal hasara eşlik eder ve aktivite ile paraleldir (Fiocca *et al.* 1994).

2.8 *Helicobacter pylori* Enfeksiyonunun Tanısı

H. pylori enfeksiyonunun tespiti için çeşitli tanısal testler mevcuttur; hepsinin hem avantajları hem de dezavantajları vardır. Mevcut testler genellikle histoloji, hızlı üreaz testi, kültür ve PCR için mide örneklerine dayanan invaziv testler ve antikorların, bakteriyel antijenlerin veya üreaz aktivitesinin tespiti için kan, nefes örnekleri, dışkı, idrar veya tükürük gibi periferik örneklerle dayanan noninvaziv testler olarak ikiye ayrılır. Araştırma protokollerinde genellikle iki yöntemin bir kombinasyonu uygulanır; endoskopik biyopsi temelli yöntemlerin (hızlı üreaz testi, histolojik inceleme, kültür ve PCR gibi) bir kombinasyonu genellikle en güvenilir tanıyı verir. Kültür ve *H. pylori* üreaz tespitine dayalı testler aktif enfeksiyonu tespit etmek için uygunken, diğer tüm testler- özellikle seroloji testleri - artık aktif olmayan enfeksiyonların da tespit edilmesini sağlar ve büyük epidemiyolojik çalışmalar için en uygun olanıdır (Hirschl and Makristathis 2007).

2.8.1 İnvaziv olmayan testler

i) Üre Nefes Testi (UBT): *H. pylori* enfeksiyonunun teşhisi için UBT kullanımının ilk tanımı 1987 yılına dayanmaktadır ve bu aynı zamanda invaziv olmayan *H. pylori* teşhisinin altın standardını oluşturmuştur (Graham *et al.* 1987). UBT özellikle *H. pylori* tespiti için geliştirilmiştir. Bu testin prensibi, gastrik ortamda mevcutsa *H. pylori*'nin oral olarak emilen ¹³C veya ¹⁴C işaretli üreyi parçalama yeteneğine dayanır. ¹³CO₂ veya ¹⁴CO₂ kana yayılır ve akciğer yoluyla atılır ve böylece solunan havada ölçülebilir. UBT'nin duyarlılığı ve özgüllüğü çoğu çalışmada %90'ı aşmaktadır (Gisbert and Pajares 2004). Özellikle tedavi sonrası mükemmel duyarlılık, *H. pylori*'nin orta derecede kolonizasyonu veya yamalı dağılımı durumlarında bile UBT'nin biyopsi temelli testlere göre pozitif sonuç verme olasılığının daha yüksek olmasıyla açıklanabilir. Diğer üreaz

oluşturan patojenlerin neden olduğu yanlış pozitif sonuçlar nadirdir. Serolojinin aksine, *H. pylori* ve üreaz baskılayıcı tedaviler (proton pompası inhibitörleri ve antibiyotikler) yanlış negatif sonuçlar üretebilir. UBT'nin kullanımı pediatrik hastalarda da iyi belgelenmiştir (Koletzko 2005). 13C-UBT değerini gastrik lezyonların şiddeti, bakteri yükü ve eradikasyon tedavisine yanıtın öngörücüsü olarak inceleyen araştırmacılar da vardır (Maconi *et al.* 1999).

ii) Dışkı Antijen Testi: Dışkıda *H. pylori* antijenlerinin başarılı bir şekilde tespit edildiğine dair ilk çalışma 1997 yılında yapılmıştır. Kozak *et al.* (1997), *H. pylori* antijenini yakalamak için mikrokuyucuklara kaplanmış poliklonal anti-*H. pylori* antikoları ve immün kompleksi tespit etmek için peroksidaz konjuge poliklonal antikolar kullanarak dışkı üzerinde gerçekleştirilen bir enzime bağlı İmmünosorbent testi (ELISA) rapor etmiştir. Bu test *H. pylori* gaita antijen testi (HpSA) olarak adlandırılmıştır. Yetişkin 100 dispeptik hastadan elde edilen dışkıları üzerinde yapılan değerlendirmede %88,8 duyarlılık ve %94,5 özgüllük göstermiştir (Makristathis *et al.* 1998). Beş yüz hastanın dahil edildiği çalışmada, UBT için %95,3 ve %97,7 olan duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %94,1 ve %91,8 olarak bulunmuştur (Vaira *et al.* 1999).

Gerçekten de UBT, aktif bir enfeksiyonun güvenilir bir şekilde tespit edilmesi gibi gaita antijen testine karşı bir dizi avantaj göstermektedir. UBT'nin ayrıca test reaktiflerinin ve toplanan numunelerin stabilitesi ve raf ömrü açısından gaita antijen testinden açıkça daha üstün olduğu gösterilmiştir. Dışkı örnekleri oda sıcaklığında 24 saat veya 4°C'de 72 saat saklanabilir. Soğutma olmadan 2-3 gün içinde duyarlılıkta önemli bir azalma meydana gelir (Malferteiner *et al.* 2007). Türkiye'de Adiloglu *et al.* (2007), Premier Platin HpSA ile *H. pylori* ile ilişkili gastritin şiddeti arasındaki kantitatif korelasyonu araştırmıştır. Kesme seviyesinin ayarlanmasından sonra, testin duyarlılığı %92 ve özgüllüğü %100 olarak bulunmuştur. HpSA'daki yüksek değerler ile korpus *H. pylori* yükünün yüksek skorları arasında ve ayrıca antrum ve korpus inflamasyonunun şiddeti arasında anlamlı ($p<0,05$) bir korelasyon bulunmuştur.

iii) Seroloji: Serolojik testler için tam hücrelerden, sonikasyona tabi tutulmuş hücre ekstraktlarından ve iyonik olmayan deterjan ekstraktlarından yüksek oranda saflaştırılmış

bireysel antijenlere ve rekombinant antijenlere kadar çeşitli antijen preparasyonları kullanılmıştır. İmmünoelot analizleri, *H. pylori*'ye karşı bağışıklık tepkisinin oldukça karmaşık olduğunu ve yüksek molekülerden düşük moleküler aralığa kadar çok sayıda antijeni içerdiğini göstermiştir. Bunlar arasında CagA, üreazın çeşitli alt birimleri, ısı şok proteinleri, katalaz ve LPS gibi bir dizi yüzey veya salgı antijeni bulunur. Genel olarak çeşitli suşların karmaşık antijen karışımlarını içeren testler en yüksek duyarlılığı gösterir. Çok sayıda ve değişken test formatı kullanılmış olup, en sık uygulananı enzim immünoelotik testleridir (EIA). Ticari testlerin çoğu IgG tespitine dayanmaktadır. IgA sınıfı antikorlar için ek testler tartışmalıdır ve en iyi ihtimalle duyarlılıkta yalnızca hafif bir artış sağlar ve çoğu ticari EIA'nın duyarlılığı ve özgüllüğü %60 ile 100 arasında değişir (Herbrink and Van Doorn 2000). Aktif *H. pylori* enfeksiyonunun tespitinde kullanılan karşılaştırmalı yöntemlerin kalitesi, coğrafi bölge, enfeksiyon prevalansı ve hasta seçimi, seroloji testlerinin değerlendirilmesinde kritik faktörlerdir. Bu nedenle, bir testin yerel olarak doğrulanması büyük önem taşımaktadır. Hem UBT hem de monoklonal dışkı antijen testi, akut enfeksiyonun tanısı ve terapötik takip açısından serolojiden üstün olmasına rağmen, serolojinin tercih edilen yöntem olduğu birçok endikasyon vardır. Özellikle kanamalı ülseri olan, gastrik atrofi olan, mukoza ilişkili lenfoid doku lenfoması olan ve yakın zamanda antibiyotik veya proton pompası inhibitörü (PPI) kullanan hastalarda dikkate alınmalıdır (Malfertheiner *et al.* 2007). Özellikle son iki durumda, patojenin potansiyel baskılanması diğer testlerde hatalı negatif sonuçlara neden olabilir. Başarılı bir yok etme tedavisinden sonra bile antikorların uzun süreli kalıcılığı, belirli bir tehlikeyi temsil eder (Hirschl and Rotter 1996); bu nedenle başarılı bir şekilde tedavi edilen hastalar bazen tedaviden yalnızca birkaç hafta sonra görülen pozitif titre nedeniyle yanlışlıkla tekrarlanan tedaviye tabi tutulabilir.

İdrarda *H. pylori* Antikorlarının Tespiti: Spesifik *H. pylori* IgG antikorları idrarda düşük konsantrasyonlarda tespit edilir. Bunların tespit edilmesini sağlayan bir ELISA ve bir "hızlı immünoenzimatik test" geliştirilmiştir (Leodolter *et al.* 2003). Havuzlanmış duyarlılık ve özgüllük sırasıyla %92,3 ve %89,7 olarak bildirilmiştir. Doğruluk pH'a veya bakteriüri varlığına bağlı olmamakla birlikte, büyük miktarda total IgG'den etkilenebilir. İdrar örnekleri protein çökmesine yol açacağı için dondurulamaz. Test taze numuneler üzerinde yapılmalı veya bir koruyucu eklenmelidir.

Tükürükte *H. pylori* Antikorlarının Tespiti: Tükürük antikorları enfeksiyöz ajanlara karşı immün yanıt sırasında salgılanır (Patel *et al.* 1994). Tükürükte *H. pylori*'ye özgü IgG'yi tespit etmek için ticari bir kit geliştirilmiştir. Tükürük, hastanın bir tüpe tükürmesi yoluyla toplanabilir, ancak IgG ile zenginleştirilmiş dişeti transudatı elde etmek için tasarlanmış özel bir cihaz kullanılarak daha iyi sonuçlar elde edilir, ancak bu test de yetersiz hassasiyetten muzdariptir (Malaty *et al.* 2000).

2.8.2 İnvazif testler

i) Kültür: Kültür, *H. pylori*'nin saptanması için en spesifik yöntem olmaya devam ederken, duyarlılığı önemli dalgalanmalar göstermektedir (Ndip *et al.* 2003). Sonuçlar büyük ölçüde numunelerin kalitesine, uygun taşıma koşullarına ve sonuçların işlenmesi ve yorumlanmasında gösterilen özene bağlıdır. Yavaş üreme ve kültür koşullarına ilişkin özel gereksinimler nedeniyle, *H. pylori* üremesi kesinlikle özel bir zorluk ve mikrobiyoloji laboratuvarının kalitesinin bir testini temsil eder.

ii) Histopatoloji: Warren and Marshall (1983)'ın aktif kronik gastriti olan hastalarda spiral şekilli bakterilerin varlığını tanımlaması, *H. pylori*'nin kültüre alınması için teşvik edici olmuştur. Bu nedenle, histoloji *H. pylori*'nin saptanması için önemlidir. Warren, *H. pylori*'nin görüntülenmesi için Warthin- Starrysilver boyasını kullanmıştır. Modifiye Giemsa, hematoksilen eozin, Genta, toluidin mavisi, Romanouski ve immünokimyasal yöntemler gibi bir dizi başka boyayla da tespit mümkündür. Klasik histolojinin yanı sıra, imprint sitolojinin boyanması da *H. pylori*'nin saptanması için uygundur.

Künye sitolojisi numuneleri gece boyunca formalin fiksasyonu gerektirmez ve gastrik biyopsi numunelerinin hızlı bir şekilde incelenmesini sağlar. Biyopsi örnekleri forseps ile alındıktan sonra, bir cam lam üzerindeki dokuya bir iğne ile bastırarak veya dokuyu lam üzerine sürterek baskılar yapılır. Biyopsinin hemen ardından, baskılar hızlı bir Giemsa veya Gram suşu ile boyanarak sitoloji örnekleri hazırlanabilir ve *H. pylori* veya *H. heilmannii* organizmaları doğrudan görüntülenebilir. Bu organizmanın saptanması için imprint sitolojisi histolojiden daha hassas olabilir (Debongnie *et al.* 1994). *H. pylori* enfeksiyonunun endoskopik özelliklerinin spesifik olmadığı düşünülse de yeni konfokal

lazer endomikroskopi yöntemi, devam eden endoskopi sırasında canlı dokunun yüzey mikroskobu ile görüntülenmesine ve *H. pylori*'nin gözlemlenmesine olanak sağlamıştır (Kiesslich *et al.* 2005).

Histopatolojinin en büyük avantajı, akut veya kronik inflamasyon, lenfoid agregatlar, intestinal metaplazi ve glandüler atrofi varlığı gibi bir hastanın gastritinin doğası hakkında kalıcı bir kayıt sağlamasıdır (Dixon *et al.* 1996). Histolojinin güvenilirliği de esasen toplanan örneklerin sayısına ve lokalizasyonuna bağlıdır. Bu, atrofisi olan hastalarda özel bir öneme sahiptir. İlginç test yöntemlerinden biri, *H. pylori* tespitine ek olarak histolojik preparatlarda klaritromisin direncinin tespitine izin veren floresan in situ hibridizasyondur (Trebesius *et al.* 2000, Russmann *et al.* 2001). Bu yöntemde 16S ve 23S ribozomal RNA genlerini hedefleyen bir dizi floresan etiketli oligonükleotid probu kullanılmaktadır. Analiz süresi sadece yaklaşık 3 saat olan bu yöntem, *H. pylori* ve klaritromisin direncinin saptanması için en hızlı yöntemlerden biridir. İn situ hibridizasyon ve immünokimyasal yöntemler ayrıca virülans faktörlerinin ve özellikle de mide mukozasındaki çeşitli suşların tam lokalizasyonunun tespit edilmesine olanak sağlar (Camorlinga-Ponce *et al.* 2004, Morris *et al.* 2005).

iii) Hızlı üreaz testi: *H. pylori* büyük miktarlarda hücre dışı üreaz üretir ve bu, mide biyopsisi dokusunun üre içeren bir ortama verilmesini takip eden saatler içinde tespit edilebilir. Üreaz, ürenin karbondioksit ve amonyaka hidrolizini katalize eder. Amonyak üretiminin net etkisi yerel pH'ı arttırmaktır. Biyopsi numuneleri bir agar jeline veya pH göstergesi içeren bir kâğıt şeridine yerleştirilir. Antral biyopsi örneğinde yeterli sayıda organizma mevcutsa; *H. pylori* üreazının üreyi parçalaması ve amonyak üretmesi sonucu renk değişimi meydana gelir. Ticari hızlı üreaz testleri, agar jeli bazlı testleri (örn., CLOtest (Kimberly-Clark, Neenah, Wisconsin) ve kâğıt şerit testlerini (Puetz *et al.* 1997, Yousfi *et al.* 1997) içerir.

iv) Moleküler tanı: *H. pylori* enfeksiyonunun tespitine yönelik moleküler yöntemlerin tanımı ve kullanımı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Polimeraz zincir reaksiyonu, *H. pylori*'nin tespiti için oldukça hassas ve spesifik bir teknik olarak büyük öneme sahiptir. Gastrik biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin saptanmasına yönelik PCR teknikleri, bir dizi

laboratuvar tarafından tanımlanmış olmasına rağmen, bu tekniklerin doğruluğu büyük ölçüde değişmektedir (Ashton-Key *et al.* 1996). Test doğruluğunu etkileyen faktörler arasında primerlerin ve hedef DNA'nın seçimi, numune hazırlama, bakteri yoğunluğu ve PCR prosedürüyle ilgili teknik konular yer alır. *H. pylori* alanında PCR uygulaması, yalnızca bakterinin tespitini değil, aynı zamanda patogenezele (*cagA*) ilgili spesifik genlerin ve antimikrobiyal dirençle ilişkili spesifik mutasyonların miktarının belirlenmesini ve tespitini de içerir. PCR'ye bir alternatif FISH tespitidir. Bu, dondurulmuş biyopsilerde rutin uygulama için hızlı ve güvenilir bir yöntemdir (Agudo *et al.* 2011, Vega *et al.* 2007). *H. pylori* ortak geni ve *cagA*'ya spesifik bir oligonükleotid için biyotillenmiş problarla *in situ* hibridizasyon kullanılarak, apikal epitel yüzeyinin mukoza jelinde *cagA*-negatif bakterileri tanımlamak mümkün olurken, *cagA*-pozitif bakteriler epitelyal hücreleri veya hücreler arası boşlukları kolonize eder (Camorlinga-Ponce *et al.* 2004). PCR'nin farklı formatları halen önerilmektedir. Gill *et al.* (2007), izotermal digoksinin (DIG) etiketli termofilik helikaz bağımlı izotermal DNA amplifikasyon prosesi ile *ureC* bazlı bir PCR kullanmıştır. Spesifik bir biyotillenmiş DNA probu ile amplikonların tespit edilmesine ve kültüre kıyasla mükemmel hassasiyete olanak sağlar.

Moleküler teşhisteki ilk adım, aşağı yönde bir DNA amplifikasyonuna izin verecek yeterli kalitede bir DNA matrisinin elde edilmesinden oluşur, dolayısıyla DNA ekstraksiyonu bu prosedürlerde önemli bir adımdır. Farklı ticari kitler vardır ancak biyopsilerden otomatik DNA ekstraksiyonu gerçekleştirilebilir. Nükleik asit ekstraksiyonu için robotun seçimi çok genişler ve tüm ölçeklere ve iş akışlarına uyarlanabilir.

- **Biyopsi örnekleri**

i) *H. pylori*'nin tespiti için PCR: Kullanılan ilk hedefler üreaz operonunun, *ureA* (Clayton *et al.* 1991) ve daha önce *ureC* olarak adlandırılan *glmM* (De Reuse *et al.* 1997) veya 16S rRNA genidir (Ho *et al.* 1991). Yuvalanmış PCR'nin kullanımı, inflamatuvar değişiklikler sergileyen biyopsi örneklerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir. Amplikon tespitinin hassasiyetini arttırmak için amplikonların boyutlarına göre elektroforez ile standart tespiti yerine prob hibridizasyon yöntemi kullanılabilir (El-Zaatari *et al.* 1995). Sıvı fazda yeni

yöntemlerden, DNA-enzim immünoanaliz (Monteiro *et al.* 1997) ve ters nokta leke çizgisi prob analizi (LiPA) (Van Doorn *et al.* 1998) önerilmiştir. Ayrıca bu yaklaşım kesinlikle PCR'nin özgüllüğünü arttırmaktadır. Ters transkripsiyon-PCR'nin (RT-PCR) kullanımını birçok yazar tarafından rapor edilmiştir (El-Zaatari *et al.* 1995, Oksanen *et al.* 1999). MRNA'ya dayalı olduğu göz önüne alındığında, mevcut bakterilerin yaşayabilirliğini belirler, ancak duyarlılıkta herhangi bir gelişme gösterilmemiştir. Gerçek zamanlı PCR protokollerinin kullanılmaya başlanmasıyla hassasiyette önemli bir iyileşme meydana gelmiştir. PCR'nin bir avantajı, DNA'nın katı taşıma koşulları gerektirmemesi ve posta yoluyla gönderilen üreaz testleri üzerinde gerçekleştirilmiş olmasıdır (Linpisarn *et al.* 2005).

ii) *H. pylori*'nin patojenik faktörlerinin tespiti için PCR: *H. pylori*'nin spesifik patojenik faktörlerinin saptanmasıdır. Cag PAI'nin ana geni cagA'dır; Cag PAI'nin varlığını gösteren ilk belirteçtir (Labigne 1994). *H. pylori* ayrıca peptik ülser hastalığı (Figura *et al.* 1989) ve mide adenokarsinomu (Miehlke *et al.* 2000) gibi daha ciddi hastalıklarla ilişkilendirilen bir VacA da üretir. Bu sitotoksini kodlayan gen, terminal(ler) ve ortanca (m) bölgelerde bir mozaiklik sergiler. Üretilen toksinin çeşitli miktarlarına karşılık gelen çeşitli aleller vardır: s1m1 en yüksek üretime karşılık gelir, ardından s1m2 gelir, s2m2 aleli olan suşlar ise herhangi bir toksin üretmez (Atherton *et al.* 1995). Genotipi tanımlamak için bir PCR önerilmiştir (Atherton *et al.* 1997). *H. pylori*'yi ve onun ana hastalık oluşturma faktörlerini tespit etmek için bir test tasarlanmıştır: INNO-LiPA (Innogenetics, Ghent, Belçika). Bu test, vacA s bölgesi, vacA m bölgesi ve cagA için birden fazla spesifik prob içeren bir şeritten oluşur. Karşılık gelen *H. pylori* genlerinden bazıları, biyotin etiketli bir PCR primeri ile amplifiye edilir ve ardından şerit üzerinde tek adımlı ters hibridizasyonla analiz edilir (Van Doorn *et al.* 1998). Diğer teknik gelişmeler arasında vacA ve cagA genotipleri için multipleks PCR (Chattopadhyay *et al.* 2004) ve SYBR yeşil I boyası kullanılarak gerçek zamanlı PCR erime eğrisi analizi (Ruzsovcics *et al.* 2001) yer almaktadır.

iii) Sabit biyopsi örneklerinde PCR: Formaldehitte sabitlenmiş parafine gömülmüş malzeme üzerinde PCR gerçekleştirmek çok tercih edilen bir olasılıktır çünkü (i) depolanan malzemenin incelenmesine olanak sağlar ve (ii) taze biyopsiler için bakım

sorunu olmaz. *H. pylori*'nin tüm formlarını başarıyla tanımlamak için PCR bazlı bir yöntem, parafine gömülmüş arşiv mide biyopsi örneklerinden *H. pylori* DNA'sının çoğaltılması için kullanılmıştır (Scholte *et al.* 2001, Agarwal and Dixon 2003). *H. pylori*'nin Nested PCR ile tespiti parafine gömülmüş materyal üzerinde başarıyla gerçekleştirilmiştir (Zsikla *et al.* 2006).

iv) Kantifikasyon için PCR: *H. pylori* miktarının belirlenmesi için ilk olarak rekabetçi bir PCR kullanılmış, ardından gerçek zamanlı bir PCR'nin geliştirilmesiyle süreç önemli ölçüde kolaylaştırılmıştır. Gerçek zamanlı PCR ilk olarak 2002 yılında mide biyopsi örneklerinde *H. pylori* DNA'sını ölçmek için kullanılmıştır. He *et al.* (2002), LightCycler aparatı ve FRET teknolojisi üzerinde rekabetçi olmayan bir PCR gerçekleştirmiştir. Saptama limiti 103 hedef kopya (ureC) ve 103 ile 109 CFU/ml arasında doğrusal bir değişim vardır. Aynı yöntem Lascols *et al.* (2003) tarafından da kullanılmıştır. Ayrıca 300 CFU/mL'den 3 x 10⁸ CFU/mL'ye kadar doğrusal bir korelasyon bulunmuştur. Yarı kantitatif olarak kullanılan diğer invaziv testlerle (histoloji, kültür) korelasyon iyi sonuçlar verir. Tekniğin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %97 ve %94,6'dır. Biyopsi örneklerinin parafin kesitlerinde bir diğer teknolojik araç olan TaqMan kullanılmış ve UBT değerleriyle iyi bir korelasyon tespit edilmiştir (Kobayashi *et al.* 2002).

- Diğer Örnekler

a) Mide Suyu: Esas olarak ureA genlerini hedef alan PCR, mide suyu aspiratlarına iyi bir duyarlılık ve özgüllükle uygulanmıştır (Matsukura *et al.* 1995).

b) Kan örnekleri: *H. pylori*'nin tespiti için kan örnekleri üzerinde PCR yapılmamaktadır. İlginç bir şekilde, Dore *et al.* (2003) az sayıda enfekte hasta ve kontrolden alınan serum örneklerini cinse özgü primerlerle (yani C97-C98) ve vacA geninin korunmuş bölgesinde tasarlanan primerlerle test etmiştir; *H. pylori* pozitif hastaların %65'i *Helicobacter* cinsi primerlerle pozitif çıkmış ve bunların %75'i vacA sekanslarının amplifikasyonu ile sonuçlanmıştır. Üç örneğin 16S rRNA gen amplikonlarının klonlanması ve dizilenmesi *H. pylori* ile %99 özdeşlik göstermiştir. Bu bulgu, *H. pylori* DNA'sının periferik kanda dolaşabileceğini göstermektedir.

c) Diğer bölgelerden alınan numuneler: Sindirim sistemi boyunca çeşitli bölgelerde *H. pylori*'yi tespit etmek için PCR kullanılmıştır. Bakteri, apandisit hastalarından alınan 46 apandis örneğinin 2'sinde (%4) (Pavlidis *et al.* 2002), kronik rinosinüzit hastalarından alınan 12 örneğin 4'ünde (%33) (Özdek *et al.* 2003) ve muhtemelen reflüyü takiben 30 tonsil ve adenoid doku örneğinin 7'sinde (%30) (Cırak *et al.* 2003) tespit edilmiştir. Karaciğer örneklerinde PCR, HCV pozitif hastalarda tek başına hepatite kıyasla daha ciddi hastalıklarla (siroz, hepatoselüler karsinom) ilişkili görünen *H. pylori* benzeri organizmalar için de pozitif sonuçlar vermiştir (Rocha *et al.* 2005).

H. pylori'nin moleküler tespiti, invazif olmayan prosedürlerle elde edilen bir dizi materyalde (dışkı ve tükürük) de mümkündür (Kabir 2004). İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastaların bağırsak mukozasından enterohepatik helikobakterleri tespit etme girişimleri, muhtemelen bir patojenden ziyade bir seyirci olarak *H. pylori*'nin tespit edilmesine de olanak sağlamıştır. Son sonuçlar, *H. pylori*'nin bağırsağı geçerek dışkı ile atıldığını ancak canlı olmayan bir organizma olduğunu göstermiştir (Oliveira *et al.* 2004, Zhang *et al.* 2006). Lottspeich *et al.* (2007) tarafından yapılan bir çalışmada, *H. pylori*'nin tespiti ve eş zamanlı klaritromisin duyarlılık testi için ClariRes testini değerlendirmişlerdir. Bu yeni biprob gerçek zamanlı PCR %100 özgüllük gösterirken, enfekte çocuklarda duyarlılık %63 olmuştur.

2.9 *H. pylori* Enfeksiyonunda Güncel Tedaviler

2.9.1 Bizmut dörtlü tedavisi

Bizmut dörtlü tedavisi (BQT), şu anda yüksek (\geq %20) CAM direnci insidansı olan alanlar için tercih edilen bir birinci basamak tedavi seçeneğini temsil etmektedir, ancak aynı zamanda CAM bazlı bir rejimin daha önce başarısız olduğu durumlarda da değerli bir ikinci basamak tedavi seçeneği olarak ele alınmaktadır. CAM direnci varlığında >%90'ın ortadan kaldırılmasını sağlayan CAM'dan bağımsız olarak çalışır, oysa yüksek MNZ dozunun (1500-1600 mg/gün) ve uzun süreli (10-14 gün) tedavi süresinin uygulanması, MNZ direnci üzerindeki etkinin en aza indirilmesine olanak tanır. Bu ilaca karşı direncin yüksek olduğu bölgelerde bile >%85'lik bir yok etme oranı sağlamaktadır (Papastergiou

et al. 2014). Yapılan bir çalışmada, BQT ile ITT yok etme oranı yalnızca %77,8 olarak tespit edilmiştir (STT için %77'ye karşılık), bu da BQT'nin STT'ye göre hem etkinliğini hem de üstünlüğünü sorgulamaktadır (Luther *et al.* 2010). Bununla birlikte, özellikle MNZ dozajına ilişkin olarak önemli derecede çalışma heterojenliği kabul edilmelidir. BQT'nin ikinci basamak etkinliği, STT'nin başarısızlığından sonra ortalama %77'lik bir ikinci basamak etkinliği (ITT) gösteren meta-analitik temelde (30 çalışma) doğrulanmıştır. İspanya'da yapılan bir çalışmada, CAM ve levofloksasin içeren üçlü tedavilerle daha önceki iki yok etme başarısızlığından sonra BQT'nin üçüncü basamak etkinliği %65 (ITT) olarak belirlenmiştir. Bizmut tuzlarının veya tetrasiklinin bazı ülkelerde bulunmaması ve bizmutun potansiyel toksisitesi ana sınırlamalardır. Ancak 4763 hasta dahil edildiğinde, bizmut içermeyen ve bizmut içeren gruplar arasında tolere edilebilirlik açısından, daha sonra koyu renkli dışkıların daha yaygın olması dışında hiçbir fark gösterilmemiştir (Ford *et al.* 2008).

2.9.2 Sıralı terapi

STT'de bulunan aynı antibiyotikleri kullanır ancak sırayla uygulanır. İlk amoksisilin kürünün bakteri hücre duvarını bozarak CAM'ı bakteri dışına aktaran eflüks kanallarının gelişimini engellediği varsayılmıştır. İlk RKÇ'lerde (çoğu İtalya'da yapılmıştır) ve daha önceki meta-analizlerde ardışık tedavi STT'den açıkça üstün olmasına rağmen [ITT eradikasyon %91,7 (%95CI: %90-93) ve STT için %76,7 (%95CI: %75-79)] (Gisbert *et al.* 2010), Güney Amerika, İran ve Güney Kore'den elde edilen daha yeni veriler daha düşük eradikasyon oranları (<%80) ortaya koymuştur (Sardarian *et al.* 2013). Antibiyotik duyarlılık verilerine sahip 8 çalışma değerlendirildiğinde, ardışık tedavinin CAM monorezistan suşlarına karşı oldukça etkili görünmesine ve bunların %72,8'ini eradike edebilmesine rağmen, çift dirençli (CAM ve MNZ) suşlara karşı etkinliği yalnızca %37 (aralık: %16,2 ile %60,7) olmuştur. Kritik olarak, 46 RKÇ'nin kapsamlı bir değerlendirmesinde ardışık tedavi 14 günlük üçlü tedaviden (RR=1, %95 GA: 0,94-1,06) veya bizmut bazlı tedaviden (RR=0,99, %95 GA: 0,94-1,05) daha yüksek değildir (Papastergiou *et al.* 2014).

2.9.3 Bizmut dışı dörtlü (eş zamanlı) tedavi

Bizmut olmayan dörtlü "eşzamanlı" tedavi, CAM direnci insidansının yüksek olduğu bölgeler için geçerli bir diğer ilk basamak tedavi seçeneğidir. 19 çalışmada (2070 hasta) eşzamanlı tedaviyle genel eradikasyon oranı %88 (%95CI: %85-%91) olarak tespit edilmiştir. Gerçekten de, en az 7 günlük tedavi süresinin eşzamanlı tedavinin başarısı için gerekli olduğu gösterilmiştir, oysa yüksek PPI dozu (omeprazol 40 mg×2) ile birlikte tedavinin 14 güne uzatılması, çok merkezli bir çalışmada ortaya konduğu gibi, kür oranlarını daha da artırarak >%95'e çıkarabilir. Çift dirençli *H. pylori* suşlarına karşı artan etkinlik, ardışık tedaviye kıyasla eşzamanlı tedavinin ana gücü olarak öne sürülmüştür (Papastergiou *et al.* 2014), ancak iki rejim yüksek antibiyotik direnci olan bir ülkede (İspanya) 338 hasta kullanılarak karşılaştırıldığında eşit performans göstermiştir. Tedavi öncesi duyarlılık testi yapılan 106 hasta değerlendirildiğinde, CAM ve MNZ direnci sırasıyla %100 ve %91 iken, eşzamanlı tedavi çift dirençli suşların yalnızca %55'ini eradike etmiştir. Dolayısıyla, her iki rejim de ikili direncin zararlı etkisine yatkın görünmektedir ve 6 karşılaştırmalı RKÇ'nin verilerinin bir araya getirilmesiyle karşılaştırılabilir (her biri yaklaşık %81 etkinlikle) bir performans sergilemektedir (Gatta *et al.* 2013).

2.9.4 Hibrit terapi

Papastergiou *et al.* (2014) tarafından önerilen iki aşamalı ikili eşzamanlı (hibrit) rejim hem sıralı hem de eşzamanlı tedavilerle rekabet eden bir başka değerli tedavi seçeneğidir. İki RKÇ'den elde edilen veriler değerlendirildiğinde, hibrit tedavinin sıralı tedaviye kıyasla anlamlı olmasa da marjinal olarak daha iyi performans gösterdiği (%86,6'ya karşı %81) ve ilginç bir şekilde hibrit rejimle tedavi edilen grupta daha az ters olayın meydana geldiği karşılaştırmalı bir çalışmada eşzamanlı tedaviyle karşılaştırılabilir olduğu görülmüştür. Hibrit tedavinin etkinliği ve tolere edilebilirliği hakkında kesin sonuçlara varmak için daha fazla veriye ihtiyaç vardır (Papastergiou *et al.* 2014).

2.9.5 Levofloksasin bazlı tedaviler

Artan CAM direncinin üstesinden gelmek için, geniş spektrumlu bir kinolon olan levofloksasin, üçlü veya ardışık rejimlerde CAM'ın yerine kullanılmış olup >%90'lık kür oranlarına ulaşılmıştır ve hatta levofloksasine karşı lokal direncin düşük olması koşuluyla >%95'lik bir tedavi mümkündür. Bununla birlikte levofloksasin klinik olarak önemli antibiyotik direnci sorunlarıyla da karşılaşmaktadır; çünkü kinolonlara karşı direnç şu anda Amerika'da %40'ı, Avrupa'da %20'yi ve Asya'da %10'u aşmaktadır (Papastergiou *et al.* 2014). Sekonder kinolon direncinin hızla gelişmesi nedeniyle, levofloksasinin birinci basamak kullanımını genellikle önerilmez ve ilaç, CAM ve/veya MNZ bazlı bir rejimin başarısız olması durumunda ikinci basamak/kurtarma rejimlerinde kullanılmak üzere ayrılır. Levofloksasin üçlü tedavisinin (LTT) (tedavi oranları %81-87) ikinci basamak etkinliği, 2006'da yayınlanan iki meta-analizde doğrulanmıştır; her ikisi de ikinci basamak BQT ile karşılaştırıldığında LTT ile daha iyi sonuçlar vermektedir. Benzer şekilde, Ekim 2010'a kadar olan RCT'leri de içeren daha yeni bir meta-analizde LTT'nin ikinci basamak etkinliği %88,7 olarak tespit edilmiştir. Kritik olarak, ardışık veya eş zamanlı rejimin başarısızlığından sonra LTT kullanımının kümülatif etkinliğin %97,8'ini sağladığı rapor edilmiştir. Terapötik etkinlik moksifloksasin ve Sitafloksasin gibi diğer kinolon ajanlarının kullanımı umut verici sonuçlar vermiştir, ancak levofloksasine göre herhangi bir terapötik avantajı destekleyen hiçbir kanıt yoktur (Murakami *et al.* 2009).

2.9.6 Yardımcı probiyotikler

Standart tedavilerin etkinliğini yeniden sağlamak için PPI dozunun artırılması veya tedavi süresinin uzatılması gibi farklı girişimlerde bulunulmasına rağmen, bunların hiçbiri günümüzün antimikrobiyal direncini aşacak düzeyde kanıtlanamamıştır. Giderek artan ilgi çeken bir yaklaşım, *H. pylori*'yi yok etmek için probiyotiklerin rejimlerle birlikte kullanılmasıdır. Beklenen fayda iki yönlüdür: ortadan kaldırılmasının artırılması ve tedaviye bağlı yan etkilerin ortaya çıkmasının önlenmesi yoluyla tolere edilebilirliğin artırılması. Probiyotiklerin *H. pylori*'nin yok edilmesi üzerindeki olası yararlı etkisinin patojenik temeli henüz açıklığa kavuşturulmamıştır, ancak mukozal bariyerin gücü,

yapışma için rekabet ve immünomodulator mekanizmalar dahil olmak üzere bazı hipotezler öne sürülmüştür. Son yıllarda farklı çalışmalarda probiyotikler standart veya yeni rejimlere ek olarak kullanılmış ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir (Papastergiou *et al.* 2014). Farklı tek veya çoklu tür bileşikler değerlendirilmiş olmasına rağmen, şu anda *Saccharomyces boulardi* (OR=1,13; %95CI: 1,05-1,21) veya *Lactobacillus* spp. kullanımını destekleyen kanıtlar mevcuttur. *Lactobacillus* içeren ve *Bifidobacterium* içeren takviyenin etkisini değerlendiren en son analizde, probiyotik takviyesi ile havuzlanmış olasılık oranı (ITT) yok etme için 2,066 (%95CI: 1,398-3,055) ve 0,305 (%95CI: 0,117) olarak bulunmuştur. İlginç bir şekilde, yan etkilerin önlenmesi açısından probiyotik kullanımı, özellikle tekrarlayan enfeksiyonu olan veya gastrointestinal antibiyotiğe bağlı yan etki geçmişi olan hastalar olmak üzere yalnızca bir hasta alt grubunda anlamlı olabilir. *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde probiyotiklerin rolünü netleştirmek, rejimleri standartlaştırmak ve maliyet etkinliğini değerlendirmek için daha fazla veri beklenmektedir (Papastergiou *et al.* 2014).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmaya yaşları 5 ile 60 arasında değişen 150 kişi (70 kadın ve 80 erkek) dahil edilmiştir. Hastalar 1 Ekim-1 Nisan 2023 tarihleri arasında Samawah şehrindeki Al-Hussein Eğitim Hastanesi gastroenteroloji ünitesine başvurmuştur. Antrumun şiddetli iltihaplı bölgelerinden üç biyopsi alınmıştır. Tek bir biyopsi, üre ve DupA genini tespit etmek üzere Ultra Hızlı Üreaz testi ve moleküler analizler için kullanılmıştır. Yedi farklı antibiyotik türü için duyarlılık testi yapılmıştır. Diğer biyopsi örnekleri, TNF alfa ve CD54'ü tespit etmek üzere immünohistokimyasal (IHC) boyama testleri için histolojik değerlendirme amacıyla parafine gömülü doku blokları hazırlamak üzere %10 formal tamponlu salin ile fikse edilmiştir. Ayrıca endoskopiden sonra her hastadan *H. pylori*'ye karşı IgG antikor testleri; serum gastrin-17 ve (serum interlökin-6,10 ve interlökin-8) tespiti için kan örneği alınmıştır. Moleküler testler 20 biyopside ureB ve dupA genlerini tespit etmek için yapılmıştır. Bu çalışmada, *H. pylori* ile ilişkili gastritteki histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için histolojik çalışma yapılmıştır. Enfekte ve enfekte olmayan biyopsi örnekleri arasında mide mukozasında PMNC'ler ve MNC'ler de test edilmiştir.

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan cihazlar Çizelge 3.1'de, kimyasallar ise Çizelge 3.2'de listelenmiştir.

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihaz	Şirket (Menşei)
Otoklav	Hirayama Şirketi, Japonya
Santrifüj	Gallenkamp (İngiltere)
Damıtma cihazı	Gallenkamp (İngiltere)
Elektrikli fırın	Gallenkamp (İngiltere)
Endoskop ve forseps	Olympos (Japonya)
Kuluçka makinesi	Memmert, Almanya
Işık mikroskobu	Olympos (Japonya)
Mikrotom	Leitz (Almanca)
Parafin dağıtıcı	Lipshow (ABD)
pH ölçer	Orient research ABD)
Spektrofotometre	Hitachi (Japonya)
Boyama aleti	Shandon southern (İngiltere)

Çizelge 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar (Devam)

Cihaz	Şirket (Menşei)
Doku işlemcisi	Shandon southern (İngiltere)
Vorteks	Labco (Almanya)
Su banyosu	Gallenkamp (İngiltere)
ELISA yıkayıcı	Organon teknika (Avusturya)
ELISA okuyucu	Organon teknika (Avusturya)
Kamera	Sony (Japonya)
Santrifüj	Tuiup (İtalya)
Hassas Terazı	Sartorius (Almanya)
Bileşik Işık mikroskobu	Genex (ABD)
Fırın	Memmert (Almanya)
Brülör	Shndon (İngiltere)
Histokinat	Leitz (Almanya)
Mikrotom	Leitz (Almanya)
Mikro pipetler 5-50,0,5-10,100-1000 µL	Gillson Instruments (Fransa)
Çok kanallı mikropipet haznesi	SIAMED (Almanya)
Çalkalayıcı	TKA (İtalya)
Yazıcı	LX -400-UK Epson (İngiltere)
Ultraviyole transelumanter	Ecx-ism (İngiltere)
Yatay elektroforez	Shandon scientific CO (UK)
Soğutmalı santrifüj	Hettich (Almanya)
Epindroff tüpleri	Sterellin Ltd (İngiltere)
PCR tüpleri	Sterellin Ltd (İngiltere)
Mikro santrifüj	Hettich (Almanya)
Su damıtma	Lab tech (Kore)
Sıcak plaka karıştırıcı	La tech (Kore)
Termo döngüleyici aparat	MWG Biyoteknoloji (Almanya)

Çizelge 3.2 Çalışmada kullanılan kimyasallar

No	Kimyasal	Şirket	Menşei
1	İyot (%10)	Al Ansar	Suriye
2	McFarland'ın çözümü	BDH	İngiltere
3	Sodyum azid	Fluka	İngiltere
4	Etanol %95	BDH	İngiltere
5	Yağa daldırma	BDH	İngiltere
6	Formalin	BDH	İngiltere
7	Fizyolojik normal salin	Alfaiha	Ürdün
8	Etanol	BDH	İngiltere
9	İzopropanol	Sigma	ABD
10	Agaroz	difco	UAS
11	TBE tamponu	BioBasic	Kanada
12	Kırmızı güvenli boya	Conda	ABD
13	6X Boya yükleme	Intron	Kore
14	Markör (100bp)	Intron	Kore
15	Etanol	BDH	İngiltere

3.2 Antibiyotik Duyarlılık Testi

Yedi farklı antibiyotiğe yönelik antibiyotik duyarlılık testinin yapılabilmesi için Kirby-Bauer yöntemi takip edilmiştir. Bakteri süspansiyonu, orijinal kültürden 1-2 izole bakteri kolonisinin toplanması ve 4 mL normal salin içeren bir test tüpüne yerleştirilmesiyle hazırlanmıştır. Burada daha önce hazırlanan standart bulanıklık çözeltisine kıyasla orta düzeyde bulanıklığa sahip bir bakteri süspansiyonu elde edilmiştir. Steril bir pamuklu çubuk kullanılarak bakteriyel süspansiyonun bir kısmı dikkatlice aktarıldıktan sonra Mueller-Hinton agar ortamına eşit şekilde yayılmış ve daha sonra 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra antimikrobiyal diskler agarın üzerine steril forseps ile sıkıca bastırılarak agarla teması sağlanacak şekilde yerleştirilmiştir. Plakalar daha sonra ters çevrilerek ve 37°C'de 18-24 saat süreyle inkübe edilmiştir. Disklerin etrafında gelişen inhibisyon bölgeleri, Clinical Laboratories Standards Institute'a göre bir metrik cetvel kullanılarak milimetre (mm) cinsinden ölçülmüştür. İzolat, Çizelge 3.3'te gösterildiği gibi standart inhibisyon bölgeleriyle karşılaştırıldığında belirli bir ilaca duyarlı, orta düzeyde veya dirençli olarak yorumlanmıştır.

Çizelge 3.3 Antibiyotik bölge çapına göre sınıflandırma standartları

No	Antibiyotik	Disk gücü (µg/disk)	Bölge çapı (mm)		
			Hassas	Orta	Dirençli
1	Klaritromisin	30	≥ 17	15-16	≤ 14
2	Metronidazol	20	≥ 21	18-20	≤ 17
3	Amoksisilin	30	≥ 18	15-17	≤ 14
4	Tetrasiklin	30	≥ 23	15-17	≤ 14
5	Rifabutin	10	≥ 21	14-20	≤ 13
6	Levofloksasin	18	≥ 15	15-17	≤ 14
7	Norfloksasin	10	≥ 19	16-18	≤ 15

Bu çalışmada kullanılan ticari kitler Çizelge 3.4'te listelenmiştir.

Çizelge 3.4 Çalışmada kullanılan ticari kitler

No	Kit türü	Şirket	Menşei
1	PCR Ön karışım	İntron	Kore
2	G-spin DNA ekstraksiyon kiti	İntron	Kore
3	İnterlökin (6,10&8) ve TNF alfa kiti	Elabscience	Çin
4	<i>Helicobacter pylori</i> IgG antikoru ELISA Test Kiti,	Biohit Plc	Finlandiya.
5	İmmünohistokimyasal kit	Serotec, Ltd	Oxford, İngiltere

3.2.1 Kültür ortamları

Çizelge 3.5'te gösterilen kültür ortamı, bakteriyel izolatların izolasyonu ve tanımlanması için kullanılmıştır.

Çizelge 3.5 Bakteriyolojik ortam

Kültür ortamı	Şirket (Menşei)
Beyin-kalp infüzyon agarı	Biolif (İtalya)
Beyin-kalp infüzyon suyu	Biolif (İtalya)
Üre agar bazı	Oksoid (İngiltere)

Kültür Ortamı;

Bu çalışmada kullanılan besiyerleri üretici firma tarafından tavsiye edilen şekilde hazırlanmıştır, 121°C\15 dakika, 15 bar/in² altında otoklavlanmıştır, bu besiyerleri aşağıdakileri içermektedir:

Beyin-kalp infüzyon suyu: Üretim talimatına göre hazırlanmıştır. Çok çeşitli titiz organizmaları aktive etmek için kullanılır (MacFaddin 2000).

Triptikaz soya broth: Bakterilerin aktivasyonu için kullanılan üretim talimatına göre hazırlanmıştır (MacFaddin 2000).

Beyin-kalp infüzyon agarı: Bu besiyeri bakteriyel izolatların korunması için kullanılmıştır.

3.2.2 Çözeltiler, boyalar ve reaktifler

Gram boya çözümü: Dört çözeltiden oluşur ve Cowan (1977) tarafından tavsiye edildiği şekilde kullanılır.

Normal tuzlu su çözeltisi: MacFaddin (2000)'e bağlı olarak hazırlanmıştır.

McFarland'ın standart çözeltisi: Bu çözelti üretici firmaya göre hazırlanmıştır.

Çizelge 3.6 McFarland'ın standart çözeltisi

McFarland standardı	Yaklaşık hücre sayısı yoğunluğu ($\times 10^8$ hücre)
0,5	1,5
1,0	3,0
2,0	6,0
3,0	9,0
4,0	12,0

Histopatolojik inceleme için çözeltiler;

Nötr tamponlu Formalin %10: Eklenererek hazırlanan 10 mL %40 formaldehit, 100 mL damıtılmış su ile.

Eozin lekesi: 1 g Eozinin 99 mL %75 etanol içerisinde eritilmesiyle hazırlandı ve ardından süzüldü.

Hematoksilen lekesi: Çizelge 3.7'dekilerin karıştırılmasıyla hazırlanmıştır:

Çizelge 3.7 Hematoksilen lekesi bileşenleri

No	Karışım çözümü	Hacim
1	Hematoksilen lekesi	5g
2	Mutlak etanol	50 mL
3	Potasyum	100 gram
4	Aritılmış su	1000 mL
5	Civa oksit	2,5 gr

Ksilol: BDH, İngiltere tarafından sağlanmıştır.

Etanol: BDH, İngiltere tarafından sağlanmıştır.

Parafin: Merck, Almanya tarafından sağlanmıştır.

3.3 Örnekler

3.3.1 Kan örnekleri

Çalışılan tüm gruplardan 150 kan örneği toplanmıştır. Hastaların serumları *H. pylori* IgG antikorları ve farklı sitokinlerin (IL-6, IL-8, IL10, TNF- α) varlığı açısından taranmıştır. Kan örnekleri endoskopiden hemen sonra toplanmış ve 1500 rpm'de 15 dakika santrifüj edilmiştir; serumlar daha ileri analizler yapılana kadar -20°C'de saklanmıştır.

3.3.2 Biyopsi örnekleri

Elli biyopsi örneği toplanmıştır. Hastalardan endoskopi öncesinde bir gece aç kalmaları istenmiştir. Endoskopi lokal anestezi (ksilokain) altında yapılmıştır. Üst gastrointestinal endoskopiler Olympus GIF-XQ230 Video endoskopi ile aynı endoskopist tarafından ve standart biyopsi forsepsleri ile gerçekleştirilmiştir. Biyopsi forsepsleri su ile yıkanmış ve %2 glutaraldehit (cidex) ile 20 dakika süreyle dezenfekte edildikten sonra distile su ile yıkanmıştır. Her hastadan üç gastrik antral biyopsi örneği alınmıştır. Bir biyopsi örneği histolojik inceleme için %10'luk formal tampon salin içinde fikse edilmiş ve iki biyopsi bakteriyolojik inceleme için kullanılmıştır (Hızlı üreaz testi ve Kültür). İki biyopsi 0,5 mL beyin kalp infüzyon suyu içinde buzla birlikte laboratuvara taşınmış ve 4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.4 Yöntemler

3.4.1 Kültür ortamının hazırlanması

Besiyerleri, kaplarının üzerinde belirtilen talimatlara göre hazırlanmış, kaynama noktasına getirilerek tüm bileşenlerin tamamen çözünmesi sağlanmış, ardından pH 7,2'ye ayarlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavlanarak sterilize edilmiştir. Sterilitenin sağlanması için besiyerleri 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Besiyerlerinde kullanılan antibiyotikler 0,22 µm millipore filtre kullanılarak filtrasyon yoluyla sterilize edilmiştir.

Üre agar bazı;

Bu agar, 50°C'de 95 mL steril üre agar bazına 5 mL steril %40 üre çözeltisi eklenip iyice karıştırıldıktan sonra steril kaplara 5 mL'lik miktarlarda dağıtılarak hazırlanmış ve eğimli konumda ve serin bir yerde kapalı olarak bekletilmiştir.

3.4.2 Hızlı üreaz testi (RUT)

Bir biyopsi üre agar slantına inoküle edilmiş ve ardından 37°C'de 15 dakika ile 1 saat inkübe edilmiştir (Kearney 2003). Bakteri üreaz salgılayıp üreyi amonyağa hidrolize eder. Ortamın pH'ını yükselterek rengi değiştirir. Örnek, sarıdan pembeye renk değişimi açısından incelenmiştir (Koelz *et al.* 2003).

3.5 Virülans Genlerinin Moleküler Tespiti

3.5.1 DNA ekstraksiyonu

A) Biyopsiden bakteri DNA ekstraksiyonu: G-spin DNA ekstraksiyon kiti, intron biyoteknoloji (Çizelge 3.8).

Çizelge 3.8 G-spin DNA ekstraksiyon kiti içeriği

İçindekiler	Hacim (50 Sütun)
Tampon CL	25 mL
Tampon BL	25 mL
Tampon WA	40 mL
Tampon WB	10 mL
Tampon CE	20 mL
Döndürme Kolonu / Toplama Tüpü	50 adet
RNase A (Liyofilize toz)	3 mg x 1 flakon
Proteinaz K (Liyofilize toz)	22 gx 1 şişe

Prosedür:

- 25 mg öğütülmüş doku örneğini ölçülür ve ardından bir spatula kullanarak 1,5 mL'lik tüpe aktarılır.
- Örnek tüpüne 200 µL Tampon CL, 20 µL Proteinaz K ve 5 µL RNaz A Çözeltisi eklenir ve kuvvetlice vorteksleyerek karıştırılır.
- Lizatı 56°C'de (önceden ısıtılmış ısı bloğu veya su banyosu) 10~30 dakika inkübe edilir.
- Tamamen parçalandıktan sonra, üst numune tüpüne 200 µL Tampon BL eklenir ve iyice karıştırılır. Ardından karışımı 70°C'de 5 dakika inkübe edilir.
- Lizislenmemiş doku partiküllerini uzaklaştırmak için numune tüpünü 13.000 rpm'de 5 dakika santrifüjlenir. Ardından 350 ~ 400 µL süpernatantı dikkatlice yeni bir 1,5 ml tüpe (sağlanmamıştır) aktarılır.
- Lizata 200 µL mutlak etanol ekleyin ve 5-6 kez hafifçe ters çevirerek veya pipetleyerek iyice karıştırılır. Vortekslenmez. Karıştırdıktan sonra, kapağın içindeki damlaları çıkarmak için 1,5 mL'lik tüpü kısaca santrifüjlenir.
- Adım 6'daki karışımı dikkatlice Sıkma Kolonuna (2 mL Toplama Tüpü içinde) kenarı ıslatılmadan uygulanır, kapağı kapatılır ve 1 dakika boyunca 13,000 rpm'de santrifüjlenir. Süzüntü atılır ve Sıkma Kolonunu 2 ml'lik bir Toplama Tüpüne yerleştirilir.
- Ağız kısmını ıslatmadan 700 µL Tampon WA'yı Döndürme Kolonuna eklenir ve 13,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir. Akış suyu atılır ve Toplama Tüpünü yeniden kullanılır.

- Döndürme Kolonuna 700 µL Tampon WB'yi ağız kısmı ıslatmadan eklenir ve 13,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir. Akış suyunu atılır ve Kolonu 2,0 mL'lik bir Toplama Tüpüne yerleştirilir (yeniden kullanın), Ardından membranı kurutmak için tekrar 1 dakika daha santrifüjlenir. Akış suyunu ve Toplama Tüpünü tamamen atılır.
- Döndürme Kolonunu yeni bir 1,5 mL'lik tüpe (birlikte verilmez) yerleştirilir ve 30-100 µL Tampon CE'yi doğrudan membranın üzerine konur. Oda sıcaklığında 1 dakika inkübe edilir ve ardından elüsyon 13,000 rpm'de 1 dakika santrifüjlenir.

B) DNA'nın agaroz jel elektroforezi: Ekstraksiyon işleminden sonra DNA parçalarını belirlemek veya PCR'nin Agaroz jel üzerindeki etkileşimi sonucunun paket boyutunu ayırt etmek için standart DNA'nın varlığı sırasında PCR etkileşiminin sonucunu tespit etmek için elektroforez yapılmıştır.

Agaroz jelinin hazırlanması;

Sambrook *et al.* (1989)'a göre agaroz jel, 1,5 g agarozun önceden hazırlanmış 100 mL TBE tamponunda eritilmesiyle %1,5 kondansasyonda yapılmıştır. Agaroz kaynama noktasına kadar ısıtıldıktan sonra (45-50°C)'de soğumaya bırakılmıştır. Jel, örnekleri tutacak delikler açmak için tarak sabitlendikten sonra agaroz destek plakasının hazırlandığı dökme plakasına dökülmüştür. Jel hava kabarcığı oluşturmayacak şekilde nazikçe dökülmüş ve soğuması için 30 dakika bekletilmiştir. Tarak, katı agarozdan nazikçe çıkarılmıştır. Plaka, Elektroforezde kullanılan tank ile temsil edilen Elektroforez yatay ünitesindeki standına sabitlenmiştir. Tank, jel yüzeyini kaplayacak şekilde TBE tamponu ile doldurulmuştur.

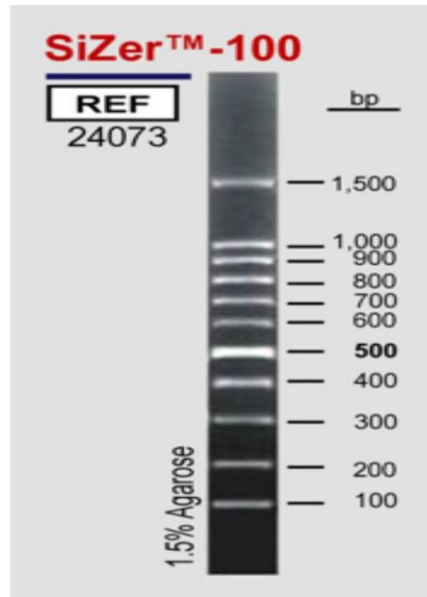
Numunenin hazırlanması;

3 µL işlemci yükleme tamponu (Intron/Kore) ile 5 µL elektroforez yapılacağı varsayılan DNA (yükleme boyası) karıştırılmış, karıştırma işleminden sonra jelin deliklerine yükleme işlemine geçilmiştir. Tentür jelin diğer tarafına ulaşana kadar 1-2 saat boyunca 7 v/cm²'lik bir elektrik akımına maruz bırakılmıştır. Jel, 30µl Red safe Nükleik asit boyama

solüsyonu ve 500 mL distile su içeren bir havuza konulduktan sonra 336 nm'lik bir UV kaynağı ile test edilmiştir.

RedSafe Nükleik asit boyama solüsyonu;

RedSafe Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (20,000x), agaroz jellerde nükleik asidi tespit etmek için geleneksel etidyum bromür (EtBr) boyasına alternatif olan yeni ve güvenli bir nükleik asit boyasıdır. DNA veya RNA'ya bağlandığında yeşil floresan yayar. Bu yeni boyanın nükleik aside bağlandığında biri 309nm'de diğeri 419nm'de olmak üzere iki floresan eksitasyon maksimi vardır. Buna ek olarak, 514nm'de bir görünür eksitasyona sahiptir. DNA'ya bağlı Red Safe'in floresan emisyonu 537nm'de merkezlenir. RedSafe Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (20,000x) EtBr kadar hassastır. Red Safe Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (20,000x) için boyama protokolü EtBr için olana benzer. Güçlü bir mutajen olarak bilinen EtBr ile karşılaştırıldığında, Red Safe Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (20,000x) Ames testinde çok daha az mutasyona neden olur. Ayrıca, Res Safe Nükleik Asit Boyama Solüsyonu (20,000x) fare iliği kromofil eritrosit mikronükleus testinde ve fare spermatosit kromozomal aberasyon testinde pozitif sonuç verir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 SiZer DNA işaretleyicileri (intron)

3.5.2 Virülans genleri için PCR reaksiyonu

Etkileşimde kullanılan primerler: Primerler liyofilize edildikten sonra, stok çözelti olarak 100 pmol/μL'lik bir nihai konsantrasyon verecek şekilde serbest ddH₂O içinde çözülmüştür. 10 μL stok çözelti 90 μL serbest ddH₂O suyun nihai hacmi 100 μL olacak şekilde hazırlanmıştır (Çizelge 3.9).

Çizelge 3.9 ureB geninin spesifik primeri

Primer		(°C)	(%)	Ürün boyutu
İleri	5'-AGTAGCCCGGTGAACACAACATCCT-3'	62,0	52,0	645bp
Ters	5'-ATGCCTTTGTTCATAAGCCGCTTGG-3'	60,2	50,0	

Maxime PCR PreMix kiti (i-Taq) 20μLrxn (Kat. No. 25025):

iNtRON'un Maxime PCR PreMix Kiti, deneyim amacına göre sadece çeşitli PreMix Kit türlerine değil, aynı zamanda 2X Master karışım çözeltisine de sahiptir. Maxime PCR Pre Mix Kit (i-Taq), 1 rxn PCR için tek bir tüpte i-Taq DNA Polimeraz, dNTP karışımı, reaksiyon tamponu ve benzeri her bileşenin karıştırıldığı üründür. Bu, en uygun sistemle en iyi sonucu alabilen üründür. İlk neden, PCR için her bileşene sahip olmasıdır, bu nedenle PCR'yi sadece bir şablon DNA, primer seti ve DW ekleyebiliriz. İkinci neden, elektroforez yapmak için Jel yükleme tamponuna sahip olmasıdır, böylece herhangi bir işlem yapmadan jel yüklemesi yapabiliriz. Hızlı ve basit kullanım yöntemi ile çeşitli numune deneyimleri için uygundur (Çizelge 3.10).

Çizelge 3.10 Maxime PCR PreMix kitinin (i-Taq) Bileşenleri

Bileşenler	Hacim
i-Taq DNA Polimeraz	5U/μL
DNTP'ler	2,5 mM
Reaksiyon tamponu (10X)	1X
Jel yükleme tamponu	1X

3.5.3 Gen Tanısı

Teşhis geni için spesifik etkileşimin karışımı Çizelge 3.11’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.11 Teşhis geni için spesifik etkileşimin karışımı

Bileşenler	Konsantrasyon
Taq PCR Ön Karışımı	5 µL
İleri primer	10 pikomol/µL (1 µL)
Ters primer	10 pikomol/µL (1 µL)
DNA	1,5 µL
Damıtılmış su	16,5 µL
Son hacim	25 µL

Bu koşulu elde etmek için birkaç deney yapıldıktan sonra (İlk denatürasyon ve tavlama) için en uygun koşul belirlenmiş, en uygun koşulu seçmek için tüm örnekler için (Gradient PCR) çalışmasıyla sıcaklık değiştirilmiş ve ayrıca DNA şablonu için konsantrasyon (1,5-2 µL) arasında değiştirilmiştir, burada bu iki faktör tamamlayıcı ile primer tavlamasında önemli faktörlerden kabul edilmiştir (Çizelge 3.12) (Çizelge 3.13).

Çizelge 3.12 Optimum tespit koşulu

No	Faz	Sıcaklık (°C)	Zaman	Döngü sayısı
1	İlk Denatürasyon	94°C	3 dakika	1 döngü
2	Denatürasyon -2	94°C	45 saniye	35 döngü
3	Tavlama	58°C	45 saniye	
4	Uzantı-1	72°C	45 saniye	
5	Uzantı -2	72°C	7 dakika	1 döngü

Çizelge 3.13 dupA geninin spesifik primer

Primer	Sekans	Sıcaklık (°C)	GC (%)	Ürün boyutu
İleri	5'-TGAGCGTGGTAGCTCTTGAC-3'	56,9	55,0	584
Tersi	5'-GAGCGCGTTAGCGATATAGG-3'	55,3	55,0	bp

3.5.4 Serumda *H. pylori*'ye karşı insan IgG antikorunun ölçümü için enzime bağlı immünosorbant testi

Testin prensibi;

Test, mikrowell plakaya adsorbe edilmiş saflaştırılmış *H. pylori* bakteriyel antijeni ve horseradish peroksidaz (HRP) ile işaretlenmiş tespit antikoruna göre ilerler: polistiren yüzeye bağlanan saflaştırılmış *H. pylori* bakteriyel antijeni insan serumunda bulunan *H. pylori* IgG antikorlarını bağlar. Daha sonra mikro kuyu, kalan numuneyi ve spesifik olarak bağlanmamış proteini uzaklaştırmak için yıkanır. Horseradish peroksidaz (HRP)-konjuge monoklonal anti-insan IgG, *H. pylori* antikorlarına bağlanır. Kuyucuklar yıkanır ve içlerine substrat eklenir. Substrat enzim tarafından oksijenlenir ve mavi renkli son ürün üretilir. Son olarak, enzim reaksiyonu durdurma çözeltisi ile sonlandırılır. Oluşan rengin yoğunluğu doğrudan numunedeki *H. pylori* IgG antikor konsantrasyonu ile ilişkilidir.

Test prosedürü;

- Tüm reaktiflerin oda sıcaklığına (20-25°C) ulaşması sağlanmıştır.
- Karıştırma işleminden sonra boş çözüldiden, kalibratörlerden, kontrolden ve seyreltilmiş (1 ile 200) hasta numunelerinden 100 µL kuyucuklara pipetlenir, 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
- 350 µL seyreltilmiş yıkama tamponu ile 3 kez yıkanır.
- Kuyucuklara 100 µL seyreltilmiş (1-100) ve karıştırılmış konjugat çözeltisi eklenir, ardından 37°C'de 30 dakika inkübe edilir.
- 350 µL seyreltilmiş yıkama tamponu ile 3 kez yıkanır.
- Kuyucuklara 100 µL karışık substrat çözeltisi eklenir, oda sıcaklığında (20-25°C) 30 dakika inkübe edilir.
- Kuyucuklara 100 µL karışık durdurma çözeltisi eklenir.
- 30 dakika içinde 450 nm'de okuma yapılır.

Sonuçlar;

Negatif<34 EIU

Sınırdaki 34-42 EIU (kesme 38 EIU)

Pozitif>42 EIU

3.6 İnterlökin-6, 8, 10 ve TNF-Alfa Tahlil Prosedürü

Gerekli sayıda şerit seçilerek tutma çerçevesine yerleştirilir.

- Her bir Kalibratör, Kontrol ve Numuneden 50 µl uygun kuyucuklara pipetlenmiştir.
- Tüm kuyucuklara 50 µL anti-IL2,6,8,10 ve TNF-alfa-HRP konjugatı pipetlenmiştir ve plaka yatay bir çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyudan sıvı aspire edilmiş ve ardından plaka 3 kez yıkanmıştır:
 - Her bir kuyucuğa 0,4 mL Yıkama Solüsyonu dağıtılmıştır.
 - Her bir kuyucuğun içeriğinin aspire edilmiştir.
- Taze hazırlanmış Kromojenik Solüsyondan 200 µl her bir kuyucuğa pipetlenmiştir. Daha sonra mikrotitre plakası yatay bir çalkalayıcı üzerinde oda sıcaklığında 15 dakika inkübe edilmiştir.
- Her bir kuyucuğa 50 µL Durdurma Solüsyonu pipetlenmiştir.
- Optik yoğunluk (O.D) 450 nm absorbans değerinde 3 saat içinde bir mikroparka ELISA okuyucu ile okunmuş ve sonuçlar hesaplanmıştır.

3.7 İmmünohistokimya Testi

- Lamların fırınlanması: Lamlar, doku kesitinin altında sıkışan nemin parafinin erimesi ve su damlacıklarının buharlaşmasıyla tamamen ortadan kalkmasını sağlamak için bir kurutma fırınında (sıcak hava fırını) 56°C'de bir gece boyunca dikey konumda yerleştirilmiştir.

- Doku kesitlerinin deparafinlenmesi: Lamlar, oda sıcaklığında aşağıdaki çözeltilerin her birinden yaklaşık 200 mL'çeren belirtilen kaplara sırayla daldırılmıştır.
- Antijen geri kazanımı: Lamlar distile suyla yıkanır ve antijen alma solüsyonu içeren mikrodalgaya dayanıklı plastik boyama kavanozuna yerleştirilir. Lamların solüsyonla tamamen kaplandığından emin olunmalıdır. Mikrodalga fırını 5 dakika boyunca yüksek güçte (~700 watt) çalıştırılır. Lamların hala geri kazanım solüsyonu ile kaplı olduğundan emin olunur veya taze solüsyon eklenir ve mikrodalga tekrarlanır. Bu işlem 2-3 kez tekrarlanabilir. Lam banyosu mikrodalga fırından çıkarılır. Lamlar banyoda oda sıcaklığında 20-30 dakika soğumaya bırakılır. Birkaç kez damıtılmış su ile durulanır. Lamlar 5 dakika boyunca damıtılmış su kavanozuna yerleştirilir.
- Peroksidaz bloğu: Fazla sıvı hafifçe vurularak alınır. Emici mendiller kullanarak, kalan sıvı giderilir ve reaktifler öngörülen alan içinde tutmak için numunenin etrafı dikkatlice silinir. Numune kaplanacak kadar Hidrojen Peroksit uygulanır, ardından lamlar nemli odaya yerleştirilir ve oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübe edilir, ardından lamlar bir yıkama şişesinden distile su ile nazikçe durulanır (akışı doğrudan dokuya odaklamayın) ve taze tampon banyosuna yerleştirilir.
- Fazla sıvı alınır ve lamları daha önce olduğu gibi silinir. Örneği kaplayacak kadar protein bloke edici reaktif uygulanır, ardından lamlar oda sıcaklığında 5-10 dakika inkübe edilir.
- Lamlar nemli odaya yerleştirildikten sonra numuneyi kaplayacak kadar seyreltilmiş Primer Antikor uygulanır ve ardından 37°C'de 1 saat inkübe edilir. Bir yıkama şişesi tampon çözeltisi ile nazikçe durulanır (akışı doğrudan doku üzerine odaklamayın) ve 2 dakika boyunca taze PBS-Tween banyosuna yerleştirilir.
- Numuneyi kaplayacak kadar Biotinlenmiş Link (ikincil antikor) uygulanır, ardından slaytlar nemli odaya yerleştirilir, 37°C'de 1 saat inkübe edilir, ardından slaytlar durulanır ve silinir.
- Örneği örtmek için yeterli miktarda streptavidin-HRP uygulanır, lamlar nemli odaya yerleştirilir, 37°C'de 1 saat inkübe edilir ve ardından lamlar daha önce olduğu gibi durulanır ve silinir.
- DAB kromojen solüsyonu taze olarak hazırlanır. Örneği kaplayacak kadar damla uygulanır; lamlar karanlıkta oda sıcaklığında 20 dakika inkübe edilir. Daha sonra lamlar bir yıkama şişesinden distile su ile nazikçe durulanır.

- Hematoksilen karşı boyası kullanılmadan önce süzülür, ardından lamalar oda sıcaklığında 1 dakika boyunca Hematoksilen banyosuna daldırılır. Daha sonra lamalar distile su ile nazikçe durulanır.
- Kesitler, lamalar sırayla daldırılarak dehidrate edilir.
- Ksilen ile ıslatılmış kesitlerin üzerine iki damla DPX uygulanır ve kesitler hızlıca Örtü Klipsleri ile kapatılarak gece boyunca kurumaya bırakılır.

CD54 için İmmünboyamanın değerlendirilmesi;

Slayt değerlendirmesi ışık mikroskobu kullanılarak yapılmıştır. İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi ve skorlama için 10X objektif ile 10 alan uygun bulunmuştur. Skorun doğrulanması için 40X objektif büyütme kullanılması faydalı olmuştur.

CD54 ekspresyonu skorlama sistemi ile ölçülmüştür. CD54 ekspresyonu için hücrelerin pozitifliği kahverengi boyanma olarak görülmüştür. CD79 için pozitif boyanan hücrelerin dört derecesi olarak derecelendirilmiştir (Çizelge 3.14).

Çizelge 3.14 Skorlama sistemi

No	Skor	Pozitif Hücreler
1	0	<%10
2	1+	%10-25
3	2+	%25-50
4	3+	%50-75
5	4+	>%75

3.7.1 TNF-alfa için immünboyamanın değerlendirilmesi

Slayt değerlendirmesi ışık mikroskobu kullanılarak yapılmıştır. İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesi ve skorlama için 10X objektif ile 10 alan uygun bulunmuştur. Skorun doğrulanması için 40X objektif büyütme kullanılması faydalı olmuştur.

TNF-alfa ekspresyonu skorlama sistemi ile ölçülmüştür. TNF-a ekspresyonu için hücrelerin pozitifliği kahverengi boyanma olarak görülmüştür. TNF-alfa için pozitif olan plasenta dokusu 3, (%75-100); 2, (%2-7) ve 1, (<%25) olarak derecelendirilmiştir (Lindholm *et al.* 1998).

3.8 İstatistiksel Analiz

İstatistiksel çalışma, sosyal bilimler için istatistik paketi (SPSS 19) ve farklı gruplar arasındaki istatistiksel farklılıkları belirlemek için Ki-kare (χ^2) testi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



4. BULGULAR

Bu çalışma için yaşları 5 ile 60 arasında değişen 150 hastadan örnek alınmıştır. *Helicobacter pylori* ile enfekte olanların sayısı 86'dır. Antrumun şiddetli iltihaplı bölgelerinden üç biyopsi alınmıştır. Çalışmamızda *Helicobacter pylori*'ye karşı klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, florokinolon (levofloksasin, norfloksasin), tetrasiklin ve rifabutin gibi 7 farklı antibiyotik için duyarlılık testi yapılmıştır. Klaritromisin, metronidazol ve amoksisiline karşı direnç artmış, diğer antibiyotikler ise orta düzeyde direnç göstermiştir. Biyopsilerden biri Ultra Hızlı Üreaz testi, ure ve DupA geninin tespiti için moleküler analizler için kullanılırken, diğer biyopsi örnekleri histolojik değerlendirme için parafine gömülü doku blokları hazırlamak, TNF alfa ve CD54'ü tespit etmek ve immünohistokimyasal (IHC) boyama testleri için %10 formal tamponlu salin ile sabitlenmiştir. Ayrıca endoskopi sonrasında her hastadan *H. pylori*'ye karşı IgG antikor testleri; serum gastrin-17 ve (serum interlökin-6,10 ve interlökin-8) tespiti için kan örneği alınmıştır. Sonuçlarımız 150 hastadan sadece 85'inin (%56,66) *H. pylori* ile enfekte olduğunu göstermektedir. UreB ve dup A genlerinin tespiti için 20 biyopside yapılan moleküler testler, sadece 13 örneğin ureB geni için ve 9 örneğin dup A geni için pozitif olduğunu göstermiştir. Bu çalışmada, *H. pylori* ile ilişkili gastritteki histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için histolojik çalışma yapılmıştır. *H. pylori* testi pozitif çıkan tüm kişilerde kronik aktif gastrit gözlenmesinin yanı sıra, *H. pylori* ile enfekte kişilerde gastrik enfeksiyon patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülen çok sayıda inflamatuvar infiltrasyon yapan lenfosit ve nötrofil bulunmuştur. *H. pylori* ile ilişkili gastritin sınıflandırılması, inflamatuvar aktivitenin derecesini değerlendirmek için güncellenmiş Sydney sistemi kullanılmıştır. *H. pylori* pozitif ve negatif hastalar arasında kronik inflamasyon, atrofik gastrit ve yüzeysel epitel hasarı açısından anlamlı bir fark ($P<0,005$) belirlenmiştir. Ayrıca, bu çalışmada, *H. pylori* ile enfekte hastalarda gastritin şiddetini tespit etmek için IL-10,6,8 ve TNF alfa seviyesi enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) ile ölçülmüştür. Sonuçlar, sağlıklı bireylere kıyasla etkilenen hastalarda IL-10 hariç IL-6,8 ve TNF alfa ekspresyonunun daha yüksek olduğunu göstermiştir. Biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal çalışmasına göre, etkilenen bireylerde CD54 ve TNF alfa ekspresyonunda artış gözlenmiştir. Enfekte ve enfekte olmayan biyopsi örnekleri arasında mide mukozasında TNF alfa ve IL-6'nın yanı sıra PMNC'ler ve MNC'lerin

artmış lokal varlığı ile ilişkili olarak CD54 ve TNF alfa ekspresyonunda anlamlı bir fark tespit edilmiştir (P=0,005).

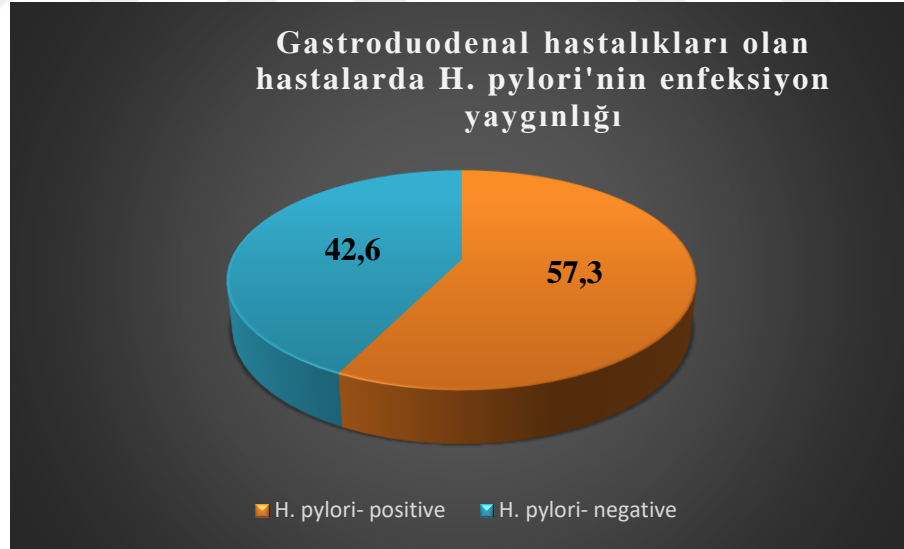
4.1 Gastroduodenal Hastalarda *H. pylori*'nin Tespiti

4.1.1 Bakteriyolojik ve histolojik çalışma

H. pylori enfeksiyonu 150 hastanın 86'sında (%57,3) tespit edilirken, *H. pylori* bulunmayan hasta sayısı 64'tür (%42,6) (Çizelge 4.1) (Şekil 4.1). Aradaki fark anlamlı olup $p < 0,05$ 'tir.

Çizelge 4.1 Gastroduodenal hastalığı olan hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun prevalansı

<i>H. pylori</i> durumu	Gastroduodenal hastalık sayısı
<i>H. pylori</i> -pozitif	86 (%57,3)
<i>H. pylori</i> -negatif	64 (%42,6)



Şekil 4.1 Gastroduodenal hastalığı olan hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun prevalansı

4.2 Yaş Gruplarına göre Hastalarda *H. pylori* Enfeksiyonu Görülme Sıklığı

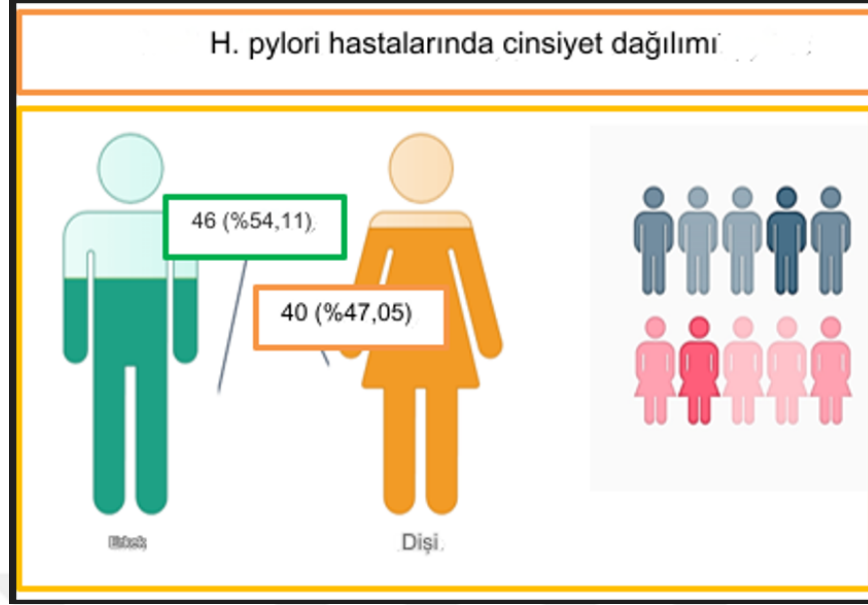
40-50 yıl (5-60 yıl arası) yaş grubunda *H. pylori* görülme sıklığı daha yüksek iken 5-10 yıl yaş grubunda daha düşük değerler almıştır. İki grubun ortalama yaşı arasında $p<0,01$ düzeyinde anlamlı fark görülmüştür (Şekil 4.2).



Şekil 4.2 Yaş gruplarına göre hastalarda *H. pylori* enfeksiyonu görülme sıklığı

4.3 *H. pylori* Enfeksiyonunun Cinsiyete göre Dağılımı

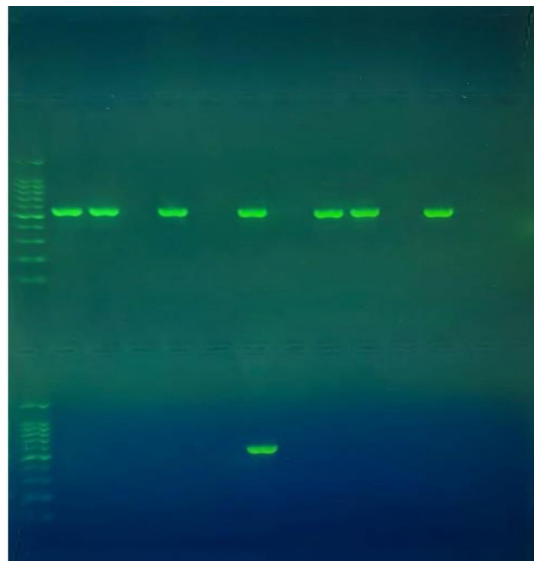
Sonuçlara göre 46 erkekte 46'sının (%54,11) *H. pylori* ile enfekte olduğu, 40 kadından 40'ının (%47,05) *H. pylori* pozitif olduğu görülmüştür. Kadın ve erkek arasında anlamlı fark $p<0,01$ olarak tespit edilmiştir. Bu araştırmada incelenen hasta sayısının az olmasına rağmen sonuç, *H. pylori* enfeksiyonunun kadın ve erkeklerdeki dağılımının enfeksiyondan eşit derecede etkilendiğini göstermiştir (Şekil 4.3).



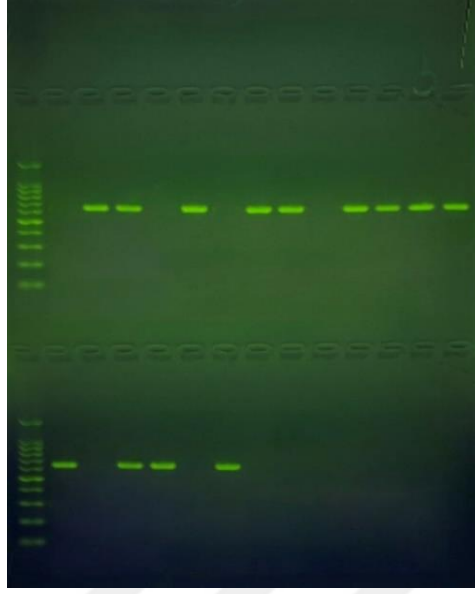
Şekil 4.3 *H. pylori* hastalarında cinsiyet dağılımı

4.4 *H. pylori* için Virülans Genlerinin Moleküler Tespiti

H. pylori hastalarının enfeksiyonu için akut vakalardan alınan 20 biyopsi örneğinin moleküler analizleri neticesinde 13 örneğin sadece ureB geni için pozitif olduğu, 9 örneğin ise sadece dupA geni için pozitif olduğu belirlenmiştir (Şekil 4.4) (Şekil 4.5) (Çizelge 4.2).



Şekil 4.4 PCR ürünü agaroz jel elektroforezi: bant büyüklüğü 584 bp



Şekil 4.5 PCR ürünü agaroz jel elektroforezi: bant büyüklüğü 645 bp

Çizelge 4.2 Virulans genleri için moleküler analizlerin sonuçları

Örnek	DNA Ekstraksiyonu	PCR Sonucu ureB 645 baz çifti	PCR Sonucu dupA 584 baz çift
1	+	-	+
2	+	+	+
3	+	+	-
4	+	-	+
5	+	+	-
6	+	-	+
7	+	+	-
8	+	+	+
9	+	-	+
10	+	+	-
11	+	+	+
12	+	+	-
13	+	+	-
14	+	+	-
15	+	-	-
16	+	+	-
17	+	+	-
18	+	-	-
19	+	+	+
20	+	-	-

4.5 *H. pylori* Enfeksiyonu ve Sitokin Üretimi

Mide dokusunda protein düzeyinde CD54 ve TNF- α ekspresyonunu belirlemek için immünohistokimya (IHC) gerçekleştirilmiştir. Bu testler, *H. pylori* pozitif olan (15'i duodenal ülserli ve 15'i kronik gastritli) 30 denekten alınan antral biyopsilerin formalinle sabitlenmiş ve parafin mumuna gömülmüş kesitleri üzerinde gerçekleştirilmiştir. Diğer 10 denek sağlıklı ve *H. pylori* ile enfekte değildir.

Dolaşımdaki IL-6, IL-10 ve TNF- α konsantrasyonunu belirlemek için enzim bağlantılı immünosorbant testi (ELISA) yapılmıştır. Bu test, 70'i *H. pylori* ile enfekte (30'u duodenal ülserli ve 35'i kronik gastritli) ve 10'u sağlıklı ve *H. pylori* ile enfekte olmayan 150 deneğin serumunda gerçekleştirilmiştir.

4.5.1 *H. pylori* ile enfekte olmuş ve enfekte olmamış hastalarda IHC ve ELISA tekniği ile IL-6, IL-10 ve TNF α proteinlerinin üretimi

CD54 ve TNF- α için immünohistokimyasal boyama, *H. pylori* ile enfekte hastalardan ve sağlıklı bireylerden elde edilen antral biyopsi örneği için gerçekleştirilmiştir. Bu, protein düzeyinde doku kesitlerinde sitokinlerin varlığını ve immüno lokalizasyonunu araştırmak için bir araçtır. Bu hücre içi sitokin boyanması ağırlıklı olarak hücrelerin sitoplazmasına lokalize olmuştur. Bazı durumlarda boyanma, sitokinin Golgi kompleksinde biriktiğini düşündüren ve boyanan hücrelerin aslında sitokin ürettiğini gösteren ajuxtannuclear pozisyon gösterir. Ortalama \pm SE ve p-değeri açısından IHC ile bu sitokinlerin yüzdesi. IL-6, IL-10 ve TNF- α için serum seviyeleri ELISA testi ile de ölçülmüştür.

Çizelge 4.3, CD54 ve TNF- α 'nin mukozal ekspresyonunu göstermektedir. Enfekte hastalarda TNF- α ve CD54 ekspresyonunun yüksek olduğu, enfekte olmayanlarda ise ekspresyonun olmadığı görülmektedir. Çizelge 4.4'de ELISA yöntemiyle ölçülen IL-6, IL-10 ve TNF- α 'nin dolaşımdaki serum seviyesi sunulmaktadır. Veriler IL-6'nın enfekte hastalarda 400,6 pg/mL, sağlıklı bireylerde 33,9 pg/mL olduğunu, IL-10'un 394,9 pg/mL'ye karşılık 389,2 pg/mL olduğunu ve bu iki grup arasında anlamlı bir fark

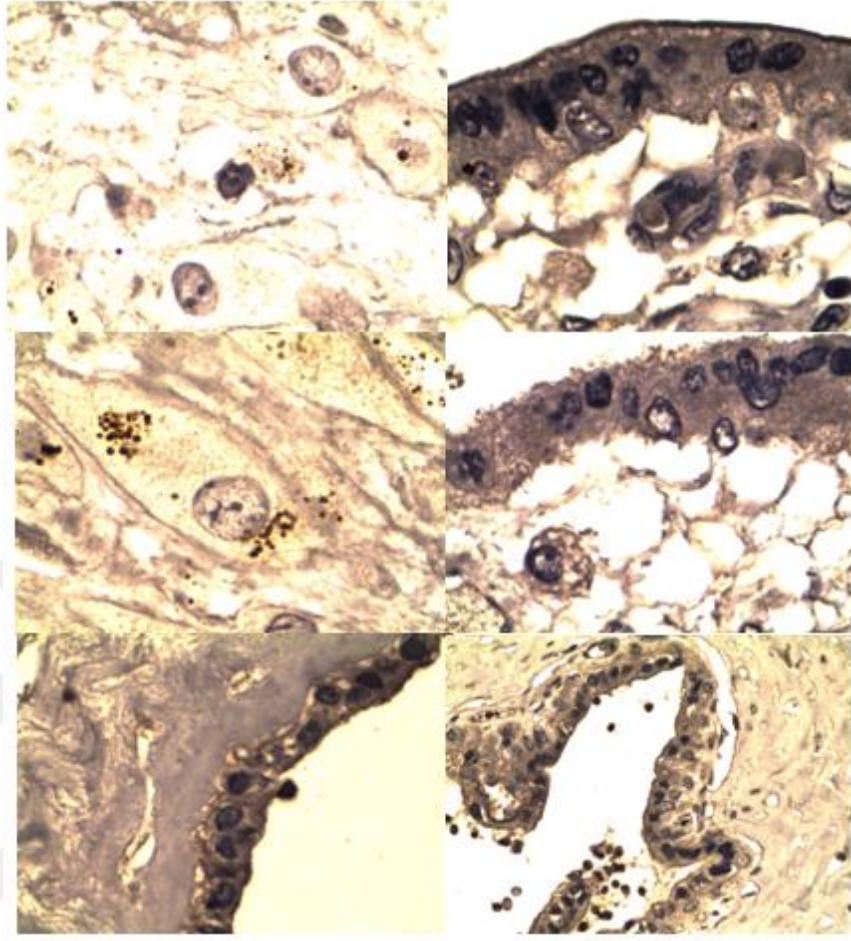
olmadığını göstermiştir. TNF- α 378,6 pg/mL'ye karşı 25,4/ml olarak belirlenmiştir ve tüm vakalarda anlamlı bir fark vardır ($p<0,001$) (Şekil 4.6).

Çizelge 4.3 *H. pylori* ile enfekte olmuş hastalarda ve IHC ile enfekte olmamış deneklerde sitokinlerin (IL-6, IL-8 ve TNF- α) ekspresyonu

Değişken	<i>H. pylori</i> durumu	Sayı	Ortalama \pm SE (%)	<i>p</i> değeri
CD54	Pozitif	30	29,1 \pm 1,6	<0,001
	Negatif	10	8,0 \pm 2,5	
TNF- α	Pozitif	30	28,5 \pm 1,5	<0,001
	Negatif	10	0,7 \pm 1,8	

Çizelge 4.4 *H. pylori* ile enfekte hastalarda ve ELISA yöntemiyle enfekte olmamış deneklerde sitokinlerin (IL-6, IL-10 ve TNF- α) serum düzeyi

Değişken	<i>H. pylori</i> durumu	Sayı	Ortalama \pm SE pg/mL	<i>p</i> değeri
IL-6	Pozitif	70	400 \pm 25,1	<0,001
	Negatif	10	33,9 \pm 3,2	
IL-8	Pozitif	70	700 \pm 89,1	<0,001
	Negatif	10	14,7 \pm 2,3	
TNF- α	Pozitif	70	378,6 \pm 37,8	<0,001
	Negatif	10	25,4 \pm 6,1	



Şekil 4.6 Antral gastritli hastalarda IL-6 ve TNF-a proteinlerinin immünohistokimyasal boyanması

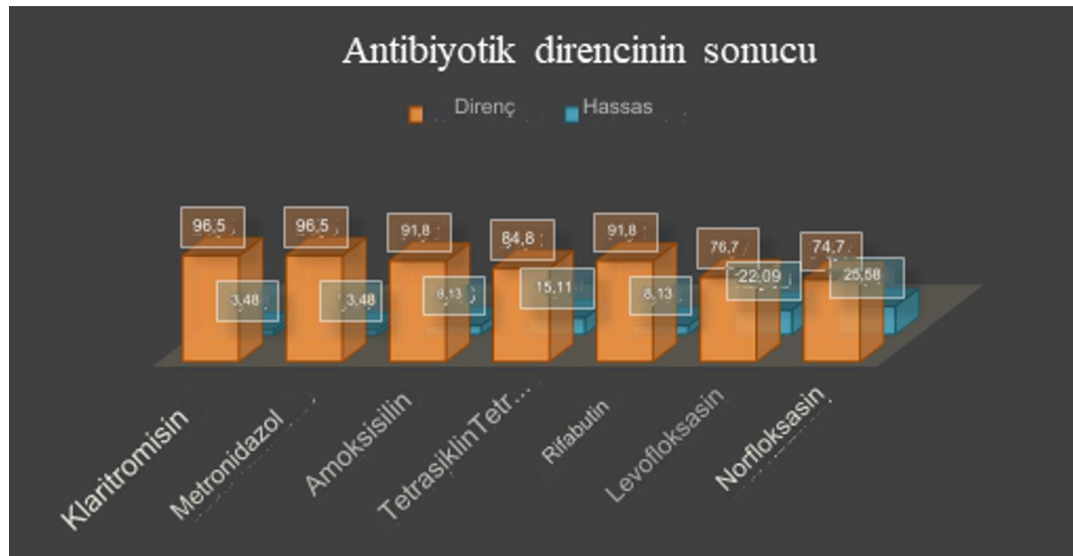
4.6 *H. pylori* Tedavisi

Birçok antimikrobiyal ilacın tedavisinin başarısı, asidik pH, biyofilm oluşumu gibi özel koşullar nedeniyle büyük ölçüde azalmaktadır ancak *H. pylori*'nin yok edilmesindeki başarısızlığın en önemli nedeni antibiyotik direncidir. Çalışmamızda *H. pylori* ile enfekte hastaların tedavisinde klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, fluorokinolon (levofloksasin, norfloksasin), tetrasiklin, rifabutın gibi *H. pylori*'ye karşı etkili birkaç antibiyotik kullanılmıştır. Klaritromisin ve metronidazol direncindeki artış endişe vericidir. *H. pylori*'nin etkili tedavisinin, 14 günlük bir süre boyunca iki veya daha fazla antimikrobiyalin yanı sıra mide salgısını azaltan bir salgı önleyici ilaç gerektirdiği kabul edilmektedir. En iyi tedavi antibiyotik seçeneği, duyarlı ve dirençli suşları belirleyen ilaç duyarlılık testiyle belirlenir.

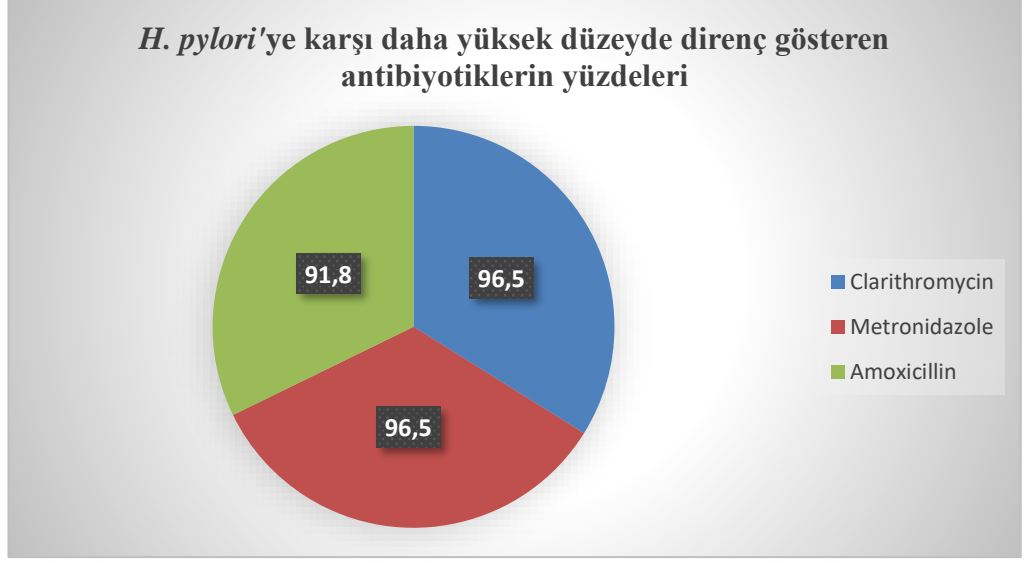
Bu çalışmada, *H. pylori*'nin antibiyotik duyarlılık testi Çizelge 4.5, Şekil 4.7 ve Şekil 4.8'de gösterildiği gibi her gruptan klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, florokinolon (levofloksasin, norfloksasin) tetrasiklin, rifabutın olmak üzere yedi antibiyotik üzerinde yapılmıştır. 83 suş klaritromisin ve metronidazole %96,5 oranında direnç gösterirken, 79 suş %91,8 oranında amoksisiline direnç göstermiş, sadece 7 suş %8,13 oranında duyarlı bulunmuştur. 73 suş (%84,8) tetrasikline direnç gösterirken 13 suş (%15,11) duyarlıdır, 79 suş (%91,8) rifabutine direnç gösterirken 7 suş (%8,13) duyarlı, 66 suş (%76,7) levofloksasine direnç gösterirken 19 suşun (%22,09) duyarlı olduğu, 64 suşun (%74,4) norfloksasine direnç gösterdiği ve 22 suşun (%25,58) norfloksasine duyarlı olduğu tespit edilmiştir.

Çizelge 4.5 Antibiyotik direncinin sonucu

Antibiyotikler	Oran (%)		
	Dirençli	Duyarlı	Toplam
Klaritromisin	83 (96,5)	3 (3,48)	86 (100,0)
Metronidazol	83 (96,5)	3 (3,48)	86 (100,0)
Amoksisilin	79 (91,8)	7 (8,13)	86 (100,0)
Tetrasiklin	73 (84,8)	13 (15,11)	86 (100,0)
Rifabutın	79 (91,8)	7 (8,13)	86 (100,0)
Levofloksasin	66 (76,7)	19 (22,09)	86 (100,0)
Norfloksasin	64 (74,4)	22 (25,58)	86 (100,0)



Şekil 4.7 Antibiyotik direncinin sonucu



Şekil 4.8 *H. pylori*'ye karşı daha yüksek düzeyde direnç gösteren antibiyotiklerin yüzdeleri

5. TARTIŞMA

H. pylori'nin konakçı ile benzersiz ve kalıcı etkileşimleri ve dünya çapında %50 enfeksiyon oranları, onu önemli hastalıklara neden olan önemli bir patojen haline getirmektedir.

İlk kolonizasyon veya virülans için önemli olduğu bilinen birçok *H. pylori* faktörü, konakçı bağışıklık tepkisini manipüle etme kapasitesine de sahiptir ve midede uzun süreli yerleşime izin verir. *H. pylori*'nin konakçı ile etkileşimleri, bakterinin varlığını sürdürmesine izin verirken patogenezi indükleyen karmaşık bir dizi olaydır. Herhangi bir zamanda bakterilerin yalnızca yaklaşık %20'si çoklu yapışma yoluyla epitele bağlanır (Hessey *et al.* 1990). *H. pylori*'nin çoklu virülans faktörleriyle birlikte epitele bağlanması, proinflatuar immün yanıtları indükler. Bu yanıtlar konak hücre canlılığını etkileyebilir ve birbirini dışlayan iki olaydan birine yol açabilir. Ya aşırı mide asidi üretilerek ülserasyona yol açar ya da kronik enflamasyon mide duvarında atrofiye ve kötü huylu çıkıntılara neden olur (Beswick *et al.* 2006b).

5.1.1 *H. pylori* Enfeksiyonunun Yaş, Cinsiyet ve Semptomlarla İlişkisi

Bu çalışmanın sonuçları, *H. pylori* enfeksiyonunun tüm yaş gruplarında mevcut olduğunu ortaya koymuştur. *H. pylori* enfeksiyonu prevalans oranı ortalama 34 yaş olarak tespit edilmiştir. Çeşitli gelişmekte olan ülkelerde, genç yaşlarda bile nüfusun %80'inden fazlası *H. pylori* bakımından pozitifdir (Perez-Perez *et al.* 2004). Banatvala *et al.* (1993) gelişmiş ülkelerde, çocuklarda düşük enfeksiyon yüzdesinden ileri yaş gruplarında %40 ile 50 enfeksiyon oranlarına kadar ilerleyen bir prevalans artışı gözlendiğini tespit etmiştir. Batı dünyasında yetişkinler arasında yeni *H. pylori* enfeksiyonu insidansı yılda %0,5'ten azdır; dolayısıyla yaşlılar arasında daha yüksek enfeksiyon prevalansı, geçmişte daha yüksek enfeksiyon oranlarına sahip bir doğum kohortu etkisini yansıtmaktadır (Parsonnet 1995). Güney Brezilya'da Santos *et al.* (2005), *H. pylori* enfeksiyonunun yetişkinler arasında diğer gelişmekte olan ülkelerde olduğu kadar yaygın olduğunu bulmuştur.

Çoğu çalışma, erkek ve kadınların mevcut çalışmadakiyle yaklaşık olarak aynı oranlarda enfekte olduğunu göstermektedir (You *et al.* 1998, Hussein *et al.* 2008). Ayrıca, *H. pylori* enfeksiyonu ile cinsiyet arasında bir ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$). Tsai *et al.* (2005) çalışmasına paralel olarak, Replogle *et al.* (1995) tarafından yapılan bir çalışmada erkek cinsiyetin enfeksiyon için önemli bir risk faktörü olduğu bulunmasına rağmen, cinsiyetin *H. pylori* enfeksiyonu ile önemli ölçüde ilişkili olmadığı bulunmuştur.

H. pylori ile enfekte olmuş birçok hastada ülser hastalığı olmaksızın tekrarlayan abdominal semptomlar (ülser dışı dispepsi) görülmektedir ve bu hastalarda *H. pylori*'nin yok edilmesinde klinik bir fayda olduğu görülmektedir (Sherman *et al.* 1999, Moayyedi *et al.* 2003). Ayrıca, mevcut çalışma Şekil 4.3'te hastaların en yaygın semptomlarının; dispepsisi olan kişiler arasında *H. pylori* prevalansının tutarlı bir şekilde yüksek olduğunu (%59,57) göstermiş ve bu da *H. pylori* enfeksiyonu ile dispepsi arasında kesin bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bu sonuç, dispepsili Afrikalılar üzerinde yapılan ve ortalama %65 (%60 ile %71 aralığında) prevalans elde edilen diğer çalışmaların bulgularıyla uyumludur (Louw *et al.* 1993, Everhart 2000, Shmueli *et al.* 2003). Bu durum, Santos *et al.* (2005) tarafından yayınlanan ve etnik köken ve dispeptik semptomların varlığının yanı sıra çocuklukta sosyoekonomik koşulların enfeksiyonla önemli ölçüde ilişkili faktörler olduğunu ortaya koyan verilerle uyumludur.

5.1.2 Farklı yaşlardaki enfekte hastalarda serum anti-*H. pylori* IgG antikor titresini

H. pylori enfeksiyonu mukozal bir enfeksiyon olmasına rağmen, sürekli bir sistemik immün yanıt indüklenir ve bu enfeksiyonun kronik doğası nedeniyle, üretilen IgG antikorlarını tespit etmek için enzime bağlı İmmünosorbent testi (ELISA) kullanılabilir. Seroloji ile ilgili sorun, bakterinin eradikasyonundan sonra IgG'nin yavaşça azalması ve ancak yaklaşık 6 ay sonra antikor titresinde %50'lik bir azalma gözlenmesidir (Kosunen *et al.* 1992).

Mevcut çalışmada, *H. pylori* ile enfekte hastalarda seroprevalans ve immün yanıt, Çizelge 4.3'te serum örneklerinin %72,3'ünün ELISA ile anti-*H. pylori* antikorları için Pozitif

olduğunu, geri kalan hastaların ise tanıda kullanılan invaziv testlere göre yanlış negatif olarak değerlendirildiğini göstermiştir. Bu sonuç, antikor seviyesi yeterince yükselmeden önce yeni bir enfeksiyonu takiben yanlış negatif sonuçların ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir, çünkü kronik gastrit oluşumunu takiben; sistemik bir humoral yanıt gelişir ve neredeyse tüm enfekte hastalar bakteriye karşı serum IgG antikorlarına sahiptir. Bu durum, çoğu bakteriyel enfeksiyona karşı ilk humoral immün yanıtın humoral IgM yanıtı içerdiğini gösteren diğer çalışmalarla açıklanabilir. Ancak vakalardan biri 14. günde mide mukozasında lokal mukozal IgM yanıtı göstermiştir (Sobala *et al.* 1991a, Nurgalieva *et al.* 2005). Hastada enfeksiyon sonrası 74. günde saptanabilir bir serum *H. pylori* spesifik IgG yanıtı gelişmiştir (Sobala *et al.* 1991b). *H. pylori* ile enfeksiyon, çoklu antijenlere karşı lokal ve sistemik humoral yanıtla sonuçlanır (Kimmel *et al.* 2000, Tinnert *et al.* 1997). Serum immüoglobulin M (IgM) seviyelerinin aksine, serum IgA ve IgG seviyeleri aylar ve yıllar boyunca devam eder ve tedavi edilmemiş bireylerde aktif enfeksiyonla korelasyon gösterir (Blecker *et al.* 1995, Storskrubb *et al.* 2005). Bireylerin yalnızca küçük bir yüzdesinde enfeksiyonu takiben saptanabilir sistemik serokonversiyon görülmez (Mégraud 1996). Anti-*H. pylori* serum IgG seviyeleri, serum IgA seviyelerinden daha tutarlı bir şekilde yükselir. Sonuç olarak, serum IgG immünoassayleri, serum IgA analizlerinden daha yüksek hassasiyet ve özgüllükler verir (Laheij *et al.* 1998). Bir çalışmada, serum IgG sonucu negatif olan numunelerin %7'sinden fazlasında, hastaların *H. pylori* enfeksiyonu ile uyumlu semptomları olduğunda saptanabilir anti-*H. pylori* serum IgA seviyeleri bulunmuştur (Jaskowski *et al.* 1997).

Bu çalışmadaki bulgular, enfekte grubun farklı yaşlardaki hastalarında sistemik immün yanıtın Çizelge 4.4'te gösterildiği gibi 42 EIU'dan daha yüksek anti-*H. pylori* IgG antikor titresinin ortalama 39 yaşında bulunduğunu, buna karşılık serum anti-*H. pylori* IgG titresini 34 EIU'nun altında olan hastaların yaş ortalamasının 26 olduğunu göstermiştir. Sonuçlar, IgG testinin yetişkin hastalarda oldukça hassas olduğu ve bu nedenle genç yetişkin dispeptik hastalar için önerilen test et ve tedavi et yaklaşımı için mükemmel bir seçim olduğu yönündeki diğer çalışmalarla uyumludur (Malfertheiner *et al.* 2002, Sobala *et al.* 1991b). Ornelas *et al.* (2007) Meksika'daki yetişkinlerde *H. pylori* enfeksiyonu seroprevalansını %75,4 olarak bulmuşlardır ve çocuklarda yetişkinlere göre daha düşük

seroprevalans ve serolojinin en iyi tanısal faydaya sahip olduğunu bulan Granstrom *et al.* (2008) ile uyumludur.

5.1.3 Biyopsi örneklerinden *H. pylori*'nin moleküler tanı yöntemiyle doğrudan tespiti

Geleneksel PCR, çıkarılan biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin ureB ve dupA genlerini tespit edememiştir, bu durum DNA'nın fiksasyon ve gömme prosedürleri sırasında hasar görmesine neden olabilir ve spesifik DNA izolasyonu ve PCR amplifikasyon protokolleri gerektirir (Scholte *et al.* 1997). *H. pylori*'nin tespiti, bu türün yüksek prevalansı, dünya çapında dağılımı ve bu organizmayı taşıyan çok sayıda birey olması nedeniyle kritik önem taşımaktadır (Dale *et al.* 1998, Feldman 2001, Chanto *et al.* 2002, Suerbaum and Michetti 2002). Moleküler yöntemler, özellikle PCR ve gerçek zamanlı PCR, daha yüksek hassasiyetleri nedeniyle daha fazla enfeksiyon vakasını tespit etme potansiyeline sahiptir, ancak teknik olarak zahmetlidir (Ho and Windsor 2000, Chisholm *et al.* 2001, Lascols *et al.* 2003). Bu çalışma, *H. pylori* tanısı için kullanılan tüm testler negatif sonuç verdiğiğinde negatif grup olarak kabul edilen *H. pylori* negatif hasta grubunun, biyopsilerinde *H. pylori* DNA'sının tespit edilmediği Real-Time PCR testi ile doğrulandığını göstermiştir.

H. pylori pozitif hasta grubu, ELISA testi ile seropozitif sonuç olsun ya da olmasın, ÜRUT ve/veya ölçü yayması ile pozitif sonuç alındığında pozitif grup olarak kabul edilirken, biyopsilerinde Real-Time PCR ile *H. pylori* DNA'sı tespit edilerek enfeksiyon doğrulanmıştır. Histolojik test altın standart tanı yöntemlerine dahil edilmemiştir çünkü bakteriyel varlık tespit edilmemiştir ancak akut veya kronik inflamasyon varlığı, intestinal metaplazi, glandüler atrofi ve yüzey epitel hücre hasarları gibi mukozanın durumu hakkında temel bilgi sağlayan histolojik değişiklikler tespit edilmiştir. Mevcut çalışmada, antrum biyopsi örnekleriyle yapılan lam baskı yayma testi hariç, tüm tanı testleri (PCR ve seroloji) *H. pylori* ile enfekte hastaların teşhisi için oldukça doğrudur ve bu test daha düşük bir bakteri tespiti göstermemektedir. *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı hastaların %56,66'sında tespit edilmiştir. Serumda anti *H. pylori* IgG tespit eden ticari

ELISA kitleri, komplike olmayan enfeksiyonları olan hastaların birincil taraması için tercih edilen serolojik testlerdir (Laheij *et al.* 1998).

H. pylori'ye karşı antikorların saptanması aktif enfeksiyonu gösterir, ancak diğer tanı testlerinde olduğu gibi, bir kişinin ne kadar süredir enfekte olduğunu veya enfeksiyonun şiddetini belirlemek zordur. *H. pylori*'ye karşı antikorları tespit eden serolojik testlerin gastrik kolonizasyonun oldukça hassas ve spesifik göstergeleri olduğu kanıtlanmıştır ve çok sayıda kişiyi hızlı bir şekilde taramak için kullanılabilir (Parsonnet 1995). Tedavi edilmemiş enfeksiyonlar doğal bağışıklık tepkisi ile ortadan kaldırıılmaz ve antikor titresi enfeksiyonun kronikliğini yansıtacak şekilde uzun süre boyunca nispeten sabit seviyede kalır. IgG seviyeleri yaklaşık 2 yıl boyunca sürekli yüksek kalırken, IgA ve IgM seviyeleri tespit edilememiştir. Bu sonuçlar, atrofik korpus gastriti olan hastaların genellikle helikobakter serolojisinin pozitif olduğu, ancak mikroskopik incelemenin negatif olduğu (Karnes *et al.* 1991, Testoni *et al.* 1996), biyopsi örneklerinin kültürünün ve hatta üre nefes testinin helikobakter negatif kaldığı, *H. pylori* organizmalarının sayısının biyopsi yöntemleriyle tespit edilemeyecek kadar azdır (Kokkola *et al.* 2000). Tedaviden sonra hızla düşen antikor titrelerinin gösterdiği gibi, bu özel hastalar hala enfekte olabilir (Kokkola *et al.* 1998).

Ancak gastroskopi öncesi salgı önleyici tedaviler histoloji, kültür ve üreaz testlerinde yanlış negatif sonuçlara yol açabilir (Chey *et al.* 1996). Kronik gastritte yaygın bir bulgu olan bağırsak metaplazisi alanlarında *H. pylori*'nin bulunmadığı da bilinmektedir. Atrofik gastrit, *H. pylori* için uygun olmayan bir durumdur ve daha az yoğun *H. pylori* varlığına neden olur (Broutet *et al.* 2003, McColl *et al.* 1998) ve AG veya IM'nin ilerlemesi, *H. pylori*'nin mide mukozasından dışarı çıkmasına neden olur (Kang *et al.* 2006). *H. pylori*'ye karşı etkili olan herhangi bir antibiyotik midedeki bakteri sayısında azalmaya neden olacaktır (Marshall 1993). Kronik aktif gastriti olan ancak slaytlarda bakteri bulunmayan vakalar vardır. Bunun temel nedeni muhtemelen ÜFE'lerin kontrolsüz kullanımudur. Aslında 4 hafta boyunca monoterapi olarak uygulanan omeprazol hem antrumda hem de korpusta bakteri yoğunluğunu azaltır (Graham *et al.* 1996). Başarısız bir yok etme tedavisi, PPI veya antibiyotik tüketimi, bakterilerin tipik bir morfolojiden, tanı konulmasına izin vermeyen kokoidal bir forma dönüşmesini tetikleyebilir (Chan *et*

al. 1994). Bu çalışmada boyalı biyopsi materyalinin mikroskopisi ile elde edilen sonuçların daha az pozitif çıkmasına katkıda bulunan bir faktör olabilir. Ayrıca RUT son derece değerlidir çünkü hasta endoskopik odadan çıkmadan önce *H. pylori* enfeksiyonu açısından olumlu sonuç verir (Yakoob *et al.* 2005).

Moleküler testlerin kullanılmaya başlanmasıyla duyarlılıkta önemli bir gelişme meydana gelmiştir (Oleastro *et al.* 2003). Yeni bir yöntemin referans yöntemden daha duyarlı olduğu her zaman olduğu gibi, sonuçların hatalı pozitif olmadığı kanıtlanması gerekir. Bir olasılık, enfeksiyonun gerçekliğini doğrulamak için hastanın birkaç ay boyunca takip edilmesidir. Mide biyopsi örnekleriyle uğraşırken özgüllük genellikle bir sorun değildir. Ancak laboratuvardaki endoskoplar (Roosendaal *et al.* 1994) veya kesme aparatları doğru şekilde temizlenmediğinde hatalı pozitif sonuç olasılığı ortaya çıkar. Bu tür kontaminasyonu önlemek için endoskopi odasında sıkı temizlik prosedürlerinin ve laboratuvarda tek kullanımlık malzemelerin kullanılması tavsiye edilir. İmmün/İnflamatuar Yanıt ile İlişkili CD54 Molekülü Yakın zamanda CD54 ile ilişkilendirilen immün yanıtla yol açan çeşitli fonksiyon ve sinyaller, bu molekülün fonksiyonları hakkında açığa çıkarılacak çok daha fazla şeyin olduğunu düşündürmektedir.

Bu çalışmada *H. pylori* ile enfekte hastalardan alınan gastrik biyopsilerde CD54 ekspresyonunun incelenmesi amacıyla immünohistokimya uygulanmıştır. İlginç bir şekilde, CD54 ekspresyonu enfekte olmamış dokuda belirgin, ancak enfekte olmuş doku, *H. pylori* pozitif ve negatif vakalar arasında oldukça anlamlı bir farkla ($p=0,0001$) CD54 ekspresyonunda belirgin bir artış göstermiştir (Şekil 4.7). Doku ayrıca lamina propria CD54'ü eksprese eden başka hücrelere de sahiptir. Anti-CD54 klon LN-2 antikoları kullanılarak yapılan spesifik boyama, CD54 ekspresyonunun en yüksek yoğunluğunun hücrelerin apikal tarafı boyunca meydana geldiğini ve bazolateral tarafta soluk boyamanın tespit edildiğini göstermiştir. Bu sonuçlar *H. pylori* enfeksiyonu ile CD54 ekspresyonu arasında bir korelasyon olduğunu göstermektedir. CD54'ün yüksek ekspresyonu ile lokal IL-6 ve TNF-Alpha sitokinlerinin yüksek skorlu varlığı arasında son derece anlamlı bir ilişki bulunurken ($p=0,0001$), negatif *H. pylori* vakalarında ise yalnızca anlamlı bir ilişki vardır ($p=0,0001$). Düşük CD54 ekspresyonu ile düşük skorlu lokal

TNF-alfa varlığı arasındaki fark Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de gösterilmiştir. iltihaplı dokuda CD54 ekspresyonunun arttırılması; *Helicobacter pylori* enfeksiyonu sırasında mide inflamatuvar hücreleri tarafından in vivo olarak aktif olarak üretilen TNF-alfadır. Bu sonuçlar, *H. pylori*'nin yüksek düzeyde ifade edildiği bulunan sınıf II majör doku uyumluluk kompleksi (MHC) ile ilişkili değişmez zincir (CD54) ile etkileşimini araştıran Beswick *et al.* (2005a) tarafından yaptıkları çalışmada açıklanmıştır. Gastrik epitelyal hücreler tarafından CD54'ün *H. pylori* ile gastrik epitelyal hücre etkileşiminde bir rol oynadığını ve NF-KB'nin IL-8 salgılanmasıyla sonuçlandığını sinyallediğini öne sürmüşlerdir.

Ayrıca, CD54 yüzey ekspresyonu IFN- γ tedavisiyle veya CD54 ile transfekte edilmiş fibroblast hücreleriyle artırıldığında bakteriyel bağlanma artarken, CD54 bloke edici antikolar, CD54'ün enzim bölünmesi ve CD54 kaplı bakterilerle bağlanma azaldı. *H. pylori*'nin sınıf II MHC yokluğunda afiniteyle saflaştırılmış CD54'e doğrudan bağlandığı da gösterilmiştir. Hücreler tarafından artan CD54 ekspresyonu, *H. pylori*'ye yanıt olarak IL-8 üretimini artırmış ve CD54'ü bloke eden ajanlar, bu yanıtları azaltmıştır. Bu nedenle bakterilerin mide mukozasına yapışması *H. pylori* enfeksiyonunun ilk adımlarından biridir ve önemli bir virülans faktörüdür. Pek çok farklı *H. pylori* adezinin tanımlanmış olması, bağlılığın çok faktörlü bir süreç olduğunu ima etmektedir (Labigne ve De Reuse 1996).

5.1.4 *H. pylori* enfeksiyonunun patojenik ve immün mekanizmasında sitokinlerin ve inflamatuvar hücrelerin rolü

H. pylori enfeksiyonunun patogenezi kısmen immünolojik yanıtla bağlıdır. Çeşitli interlökinler ve kemokinler, doğal Th0 yanıtını Th1, Th2 veya karışık Th1 ve Th2 yanıtına dönüştürerek enflamatuvar sürecin ilerlemesinde rol oynar (Velin and Michetti 2006).

Bu çalışmada, enfekte ve enfekte olmayan hastaların serumunda IFN- γ ve IL-6 sitokinlerinin seviyesini belirlemek için EASIA testi kullanılmıştır. IL-6 seviyesi tüm hastaların serumlarında tespit edilmemiş, enfekte hastaların çoğunda ülser olmayan

dispepsi olduğu ve lokal immün yanıtın *H. pylori* enfeksiyonunda ana bulgu olduğu öne sürülmüştür. Ohara *et al.* (2001), *H. pylori* pozitif peptik ülser hastasının serumunda IL-6 ve IL-8 seviyesinin arttığını bulmuştur. Bu çalışmada, *H. pylori* ile enfekte ve enfekte olmayan kişilerden alınan antral biyopsi örneklerinde lokal TNF-alfa ve IL-6 yanıtlarının karakterizasyonu İmmünohistokimyasal bir teknikle yapılmıştır. Şekil 4.8 ve Çizelge 4.8'de görüldüğü gibi, halihazırda çalışılan sitokinlerin *H. pylori* ile enfekte olmuş bireylerde, enfekte olmamış bireylerdeki seviyelerine kıyasla anlamlı bir farkla ($p < 0,05$) arttığı bulunmuştur, bu sonuçlar Goll *et al.* (2007)'nin çeşitli klinik ortamlarda yüksek hassasiyetli kantitatif Gerçek Zamanlı polimeraz Zincir Reaksiyonu tekniği ile doğal *H. pylori* enfeksiyonunda upstream, adaptif ve düzenleyici sitokin gen ekspresyonlarının bir kombinasyonunu ölçtüğü bulgularla uyumludur. Elde ettikleri sonuçlar, hem Th1 hem de Th2 sitokinlerinin yukarı regülasyonu ile karışık bir adaptif immün yanıt profili göstermiştir.

Ayrıca bu çalışma, Lindholm *et al.* (1998), gastrik epitel hücrelerinin, aktif sitokin üretimi ya da lamina propria veya intraepitelyal lökositler tarafından üretilen sitokinlerin alımı yoluyla *H. pylori* enfeksiyonuna karşı proinflamatuvar sitokin yanıtına önemli ölçüde katkıda bulunduğu yönündeki önerisiyle de uyumludur. Ayrıca, *H. pylori* ile enfekte olmuş bireylerde enfekte olmamış bireylere kıyasla IFN- γ 'nın yukarı regülasyonunun bulunması, *H. pylori* ile enfekte olmuş mukozada baskın bir Th1 yanıt olduğunu öne süren önceki çalışmalarla uyumludur (D'Elis *et al.* 1997a, Bamford *et al.* 1998, Lindholm *et al.* 1998). Bu çalışmada, mide epitel hücrelerinin IFN- γ -spesifik boyanması ve MNC'lerin lamina propriyaya sızması enfekte ve enfekte olmayan vakalar arasında önemli ölçüde farklı bulunmuştur ($p=0,0001$) (Çizelge 4.9). Lindholm *et al.* (1998), epitelyal IFN- γ boyanmasının muhtemelen reseptöre bağlı IFN- γ 'yı yansıttığını, çünkü bu sitokinin sadece T hücreleri ve NK hücreleri tarafından üretildiğini öne sürmüştür. Ayrıca, pozitif MNC'li biyopsi örneklerinde bulunması, sitokinin *H. pylori* ile enfekte mukozada lokal olarak hapsedildiğini düşündürmektedir.

H. pylori bakterileri noninvaziv olduğundan ve mide lümeninde kaldığından, kalıcı bir lokal Th1 yanıtı, histolojik değişikliklere göre hücre aracılı immün yanıtlar yoluyla önemli doku hasarına neden olabilir. Çizelge 4.3'e göre, enfekte vakaların çoğunda orta

dereceli CG görülürken, enfekte olmayan vakalarda hafif dereceli CG görülmüştür ve aralarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$). Bu sonuçlar, Th1 hücreleri tarafından IFN- γ ve TNF- α üretiminin epitelde IL-8 de dahil olmak üzere birçok genin ekspresyonunu artırabildiğini ortaya koyan diğer çalışmalarla açıklanabilir (Yasumoto *et al.* 1992). Ayrıca, bu sitokinler bakteriyel bağlanmayı artırır (Fan *et al.* 1998) ve bakteriyel yükün artmasına katkıda bulunabilir (Lehmann *et al.* 2002). Th1 hücreleri ayrıca epitel hücre apoptozunu (Wagner *et al.* 1997, Fan *et al.* 1998) ve hayvan modellerinde inflamasyon, atrofi ve displaziye artırır (Smythies *et al.* 2000, Eaton *et al.* 2001).

Bu çalışmada ayrıca, *H. pylori* ile enfekte hastalardan alınan biyopsi örneklerinde proinflamatuvar sitokin (IL-6) düzeylerinde ve spesifik olarak IL-6 ile boyanan MNC ve PMN hücrelerinin sayılarında artış tespit edilmiştir ve bu fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$), daha önce bildirildiği gibi, birçok çalışma *H. pylori* enfeksiyonunun mide mukozasında artmış IL-6 üretimi ile ilişkili olduğunu göstermiştir (Yamaoka *et al.* 1997, Ando *et al.* 1998, Furukawa *et al.* 1998, Lindholm *et al.* 1998, Lu *et al.* 2005, Yamaoka *et al.* 1997). İmmünohistokimya, IL-6'nın *H. pylori* enfeksiyonunda hem gastrik epitel hücrelerinden hem de gastrik mukozayı infiltre eden inflamatuvar hücrelerden bol miktarda eksprese edildiğini ve salgılandığını göstermiştir (Furukawa *et al.* 1998). Bu çalışmada gösterildiği gibi mide epitel hücrelerinde IL-6'nın varlığı, Lindholm *et al.* (1998) bu sitokinin mide epiteli üzerinde etkileri olabileceği önerisiyle uyumludur. Yakın zamanda Odenbreit *et al.* (2006), makrofajların *H. pylori* enfeksiyonu üzerine mide mukozasında IL-6'nın ana kaynağı olabileceğini ve IL-6 salgılamak için makrofajların *H. pylori* tarafından aktivasyonu ve uyarılmasının proteinli ve proteinsiz bileşikler de dahil olmak üzere çoklu faktörlerden kaynaklandığını bulmuşlardır. Ayrıca, Kaparakis *et al.* (2008), makrofajların *Helicobacter* enfeksiyonu ile indüklenen gastritte merkezi bir role sahip olduğunu ancak *H. pylori*'ye özgü antikör yanıtlarını etkilemediğini ve etkinin büyük olasılıkla sitokin salgılanması ve/veya antijen sunumuna bağlı olduğunu murin modelinde göstermişlerdir.

Ayrıca, proinflamatuvar bir sitokin olan IL-6, inflamasyonun çözülmesinde önemli bir araçtır. Bir enfeksiyonun erken, ağırlıklı olarak nötrofilik aşaması ile daha sürekli

mononükleer hücre akını arasındaki geçişi destekler. Mide mukozasında bu sitokinlerin üretimi, polimorfonükleer infiltrasyonlarla şiddetli bir inflamasyon olan *H. pylori* gastritinin histolojik tablosuyla ilişkilidir (Sobala *et al.* 1991a). Bu çalışmada, histolojik bulgularla elde edilen sonuçlar, Çizelge 4.3, enfekte ve enfekte olmayan hastalar arasında ACG ve SED'de anlamlı bir fark ($p < 0,05$) ortaya koymuştur, bu sonuçlar *H. pylori* nötrofil aktive edici proteininin endotel hücrelerine nötrofil yapışmasını teşvik etmesi ve monosit ve nötrofillerin kemotaksisini uyarması, plazma membranında nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz kompleksinin toplanmasını ve ardından reaktif oksijen ara ürünlerinin üretimini azaltması ile açıklanabilir (Yamaoka *et al.* 2002). *H. pylori* gastriti sırasında mevcut olan inflamatuvar ortamda, TNF- α ve IFN- γ nötrofilleri hazırlayabilir ve *H. pylori* nötrofil aktive edici proteinin etkilerini güçlendirebilir. Makrofajların ve nötrofillerin işe alınması ve aktivasyonu diğer inflamatuvar araçların salınmasına neden olur. *H. pylori* ile enfeksiyon sırasında mide mukozasında indüklenebilir nitrik oksit sentaz ekspresyonunda artış gözlenmiştir (Gobert *et al.* 2002).

Buna ek olarak, bazı antral kesitler, TNF alfa monoklonal antikorunun pozitif enfekte vakaların vasküler endotelial hücrelerini boyadığını göstermiştir. *H. pylori* enfeksiyonu endotelial hücreleri IL-6 salgılanması için uyarmaktadır, bu sonuçlar (Mai *et al.* 1991, Innocenti *et al.* 2002) ile uyumludur. Buna ek olarak, enfekte olmamış biyopsi örneklerinin immünohistokimyasal çalışmasının sonuçları, mide mukozasının lamina propriyasında az sayıda hücrenin bulunduğunu ve IFN- γ ve IL-6 monoklonal antikorları ile boyandığını göstermiştir, bu sonuç diğer çalışmaların bulgularıyla uyumludur (Solcia *et al.* 1994, Witteman *et al.* 1995). Enfekte olmamış mide epitelinde IL-6 bulmamız, bu sitokinlerin diğer çalışmalarda açıklandığı gibi (Shirota *et al.* 1989, Lindholm *et al.* 1998) normal epitel hücre fonksiyonları üzerinde de etkileri olabileceğini göstermektedir.

Son olarak, bu çalışmada ve diğer raporlarda IL-6 ve IFN- γ sitokinlerinin varlığı, gastrik mukozada *H. pylori* kolonizasyonunun, bu sitokinlerin üretimine neden olarak konakçı lökositlerin toplanmasına ve aktivasyonuna neden olarak doku hasarına yol açtığını göstermektedir. Karışık Th1-Th2 ve Tr1 yanıtı kronik enfeksiyonu teşvik edebilir ve patojenin temizlenmesini engelleyebilir, son çalışmalar CD4+CD25+ düzenleyici T hücrelerinin (Treg) in vivo mikrobiyal antijenlere karşı aktive edilebileceğini ve

genişletilebileceğini göstermektedir. Hem deneysel olarak enfekte farelerde hem de doğal *H. pylori* enfeksiyonu olan insanlarda elde edilen bulgular, Treg'in *H. pylori* ile enfekte konağı aşırı gastrik enflamasyona karşı korumada önemli olduğunu ancak aynı zamanda *H. pylori* kolonizasyonunu teşvik ederek duodenal ülser riskini artırabileceğini göstermektedir (Meyer *et al.* 2000, Raghavan and Holmgren 2005). Ancak Treg hücreleri, bu enfeksiyon sırasında T hücrelerinin aktivasyonunun olmamasının açıklaması olmayabilir. Bunun yerine CTLA-4'n aracılık ettiği bir anergi söz konusu olabilir (Anderson *et al.* 2006).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Gastroduodenal hastalar arasında *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı %56,66 olarak tespit edilmiştir. Biyopsi örneklerinde *H. pylori* enfeksiyonu tanısında önemli moleküler testler ureB ve dup A genlerine bağlı olarak yapılmıştır. IL-10 hariç IL-6, IL-8 ve TNF- α düzeyleri *H. pylori* ile enfekte hastalarda sağlıklı bireylere kıyasla artmıştır. Antral sitokin yanıtı Th1 tipinde olup *H. pylori* enfeksiyonu sırasında mide mukozasında TNF alfa salınımı önemli ölçüde artarken IL-10 salınımı artmamıştır. Bu nedenle, Th1 yanıtı *H. pylori* enfeksiyonuna karşı koruma ile değil gastrik patoloji ile ilişkilendirilmiştir. *H. pylori* enfeksiyonu IL-8 CD54'ü indükleyerek şiddetli inflamasyona neden olabilirken, sağlıklı bireylerin IL-8'i indükleme yeteneği zayıftır ve CD 54 hafif inflamasyona neden olabilir.

Bu bilgiler doğrultusunda, *H. pylori* ile ilişkili antral gastritte sitokin aktivitesinin histolojik şiddetle korelasyonunun incelenmesi ve Gastrik karsinomlu hastalarda virülans faktörü CagA genotipinin incelenmesi ve önerilen çalışmanın sonuçlarının VacA gibi başka bir virülans faktörü ile karşılaştırılması önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Adiloglu, A. K., Isler, M., Goren, I., Candir, O., Senol, A., Onal, S. and Karahan, N. 2007. Quantitative correlation of Helicobacter pylori stool antigen (HpSA) test with the severity of H. pylori-related gastritis. The Tohoku Journal of Experimental Medicine, 212(2): 159-167.
- Agarwal, M. and Dixon, R. A. 2003. A study to detect Helicobacter pylori in fresh and archival specimens from patients with interstitial cystitis, using amplification methods. BJU International, 91(9): 814-816.
- Agudo, S., Pérez-Pérez, G., Alarcón, T. and López-Brea, M. 2011. Rapid detection of clarithromycin resistant Helicobacter pylori strains in Spanish patients by polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Revista española de quimioterapia: publicacion oficial de la Sociedad Española de Quimioterapia, 24(1): 32.
- Akyön, Y. and Hascelik, G. 1999. The effect of Helicobacter pylori on neutrophil chemotaxis is independent of cagA. FEMS Immunology and Medical Microbiology, 24(2): 209-213.
- Algood, H. M. S. and Cover, T. L. 2006. Helicobacter pylori persistence: an overview of interactions between H. pylori and host immune defenses. Clinical Microbiology Reviews, 19(4): 597-613.
- Alpen, B., Neubauer, A., Dierlamm, J., Marynen, P., Thiede, C., Bayerdörffer, E. and Stolte, M. 2000. Translocation t (11; 18) absent in early gastric marginal zone B-cell lymphoma of MALT type responding to eradication of Helicobacter pylori infection. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 95(12): 4014-4015.
- Amedei, A., Bergman, M. P., Appelmelk, B. J., Azzurri, A., Benagiano, M., Tamburini, C. and Del Prete, G. 2003. Molecular mimicry between Helicobacter pylori antigens and H⁺, K⁺-adenosine triphosphatase in human gastric autoimmunity. The Journal of Experimental Medicine, 198(8): 1147-1156.
- Amieva, M. R., Vogelmann, R., Covacci, A., Tompkins, L. S., Nelson, W. J. and Falkow, S. 2003. Disruption of the epithelial apical-junctional complex by Helicobacter pylori CagA. Science, 300(5624): 1430-1434.

- Anand, B. S. and Graham, D. Y. 1999. State-of-the-Art: Ulcer and Gastritis. *Endoscopy*, 31(2): 215-225.
- Anand, P. S., Nandakumar, K. and Shenoy, K. T. 2006. Are dental plaque, poor oral hygiene, and periodontal disease associated with *Helicobacter pylori* infection?. *Journal of Periodontology*, 77(4): 692-698.
- Anderson, K. M., Czinn, S. J., Redline, R. W. and Blanchard, T. G. 2006. Induction of CTLA-4-mediated anergy contributes to persistent colonization in the murine model of gastric *Helicobacter pylori* infection. *The Journal of Immunology*, 176(9): 5306-5313.
- Ando, T., Kusugami, K., Ohsuga, M., Ina, K., Shinoda, M., Konagaya, T. and Blaser, M. J. 1998. Differential normalization of mucosal interleukin-8 and interleukin-6 activity after *Helicobacter pylori* eradication. *Infection and Immunity*, 66(10): 4742-4747.
- Archimandritis, A., Sougioultzis, S., Foukas, P. G., Tzivras, M., Davaris, P. and Moutsopoulos, H. M. 2000. Expression of HLA-DR, costimulatory molecules B7-1, B7-2, intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) and Fas ligand (FasL) on gastric epithelial cells in *Helicobacter pylori* gastritis; influence of *H. pylori* eradication. *Clinical & Experimental Immunology*, 119(3): 464-471.
- Ashton-Key, M., Diss, T. C. and Isaacson, P. G. 1996. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *Journal of Clinical Pathology*, 49(2): 107-111.
- Atherton, J. C. 2006. The pathogenesis of *Helicobacter pylori*-induced gastro-duodenal diseases. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 1(3): 63-96.
- Atherton, J. C., Cao, P., Peek, R. M., Tummuru, M. K., Blaser, M. J. and Cover, T. L. 1995. Mosaicism in vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*: association of specific vacA types with cytotoxin production and peptic ulceration. *Journal of Biological Chemistry*, 270(30): 17771-17777.
- Atherton, J. C., Peek Jr, R. M., Tham, K. T., Cover, T. L. and Blaser, M. J. 1997. Clinical and pathological importance of heterogeneity in vacA, the vacuolating cytotoxin gene of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology*, 112(1): 92-99.

- Bai, Y., Li, L. R., Wang, J. D., Chen, Y., Jin, J. F., Zhang, Z. S. and Zhang, Y. L. 2003. Expression of *Helicobacter pylori* Hsp60 protein and its immunogenicity. *World Journal of Gastroenterology*, 9(12): 2711.
- Bamford, K. B., Fan, X., Crowe, S. E., Leary, J. F., Gourley, W. K. and Luthra, G. K. 1998. Lymphocytes in the human gastric mucosa during. *Gastroenterology* 114(1): 482-492.
- Banatvala, N., Mayo, K., Megraud, F., Jennings, R., Deeks, J. J. and Feldman, R. A. 1993. The cohort effect and *Helicobacter pylori*. *Journal of Infectious Diseases*, 168(1): 219-221.
- Barrera, C. A., Beswick, E. J., Sierra, J. C., Bland, D., Espejo, R., Mifflin, R. and Reyes, V. E. 2005. Polarized expression of CD74 by gastric epithelial cells. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 53(12): 1481-1489.
- Bergman, M. P., Engering, A., Smits, H. H., Van Vliet, S. J., Van Bodegraven, A. A., Wirth, H. P. and Appelmek, B. J. 2004. *Helicobacter pylori* modulates the T helper cell 1/T helper cell 2 balance through phase-variable interaction between lipopolysaccharide and DC-SIGN. *The Journal of Experimental Medicine*, 200(8): 979-990.
- Beswick, E. J., Bland, D. A., Suarez, G., Barrera, C. A., Fan, X. and Reyes, V. E. 2005. *Helicobacter pylori* binds to CD74 on gastric epithelial cells and stimulates interleukin-8 production. *Infection and Immunity*, 73(5): 2736-2743.
- Beswick, E. J., Das, S., Pinchuk, I. V., Adegboyega, P., Suarez, G., Yamaoka, Y. and Reyes, V. E. 2005b. *Helicobacter pylori*-induced IL-8 production by gastric epithelial cells up-regulates CD74 expression. *The Journal of Immunology*, 175(1): 171-176.
- Beswick, E. J., Pinchuk, I. V., Minch, K., Suarez, G., Sierra, J. C., Yamaoka, Y. and Reyes, V. E. 2006a. The *Helicobacter pylori* urease B subunit binds to CD74 on gastric epithelial cells and induces NF- κ B activation and interleukin-8 production. *Infection and Immunity*, 74(2): 1148-1155.
- Beswick, E. J., Suarez, G. and Reyes, V. E. 2006b. H pylori and host interactions that influence pathogenesis. *World Journal of Gastroenterology*, 12(35): 5599.
- Blaser, M. J. and Atherton, J. C. 2004. *Helicobacter pylori* persistence: biology and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 113(3): 321-333.

- Blecker, U., Lanciers, S., Hauser, B., Mehta, D. I. and Vandenplas, Y. 1995. Serology as a valid screening test for *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic subjects. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 119(1): 30-32.
- Bliss, C. M., Golenbock, D. T., Keates, S., Linevsky, J. K. and Kelly, C. P. 1998. *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide binds to CD14 and stimulates release of interleukin-8, epithelial neutrophil-activating peptide 78, and monocyte chemoattractant protein 1 by human monocytes. *Infection and Immunity*, 66(11): 5357-5363.
- Boncrisiano, M., Paccani, S. R., Barone, S., Ulivieri, C., Patrussi, L., Ilver, D. and Baldari, C. T. 2003. The *Helicobacter pylori* vacuolating toxin inhibits T cell activation by two independent mechanisms. *The Journal of Experimental Medicine*, 198(12): 1887-1897.
- Bourzac, K. M. and Guillemin, K. 2005. *Helicobacter pylori*-host cell interactions mediated by type IV secretion. *Cellular Microbiology*, 7(7): 911-919.
- Brandt, S., Kwok, T., Hartig, R., König, W. and Backert, S. 2005. NF- κ B activation and potentiation of proinflammatory responses by the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26): 9300-9305.
- Broutet, N., Tchamgoue, S., Pereira, E., Lamouliatte, H., Salamon, R. and Megraud, F. 2003. Risk factors for failure of *Helicobacter pylori* therapy—results of an individual data analysis of 2751 patients. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 17(1): 99-109.
- Camorlinga-Ponce, M., Romo, C., Gonzalez-Valencia, G., Munoz, O. and Torres, J. 2004. Topographical localisation of cagA positive and cagA negative *Helicobacter pylori* strains in the gastric mucosa; an in situ hybridisation study. *Journal of Clinical Pathology*, 57(8): 822-828.
- Chan, W. Y., Hui, P. K., Leung, K. M., Chow, J., Kwok, F. and Ng, C. S. 1994. Coccoid forms of *Helicobacter pylori* in the human stomach. *American Journal of Clinical Pathology*, 102(4): 503-507.
- Chanto, G., Occhialini, A., Gras, N., Alm, R. A., Mégraud, F. and Marais, A. 2002. Identification of strain-specific genes located outside the plasticity zone in nine clinical isolates of *Helicobacter pylori*. *Microbiology*, 148(11): 3671-3680.

- Chattopadhyay, S., Patra, R., Ramamurthy, T., Chowdhury, A., Santra, A., Dhali, G. K. and Mukhopadhyay, A. K. 2004. Multiplex PCR assay for rapid detection and genotyping of *Helicobacter pylori* directly from biopsy specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6): 2821-2824.
- Chey, W. D., Spybrook, M., Carpenter, S., Nostrant, T. T., Elta, G. H. and Scheiman, J. M. 1996. Prolonged effect of omeprazole on the 14 C-urea breath test. *The American Journal of Gastroenterology*, 91(3): 89-92.
- Chisholm, S. A., Owen, R. J., Teare, E. L. and Saverymuttu, S. 2001. PCR-based diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and real-time determination of clarithromycin resistance directly from human gastric biopsy samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(4): 1217-1220.
- Churin, Y., Kardalidou, E., Meyer, T. F. and Naumann, M. 2001. Pathogenicity island-dependent activation of Rho GTPases Rac1 and Cdc42 in *Helicobacter pylori* infection. *Molecular Microbiology*, 40(4): 815-823.
- Cirak, M. Y., Ozdek, A., Yilmaz, D., Bayiz, U., Samim, E. and Turet, S. 2003. Detection of *Helicobacter pylori* and its CagA gene in tonsil and adenoid tissues by PCR. *Archives of Otolaryngology–Head and Neck Surgery*, 129(11): 1225-1229.
- Clayton, C., Kleanthous, K. and Tabaqchali, S. 1991. Detection and identification of *Helicobacter pylori* by the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Pathology*, 44(6): 515-516.
- Cover, T. L. and Blanke, S. R. 2005. *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4): 320-332.
- Cover, T. L., Krishna, U. S., Israel, D. A. and Peek Jr, R. M. 2003. Induction of gastric epithelial cell apoptosis by *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin. *Cancer Research*, 63(5): 951-957.
- Cowan, A. 1977. Clinical assessment of a new local anesthetic agent—articaine. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*, 43(2): 174-180.
- D’Elios, M. M., Bergman, M. P., Amedei, A., Appelmelk, B. J. and Del Prete, G. 2004. *Helicobacter pylori* and gastric autoimmunity. *Microbes and Infection*, 6(15): 1395-1401.

- Dale, A., Thomas, J. E., Darboe, M. K., Coward, W. A., Harding, M. and Weaver, L. T. 1998. Helicobacter pylori infection, gastric acid secretion, and infant growth. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 26(4): 393-397.
- Davies, G. R., Banatvala, N., Collins, C. E., Sheaff, M. T., Abdi, Y., Clements, L. and Rampton, D. S. 1994. Relationship between infective load of Helicobacter pylori and reactive oxygen metabolite production in antral mucosa. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(5): 419-424.
- De Reuse, H. I. L. D. E., Labigne, A. and Mengin-Lecreulx, D. 1997. The Helicobacter pylori ureC gene codes for a phosphoglucosamine mutase. *Journal of bacteriology*, 179(11): 3488-3493.
- Debonnie, J. C., Mairesse, J., Donnay, M. and Dekoninck, X. 1994. Touch cytology. A quick, simple, sensitive screening test in the diagnosis of infections of the gastrointestinal mucosa. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 118(11): 1115-1118.
- Delany, I., Spohn, G., Rappuoli, R. and Scarlato, V. 2001. The Fur repressor controls transcription of iron-activated and-repressed genes in Helicobacter pylori. *Molecular Microbiology*, 42(5): 1297-1309.
- D'Elios, M. M., Manghetti, M., Almerigogna, F., Amedei, A., Costa, F., Burroni, D. and Del Prete, G. 1997a. Different cytokine profile and antigen-specificity repertoire in Helicobacter pylori-specific T cell clones from the antrum of chronic gastritis patients with or without peptic ulcer. *European journal of Immunology*, 27(7): 1751-1755.
- D'Elios, M. M., Manghetti, M., De Carli, M., Costa, F., Baldari, C. T., Burroni, D. and Del Prete, G. 1997b. T helper 1 effector cells specific for Helicobacter pylori in the gastric antrum of patients with peptic ulcer disease. *Journal of Immunology*, 158(2): 962-967.
- Dewhirst, F. E., Shen, Z., Scimeca, M. S., Stokes, L. N., Boumenna, T., Chen, T. and Fox, J. G. 2005. Discordant 16S and 23S rRNA gene phylogenies for the genus Helicobacter: implications for phylogenetic inference and systematics. *Journal of Bacteriology*, 187(17): 6106-6118.

- Dixon, M. F., Genta, R. M., Yardley, J. H. and Correa, P. 1996. Classification and grading of gastritis: the updated Sydney system. *The American Journal of Surgical Pathology*, 20(10): 1161-1181.
- Dominici, P., Thomson, M., Bellentani, S., Di Biase, A. R., Saccoccio, G., Le Rose, A. and Grossi, E. 1999. Familial clustering of *Helicobacter pylori* infection: population based study. *Commentary: Helicobacter pylori—the story so far. BMJ*, 319(7209): 537-541.
- Dore, M. P., Osato, M. S., Malaty, H. M. and Graham, D. Y. 2000. Characterization of a culture method to recover *Helicobacter pylori* from the feces of infected patients. *Helicobacter*, 5(3): 165-168.
- Dore, M. P., Sepulveda, A. R., Graham, D. Y. and Realdi, G. 2003. Detection of genomic *Helicobacter pylori* DNA in the blood of patients positive for the infection. *Digestive and Liver Disease*, 35(11): 839-840.
- Dubois, A., Fiala, N., Heman-Ackah, L. M., Drazek, E. S., Tarnawski, A., Fishbein, W. N. and Blaser, M. J. 1994. Natural gastric infection with *Helicobacter pylori* in monkeys: a model for spiral bacteria infection in humans. *Gastroenterology*, 106(6): 1405-1417.
- Dunn, B. E., Cohen, H. and Blaser, M. J. 1997. Epidemiology of *H. Pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(7): 702-741.
- Eaton, K. A., Brooks, C., Morgan, D. R. and Krakowka, S. 1991. Essential role of urease in pathogenesis of gastritis induced by *Helicobacter pylori* in gnotobiotic piglets. *Infection and Immunity*, 59(7): 2470-2475.
- Eaton, K. A., Mefford, M. and Thevenot, T. 2001. The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *The Journal of Immunology*, 166(12): 7456-7461.
- Eaton, K. A., Morgan, D. R. and Krakowka, S. 1992. Motility as a factor in the colonisation of gnotobiotic piglets by *Helicobacter pylori*. *Journal of Medical Microbiology*, 37(2): 123-127.
- El-Omar, E. M., Oien, K., El-Nujumi, A., Gillen, D. E., Wirz, A. L. A., Dahill, S. T. and McColl, K. E. 1997. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology*, 113(1): 15-24.

- El-Omar, E. M., Rabkin, C. S., Gammon, M. D., Vaughan, T. L., Risch, H. A., Schoenberg, J. B. and Chow, W. H. 2003. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, 124(5): 1193-1201.
- El-Zaatari, F. A., Nguyen, A. M. H., Genta, R. M., Klein, P. D. and Graham, D. Y. 1995. Determination of *Helicobacter pylori* status by reverse transcription-polymerase chain reaction: Comparison with urea breath test. *Digestive Diseases and Sciences*, 40(1): 109-113.
- Ernst, P. B. and Gold, B. D. 2000. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annual Reviews in Microbiology*, 54(1): 615-640.
- Everhart, J. E. 2000. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29(3): 559-578.
- Fan, X., Crowe, S. E., Behar, S., Gunasena, H., Ye, G., Haeberle, H. and Reyes, V. E. 1998. The effect of class II major histocompatibility complex expression on adherence of *Helicobacter pylori* and induction of apoptosis in gastric epithelial cells: a mechanism for T helper cell type 1-mediated damage. *The Journal of Experimental Medicine*, 187(10): 1659-1669.
- Fan, X., Gunasena, H., Cheng, Z., Espejo, R., Crowe, S. E., Ernst, P. B. and Reyes, V. E. 2000. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. *The Journal of Immunology*, 165(4): 1918-1924.
- Farinha, P. and Gascoyne, R. D. 2005. *Helicobacter pylori* and MALT lymphoma. *Gastroenterology*, 128(6): 1579-1605.
- Feldman, R. 2001. Epidemiologic observations and open questions about disease and infection caused by *Helicobacter pylori*. *Helicobacter pylori: Molecular and Cellular Biology*, 1(2): 9-13.
- Figueiredo, C., Machado, J. C., Pharoah, P., Seruca, R., Sousa, S., Carvalho, R. and Sobrinho-Simoes, M. 2002. *Helicobacter pylori* and interleukin 1 genotyping: an opportunity to identify high-risk individuals for gastric carcinoma. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(22): 1680-1687.
- Figura, N., Guglielmetti, P., Rossolini, A., Barberi, A., Cusi, G., Musmanno, R. A. and Quaranta, S. 1989. Cytotoxin production by *Campylobacter pylori* strains isolated

- from patients with peptic ulcers and from patients with chronic gastritis only. *Journal of Clinical Microbiology*, 27(1): 225-226.
- Fiocca, R., Luinetti, O., Villani, L., Chiaravalli, A. M., Capella, C. and Solcia, E. 1994. Epithelial cytotoxicity, immune responses, and inflammatory components of *Helicobacter pylori* gastritis. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(205): 11-21.
- Ford, A. C., Malfertheiner, P., Giguère, M., Santana, J., Khan, M. and Moayyedi, P. 2008. Adverse events with bismuth salts for *Helicobacter pylori* eradication: systematic review and meta-analysis. *World Journal of Gastroenterology*, 14(48): 7361
- Furukawa, K., Takahashi, T., Arai, F., Matsushima, K. and Asakura, H. 1998. Enhanced mucosal expression of interleukin-6 mRNA but not of interleukin-8 mRNA at the margin of gastric ulcer in *Helicobacter pylori*-positive gastritis. *Journal of Gastroenterology*, 33(2): 625-633.
- Gatta, L., Vakil, N., Vaira, D. and Scarpignato, C. 2013. Global eradication rates for *Helicobacter pylori* infection: systematic review and meta-analysis of sequential therapy. *BMJ*, 13(2): 347.
- Gebara, E. C. E., Pannuti, C., Faria, C. M. D., Chehter, L., Mayer, M. P. A. and Lima, L. A. P. A. 2004. Prevalence of *Helicobacter pylori* detected by polymerase chain reaction in the oral cavity of periodontitis patients. *Oral Microbiology and Immunology*, 19(4): 277-280.
- Gebert, B., Fischer, W., Weiss, E., Hoffmann, R. and Haas, R. 2003. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin inhibits T lymphocyte activation. *Science*, 301(5636): 1099-1102.
- Gill, P., Amini, M., Ghaemi, A., Shokouhizadeh, L., Abdul-Tehrani, H., Karami, A. and Gilak, A. 2007. Detection of *Helicobacter pylori* by enzyme-linked immunosorbent assay of thermophilic helicase-dependent isothermal DNA amplification. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 59(3): 243-249.
- Gisbert, J. P. 2005. The recurrence of *Helicobacter pylori* infection: incidence and variables influencing it. A critical review. *Official Journal of the American College of Gastroenterology*, 100(9): 2083-2099.

- Gisbert, J. P. and Pajares, J. M. 2004. ¹³C-urea breath test in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection—a critical review. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 20(10): 1001-1017.
- Gisbert, J. P., Calvet, X., O'Connor, A., Mégraud, F. and O'Morain, C. A. 2010. Sequential therapy for *Helicobacter pylori* eradication: a critical review. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 44(5): 313-325.
- Gobert, A. P., Bambou, J. C., Werts, C., Balloy, V., Chignard, M., Moran, A. P. and Ferrero, R. L. 2004. *Helicobacter pylori* heat shock protein 60 mediates interleukin-6 production by macrophages via a toll-like receptor (TLR)-2-, TLR-4-, and myeloid differentiation factor 88-independent mechanism. *Journal of Biological Chemistry*, 279(1): 245-250.
- Goll, R., Gruber, F., Olsen, T., Cui, G., Raschpichler, G., Buset, M. and Florholmen, J. 2007. *Helicobacter pylori* stimulates a mixed adaptive immune response with a strong T-regulatory component in human gastric mucosa. *Helicobacter*, 12(3): 185-192.
- Goll, R., Husebekk, A., Isaksen, V., Kauric, G., Hansen, T. and Florholmen, J. 2005. Increased Frequency of Antral CD4+ T and CD19+ B Cells in Patients with *Helicobacter pylori*-Related Peptic Ulcer Disease. *Scandinavian Journal of Immunology*, 61(1): 92-97.
- Goosen, C., Theron, J., Ntsala, M., Maree, F. F., Olckers, A., Botha, S. J. and Van der Merwe, S. W. 2002. Evaluation of a novel heminested PCR assay based on the phosphoglucosamine mutase gene for detection of *Helicobacter pylori* in saliva and dental plaque. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(1): 205-209.
- Graham, D. Y., Genta, R., Evans, D. G., Reddy, R., Clarridge, J. E., Olson, C. A. and Siepman, N. 1996. *Helicobacter pylori* does not migrate from the antrum to the corpus in response to omeprazole. *American Journal of Gastroenterology*, 91(10): 79-87.
- Graham, D. Y., Opekun, A. R., Osato, M. S., El-Zimaity, H. M. T., Lee, C. K., Yamaoka, Y. and Monath, T. P. 2004. Challenge model for *Helicobacter pylori* infection in human volunteers. *Gut*, 53(9): 1235-1243.

- Graham, D., Evans JR, D., Alpert, L., Klein, P., Evans, D., Opekun, A. and Boutton, T. 1987. *Campylobacter pylori* detected noninvasively by the ¹³C-urea breath test. *The Lancet*, 329(8543): 1174-1177.
- Granstrom, M., Lehours, P., Bengtsson, C. and Mégraud, F. 2008. Diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 13(1): 7-12.
- Guillemin, K., Salama, N. R., Tompkins, L. S. and Falkow, S. 2002. Cag pathogenicity island-specific responses of gastric epithelial cells to *Helicobacter pylori* infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(23): 15136-15141.
- Handt, L. K., Fox, J. G., Dewhirst, F. E., Fraser, G. J., Paster, B. J., Yan, L. L. and Stalis, I. H. 1994. *Helicobacter pylori* isolated from the domestic cat: public health implications. *Infection and Immunity*, 62(6): 2367-2374.
- Hansson, L. E., Nyrén, O., Hsing, A. W., Bergström, R., Josefsson, S., Chow, W. H. and Adami, H. O. 1996. The risk of stomach cancer in patients with gastric or duodenal ulcer disease. *New England Journal of Medicine*, 335(4): 242-249.
- Hayashi, S., Sugiyama, T., Yokota, K., Isogai, H., Isogai, E., Oguma, K. and Hirai, Y. 1998. Analysis of immunoglobulin A antibodies to *Helicobacter pylori* in serum and gastric juice in relation to mucosal inflammation. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology*, 5(5): 617-621.
- He, Q., Wang, J. P., Osato, M. and Lachman, L. B. 2002. Real-time quantitative PCR for detection of *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40(10): 3720-3728.
- Hennig, E. E., Mernaugh, R., Edl, J., Cao, P. and Cover, T. L. 2004. Heterogeneity among *Helicobacter pylori* strains in expression of the outer membrane protein BabA. *Infection and Immunity*, 72(6): 3429-3435.
- Herbrink, P. and Van Doorn, L. J. 2000. Serological methods for diagnosis of *Helicobacter pylori* infection and monitoring of eradication therapy. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 19(71): 164-173.
- Hessey, S. J., Spencer, J., Wyatt, J. I., Sobala, G., Rathbone, B. J., Axon, A. T. and Dixon, M. F. 1990. Bacterial adhesion and disease activity in *Helicobacter* associated chronic gastritis. *Gut*, 31(2): 134-138.
- Higashi, H., Nakaya, A., Tsutsumi, R., Yokoyama, K., Fujii, Y., Ishikawa, S. and Hatakeyama, M. 2004. *Helicobacter pylori* CagA induces Ras-independent

- morphogenetic response through SHP-2 recruitment and activation. *Journal of Biological Chemistry*, 279(17): 17205-17216.
- Hirschl, A. M. and Makristathis, A. 2007. Methods to detect *Helicobacter pylori*: from culture to molecular biology. *Helicobacter*, 12(9): 6-11.
- Hirschl, A. M. and Rotter, M. L. 1996. Serological tests for monitoring *Helicobacter pylori* eradication treatment. *Journal of Gastroenterology*, 31(1): 33-36.
- Ho, G. Y. and Windsor, H. M. 2000. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*: polymerase chain reaction tests. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29(4): 903-915.
- Ho, S. A., Hoyle, J. A., Lewis, F. A., Secker, A. D., Cross, D., Mapstone, N. P. and Taylor, G. R. 1991. Direct polymerase chain reaction test for detection of *Helicobacter pylori* in humans and animals. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(11): 2543-2549.
- Hui, P. K., Chan, W. Y., Cheung, P. S., Chan, J. K. and Ng, C. S. 1992. Pathologic changes of gastric mucosa colonized by *Helicobacter pylori*. *Human Pathology*, 23(5): 548-556.
- Hussein, N. R., Robinson, K. and Atherton, J. C. 2008. A study of age-specific *Helicobacter pylori* seropositivity rates in Iraq. *Helicobacter*, 13(4): 306-307.
- Innocenti, M., Thoreson, A. C., Ferrero, R. L., Stromberg, E., Bolin, I., Eriksson, L. and Quiding-Jarbrink, M. 2002. *Helicobacter pylori*-induced activation of human endothelial cells. *Infection and Immunity*, 70(8): 4581-4590.
- Israel, D. A. and Peek Jr, R. M. 2006. The role of persistence in *Helicobacter pylori* pathogenesis. *Current Opinion in Gastroenterology*, 22(1): 3-7.
- Jaskowski, T. D., Martins, T. B., Hill, H. R. and Litwin, C. M. 1997. Immunoglobulin A antibodies to *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11): 2999-3000.
- Kabir, S. 2004. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in feces and saliva by polymerase chain reaction: a review. *Helicobacter*, 9(2): 115-123.
- Kandulski, A., Wex, T., Kuester, D., Peitz, U., Gebert, I., Roessner, A. and Malfertheiner, P. 2008. Naturally occurring regulatory T cells (CD4+, CD25^{high}, FOXP3+) in the antrum and cardia are associated with higher *H. pylori* colonization and increased gene expression of TGF- β 1. *Helicobacter*, 13(4): 295-303.

- Kang, H. Y., Kim, N., Park, Y. S., Hwang, J. H., Kim, J. W., Jeong, S. H. and Song, I. S. 2006. Progression of atrophic gastritis and intestinal metaplasia drives *Helicobacter pylori* out of the gastric mucosa. *Digestive Diseases and Sciences*, 51(2): 2310-2315.
- Kaparakis, M., Walduck, A. K., Price, J. D., Pedersen, J. S., Van Rooijen, N., Pearse, M. J. and Strugnell, R. A. 2008. Macrophages are mediators of gastritis in acute *Helicobacter pylori* infection in C57BL/6 mice. *Infection and Immunity*, 76(5): 2235-2239.
- Karita, M., Tsuda, M. and Nakazawa, T. 1995. Essential role of urease in vitro and in vivo *Helicobacter pylori* colonization study using a wild-type and isogenic urease mutant strain. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 21(2): 160-163.
- Karnes, W. E., Samloff, I. M., Siurala, M., Kekki, M., Sipponen, P., Kim, S. W. R. and Walsh, J. H. 1991. Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology*, 101(1): 167-174.
- Kearney, M. 2003. Systematics of the Amphisbaenia (Lepidosauria: Squamata) based on morphological evidence from recent and fossil forms. *Herpetological Monographs*, 17(1): 1-74.
- Keates, S., Sougioultzis, S., Keates, A. C., Zhao, D., Peek, R. M., Shaw, L. M. and Kelly, C. P. 2001. *cag+* *Helicobacter pylori* induce transactivation of the epidermal growth factor receptor in AGS gastric epithelial cells. *Journal of Biological Chemistry*, 276(51): 48127-48134.
- Kiesslich, R., Goetz, M., Burg, J., Stolte, M., Siegel, E., Maeurer, M. J. and Neurath, M. F. 2005. Diagnosing *Helicobacter pylori* in vivo by confocal laser endoscopy. *Gastroenterology*, 128(7): 2119-2123.
- Kignel, S., De Almeida Pina, F., André, E. A., Alves Mayer, M. P. and Birman, E. G. 2005. Occurrence of *Helicobacter pylori* in dental plaque and saliva of dyspeptic patients. *Oral Diseases*, 11(1): 17-21.
- Kim, S. Y., Lee, Y. C., Kim, H. K. and Blaser, M. J. 2006. *Helicobacter pylori* CagA transfection of gastric epithelial cells induces interleukin-8. *Cellular Microbiology*, 8(1): 97-106.

- Kimmel, B., Bosserhoff, A., Frank, R., Gross, R., Goebel, W. and Beier, D. 2000. Identification of immunodominant antigens from *Helicobacter pylori* and evaluation of their reactivities with sera from patients with different gastroduodenal pathologies. *Infection and Immunity*, 68(2): 915-920.
- Kobayashi, D., Eishi, Y., Ohkusa, T., Ishige, I., Suzuki, T., Minami, J. and Koike, M. 2002. Gastric mucosal density of *Helicobacter pylori* estimated by real-time PCR compared with results of urea breath test and histological grading. *Journal of Medical Microbiology*, 51(4): 305-311.
- Koelz, H. R., Arnold, R., Stolte, M., Fischer, M. and Blum, A. L. 2003. Treatment of *Helicobacter pylori* in functional dyspepsia resistant to conventional management: a double blind randomised trial with a six month follow up. *Gut*, 52(1): 40-46.
- Kokkola, A., Rautelin, H., Puolakkainen, P., Sipponen, P., Färkkilä, M., Haapiainen, R. and Kosunen, T. U. 1998. Positive result by serology indicates active *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(6): 1808-1810.
- Kokkola, A., Rautelin, H., Puolakkainen, P., Sipponen, P., Färkkilä, M., Haapiainen, R. and Kosunen, T. U. 2000. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in patients with atrophic gastritis: comparison of histology, ¹³C-urea breath test, and serology. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 35(2): 138-141.
- Koletzko, S. 2005. Noninvasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection in children. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 19(5): 433-439.
- Kosunen, T. U., Seppälä, K., Sarna, S. and Sipponen, P. 1992. Diagnostic value of decreasing IgG, IgA, and IgM antibody titres after eradication of *Helicobacter pylori*. *The Lancet*, 339(8798): 893-895.
- Kozak, K., Larka, C., Nickol, A. and Yi, A. 1997. Detection of *H. pylori* antigen in stool specimens using a novel enzyme immunoassay, abstr C272. *American Society for Microbiology* 97(4): 161.
- Kranzer, K., Eckhardt, A., Aigner, M., Knoll, G., Deml, L., Speth, C. and Schneider-Brachert, W. 2004. Induction of maturation and cytokine release of human dendritic cells by *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 72(8): 4416-4423.
- Kuipers, E. J. 1998. Relationship between *Helicobacter pylori*, atrophic gastritis and gastric cancer. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 12(1): 25-36.

- Kuipers, E. J., Peña, A. S., Festen, H. P. M., Meuwissen, S. G. M., Uytterlinde, A. M., Roosendaal, R. and Nelis, G. F. 1995. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis. *The Lancet*, 345(8964): 1525-1528.
- Kusters, J. G., Van Vliet, A. H. and Kuipers, E. J. 2006. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3): 449-490.
- Labigne, A. 1994. Distribution of the *cagA* gene among *Helicobacter pylori* strains associated with peptic ulcer. *The American Journal of Gastroenterology*, 89(8): 1326.
- Labigne, A. and De Reuse, H. 1996. Determinants of *Helicobacter pylori* pathogenicity. *Infectious Agents and Disease*, 5(4): 191-202.
- Laheij, R. J. F., Straatman, H. M. P. M., Jansen, J. B. M. J. and Verbeek, A. L. M. 1998. Evaluation of commercially available *Helicobacter pylori* serology kits: a review. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(10): 2803-2809.
- Lascols, C., Lamarque, D., Costa, J. M., Copie-Bergman, C., Le Glaunec, J. M., Deforges, L. and Tankovic, J. 2003. Fast and accurate quantitative detection of *Helicobacter pylori* and identification of clarithromycin resistance mutations in *H. pylori* isolates from gastric biopsy specimens by real-time PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10): 4573-4577.
- Lawson, A. J., Elviss, N. C. and Owen, R. J. 2005. Real-time PCR detection and frequency of 16S rDNA mutations associated with resistance and reduced susceptibility to tetracycline in *Helicobacter pylori* from England and Wales. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(2): 282-286.
- Lehmann, F. S., Terracciano, L., Carena, I., Baeriswyl, C., Drewe, J., Tornillo, L. and Beglinger, C. 2002. In situ correlation of cytokine secretion and apoptosis in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 283(2): 481-488.
- Leodolter, A., Vaira, D., Bazzoli, F., Schütze, K., Hirschl, A., Megraud, F. and Malfertheiner, P. 2003. European multicentre validation trial of two new non-invasive tests for the detection of *Helicobacter pylori* antibodies: urine-based ELISA and rapid urine test. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 18(9): 927-931.

- Leunk, R. D. 1991. Production of a cytotoxin by *Helicobacter pylori*. *Reviews of Infectious Diseases*, 13(8): 686-689.
- Levi, S., Haddad, G., Ghosh, P., Beardshall, K., Playford, R. and Calam, J. 1989. *Campylobacter pylori* and duodenal ulcers: the gastrin link. *The Lancet*, 333(8648): 1167-1168.
- Lindholm, C., Quiding-Jarbrink, M., Lonroth, H., Hamlet, A. and Svennerholm, A. M. 1998. Local cytokine response in *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infection and Immunity*, 66(12): 5964-5971.
- Linpisarn, S., Koosirirat, C., Prommuangyong, K., Suwan, W., Lertprasertsuke, N. and Phornphutkul, K. 2005. Use of different PCR primers and gastric biopsy tissue from CLO test for the detection of *Helicobacter pylori*. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(1): 135-140.
- Liou, J. M., Lin, J. T., Wang, H. P., Huang, S. P., Lee, Y. C., Chiu, H. M. and Wu, M. S. 2007. IL-1B-511 C→ T polymorphism is associated with increased host susceptibility to *Helicobacter pylori* infection in Chinese. *Helicobacter*, 12(2): 142-149.
- Lottspeich, C., Schwarzer, A., Panthel, K., Koletzko, S. and Rüssmann, H. 2007. Evaluation of the novel *Helicobacter pylori* ClariRes real-time PCR assay for detection and clarithromycin susceptibility testing of *H. pylori* in stool specimens from symptomatic children. *Journal of Clinical Microbiology*, 45(6): 1718-1722.
- Louw, J. A., Jaskiewicz, K., Girdwood, A. H., Zak, J., Trey, G., Lucke, W. and Truter, H. 1993. *Helicobacter pylori* prevalence in non-ulcer dyspepsia ethnic and socio-economic differences. *South African Medical Journal*, 83(3): 169-171.
- Lu, H., Wu, J. Y., Kudo, T., Ohno, T., Graham, D. Y. and Yamaoka, Y. 2005. Regulation of interleukin-6 promoter activation in gastric epithelial cells infected with *Helicobacter pylori*. *Molecular Biology of the Cell*, 16(10): 4954-4966.
- Lundgren, A., Strömberg, E., Sjöling, A., Lindholm, C., Enarsson, K., Edebo, A. and Lundin, B. S. 2005. Mucosal FOXP3-expressing CD4⁺ CD25^{high} regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infection and Immunity*, 73(1): 523-531.
- Lundgren, A., Suri-Payer, E., Enarsson, K., Svennerholm, A. M. and Lundin, B. S. 2003. *Helicobacter pylori*-specific CD4⁺ CD25^{high} regulatory T cells suppress memory

- T-cell responses to *H. pylori* in infected individuals. *Infection and Immunity*, 71(4): 1755-1762.
- Luther, J., Higgins, P. D., Schoenfeld, P. S., Moayyedi, P., Vakil, N. and Chey, W. D. 2010. Empiric quadruple vs. triple therapy for primary treatment of *Helicobacter pylori*, *JAMA*, 10(1): 65-73.
- MacFaddin, J. E. 2000. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Lippincott Williams and Wilkins, 912 page, New York.
- Maconi, V., Galletta, I., Sangaletti, P. and Porro, G. B. 1999. Is routine histological evaluation an accurate test for *Helicobacter pylori* infection?. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 13(3): 327-331.
- Mahdavi, J., Sondén, B., Hurtig, M., Olfat, F. O., Forsberg, L., Roche, N. and Borén, T. 2002. *Helicobacter pylori* SabA adhesin in persistent infection and chronic inflammation. *Science*, 297(5581): 573-578.
- Mai, U. E., Perez-Perez, G. I., Wahl, L. M., Wahl, S. M., Blaser, M. J. and Smith, P. D. 1991. Soluble surface proteins from *Helicobacter pylori* activate monocytes/macrophages by lipopolysaccharide-independent mechanism. *The Journal of Clinical Investigation*, 87(3): 894-900.
- Makristathis, A., Pasching, E., Schütze, K., Wimmer, M., Rotter, M. L. and Hirschl, A. M. 1998. Detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens by PCR and antigen enzyme immunoassay. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(9): 2772-2774.
- Malaty, H. M., Logan, N. D., Graham, D. Y., Ramchatesingh, J. E. and Reddy, S. G. 2000. *Helicobacter pylori* infection in asymptomatic children: comparison of diagnostic tests. *Helicobacter*, 5(3): 155-159.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C., Bazzoli, F., El-Omar, E., Graham, D. and Kuipers, E. J. 2007. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection: the Maastricht III Consensus Report. *Gut*, 56(6): 772-781.
- Malfertheiner, P., Megraud, F., O'morain, C., Hungin, A. P. S., Jones, R., Axon, A. and European *Helicobacter Pylori* Study Group (EHPSG). 2002. Current concepts in the management of *Helicobacter pylori* infection—The Maastricht 2-2000 Consensus Report. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 16(2): 167-180.
- Marshall, B. 2002. *Helicobacter pylori*: 20 years on. *Clinical Medicine*, 2(2): 147.

- Matsuda, R. and Morizane, T. 2005. *Helicobacter pylori* infection in dental professionals: a 6-year prospective study. *Helicobacter*, 10(4): 307-311.
- Matsukura, N., Onda, M., Tokunaga, A., Kato, S., Yamashita, K. and Ohbayashi, M. 1995. Detection of *Helicobacter pylori* DNA in gastric juice by the polymerase chain reaction: comparison with findings in bacterial culture and the detection of tissue IgA and serum IgG antibodies against *Helicobacter pylori*. *Journal of Gastroenterology*, 30(7): 689-695.
- Matsumura, M., Hikiba, Y., Ogura, K., Togo, G., Tsukuda, I., Ushikawa, K. and Omata, M. 2001. Rapid detection of mutations in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori* that confers resistance to clarithromycin treatment to the bacterium. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(2): 691-695.
- Mattsson, A., Quiding-Jarbrink, M., Lonroth, H., Hamlet, A., Ahlstedt, I. and Svennerholm, A. M. 1998. Antibody-secreting cells in the stomachs of symptomatic and asymptomatic *Helicobacter pylori*-infected subjects. *Infection and Immunity*, 66(6): 2705-2712.
- McCull, K. E. L., El-Omar, E. and Gillen, D. 1998. Interactions between *H. pylori* infection, gastric acid secretion and anti-secretory therapy. *British Medical Bulletin*, 54(1): 121-138.
- Mégraud, F. 1996. Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 31(215): 57-62.
- Mégraud, F. and Broutet, N. 2000. have we found the source of *Helicobacter pylori*?. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 14(8): 7-12.
- Meyer, F., Wilson, K. T. and James, S. P. 2000. Modulation of innate cytokine responses by products of *Helicobacter pylori*. *Infection and Immunity*, 68(11): 6265-6272.
- Miehlke, S., Kirsch, C., Agha-Amiri, K., Günther, T., Lehn, N., Malfertheiner, P. and Bayerdörffer, E. 2000. The *Helicobacter pylori* *vacA* s1, m1 genotype and *cagA* is associated with gastric carcinoma in Germany. *International Journal of Cancer*, 87(3): 322-327.
- Mimuro, H., Suzuki, T., Tanaka, J., Asahi, M., Haas, R. and Sasakawa, C. 2002. Grb2 is a key mediator of *Helicobacter pylori* CagA protein activities. *Molecular Cell*, 10(4): 745-755.

- Moayyedi, P., Deeks, J., Talley, N. J., Delaney, B. and Forman, D. 2003. An update of the cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: Resolving the discrepancy between systematic reviews. *Official Journal of the American College of Gastroenterology*, 98(12): 2621-2626.
- Molinari, M., Salio, M., Galli, C., Norais, N., Rappuoli, R., Lanzavecchia, A. and Montecucco, C. 1998. Selective inhibition of Ii-dependent antigen presentation by *Helicobacter pylori* toxin VacA. *The Journal of Experimental Medicine*, 187(1): 135-140.
- Monteiro, L., Cabrita, J. and Mégraud, F. 1997. Evaluation of performances of three DNA enzyme immunoassays for detection of *Helicobacter pylori* PCR products from biopsy specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(11): 2931-2936.
- Morris, J. M., Reasonover, A. L., Bruce, M. G., Bruden, D. L., McMahon, B. J., Sacco, F. D. and Parkinson, A. J. 2005. Evaluation of seaFAST, a rapid fluorescent in situ hybridization test, for detection of *Helicobacter pylori* and resistance to clarithromycin in paraffin-embedded biopsy sections. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(7): 3494-3496.
- Moss, S. F., Calam, J., Agarwal, B., Wang, S. and Holt, P. R. 1996. Induction of gastric epithelial apoptosis by *Helicobacter pylori*. *Gut*, 38(4): 498-501.
- Murakami, K., Okimoto, T., Kodama, M., Tanahashi, J., Fujioka, T., Ikeda, F. and Kobayashi, I. 2009. Sitafloxacin activity against *Helicobacter pylori* isolates, including those with *gyrA* mutations. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(7): 3097-3099.
- Nakayama, M., Kimura, M., Wada, A., Yahiro, K., Ogushi, K. I., Niidome, T. and Hirayama, T. 2004. *Helicobacter pylori* VacA activates the p38/activating transcription factor 2-mediated signal pathway in AZ-521 cells. *Journal of Biological Chemistry*, 279(8): 7024-7028.
- National Institutes of Health Consensus Conference. 1994. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. National Institutes of Health Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in Peptic Ulcer Disease. *JAMA* 272(1): 65-69.
- Ndip, R. N., MacKay, W. G., Farthing, M. J. and Weaver, L. T. 2003. Culturing *Helicobacter pylori* from clinical specimens: review of microbiologic methods. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 36(5): 616-622.

- Neutra, M. R., Pringault, E. and Kraehenbuhl, J. P. 1996. Antigen sampling across epithelial barriers and induction of mucosal immune responses. *Annual Review of Immunology*, 14(1): 275-300.
- Niv, Y. and Hazazi, R. 2008. *Helicobacter pylori* recurrence in developed and developing countries: meta-analysis of ¹³C-urea breath test follow-up after eradication. *Helicobacter*, 13(1): 56-61.
- Nurgalieva, Z. Z., Conner, M. E., Opekun, A. R., Zheng, C. Q., Elliott, S. N., Ernst, P. B. and Graham, D. Y. 2005. B-cell and T-cell immune responses to experimental *Helicobacter pylori* infection in humans. *Infection and Immunity*, 73(5): 2999-3006.
- O'Brien, D. P., Israel, D. A., Krishna, U., Romero-Gallo, J., Nedrud, J., Medof, M. E. and Peek, R. M. 2006. The role of Decay-accelerating factor as a receptor for *Helicobacter pylori* and a mediator of gastric inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 281(19): 13317-13323.
- Odenbreit, S., Linder, S., Gebert-Vogl, B., Rieder, G., Moran, A. P. and Haas, R. 2006. Interleukin-6 induction by *Helicobacter pylori* in human macrophages is dependent on phagocytosis. *Helicobacter*, 11(3): 196-207.
- Odenbreit, S., Püls, J., Sedlmaier, B., Gerland, E., Fischer, W. and Haas, R. 2000. Translocation of *Helicobacter pylori* CagA into gastric epithelial cells by type IV secretion. *Science*, 287(5457): 1497-1500.
- Oh, J. D., Karam, S. M. and Gordon, J. I. 2005. Intracellular *Helicobacter pylori* in gastric epithelial progenitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(14): 5186-5191.
- Ohara, T., Arakawa, T., Higuchi, K. and Kaneda, K. 2001. Overexpression of co-stimulatory molecules in peripheral mononuclear cells of *Helicobacter pylori*-positive peptic ulcer patients: possible difference in host responsiveness compared with non-ulcer patients. *European Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13(1): 11-18.
- Oksanen, K., Kainulainen, H., Ruuska, T., Mäki, M. and Ashorn, M. 1999. Reverse transcription-polymerase chain reaction in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in Finnish children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 28(3): 252-256.

- Oleastro, M., Ménard, A., Santos, A., Lamouliatte, H., Monteiro, L., Barthélémy, P. and Mégraud, F. 2003. Real-time PCR assay for rapid and accurate detection of point mutations conferring resistance to clarithromycin in *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(1): 397-402.
- Oliveira, A. G., Sanna, M. D. G. P., Rocha, G. A., Rocha, A. M. C., Santos, A., Dani, R. and Queiroz, D. M. M. 2004. *Helicobacter* species in the intestinal mucosa of patients with ulcerative colitis. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(1): 384-386.
- Ornelas, I. J., Galvan-Potrillo, M. and López-Carrillo, L. 2007. Protective effect of yoghurt consumption on *Helicobacter pylori* seropositivity in a Mexican population. *Public Health Nutrition*, 10(11): 1283-1287.
- Özdek, A., Çirak, M. Y., Samim, E., Bayiz, Ü., Safak, M. A. and Turet, S. 2003. A possible role of *Helicobacter pylori* in chronic rhinosinusitis: a preliminary report. *The Laryngoscope*, 113(4): 679-682.
- Papastergiou, V., Georgopoulos, S. D. and Karatapanis, S. 2014. Treatment of *Helicobacter pylori* infection: Past, present and future. *World Journal of Gastrointestinal Pathophysiology*, 5(4): 392.
- Parsonnet, J. 1995. The incidence of *Helicobacter pylori* infection. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 9(3): 45-51.
- Parsonnet, J., Shmueli, H. and Haggerty, T. 1999. Fecal and oral shedding of *Helicobacter pylori* from healthy infected adults. *JAMA*, 282(23): 2240-2245.
- Patel, P., Mendall, M. A., Khulusi, S., Molineaux, N., Levy, J., Maxwell, J. D. and Northfield, T. C. 1994. Salivary antibodies to *Helicobacter pylori*: screening dyspeptic patients before endoscopy. *The Lancet*, 344(8921): 511-512.
- Pathak, S. K., Basu, S., Bhattacharyya, A., Pathak, S., Banerjee, A., Basu, J. and Kundu, M. 2006. TLR4-dependent NF- κ B activation and mitogen- and stress-activated protein kinase 1-triggered phosphorylation events are central to *Helicobacter pylori* peptidyl prolyl cis-, trans-isomerase (HP0175)-mediated induction of IL-6 release from macrophages. *The Journal of Immunology*, 177(11): 7950-7958.
- Pavlidis, A., Papaziogas, S. and Koutelidakis, P. 2002. *Helicobacter pylori* infection in patients undergoing appendectomy. *Swiss Surgery*, 8(3): 110-112.
- Perez-Perez, G. I., Dworkin, B. M., Chodos, J. E. and Blaser, M. J. 1988. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Annals of Internal Medicine*, 109(1): 11-17.

- Perez-Perez, G. I., Rothenbacher, D. and Brenner, H. 2004. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 9(1): 1-6.
- Phadnis, S. H., Parlow, M. H., Levy, M., Ilver, D. A. G., Caulkins, C. M., Connors, J. B. and Dunn, B. E. 1996. Surface localization of *Helicobacter pylori* urease and a heat shock protein homolog requires bacterial autolysis. *Infection and Immunity*, 64(3): 905-912.
- Prakobphol, A., Tangemann, K., Rosen, S. D., Hoover, C. I., Leffler, H. and Fisher, S. J. 1999. Separate oligosaccharide determinants mediate interactions of the low-molecular-weight salivary mucin with neutrophils and bacteria. *Biochemistry*, 38(21): 6817-6825.
- Puetz, T., Vakil, N., Phadnis, S., Dunn, B. and Robinson, J. 1997. The Pyloritek test and the CLO test: accuracy and incremental cost analysis. *American Journal of Gastroenterology*, 92(2): 2-6.
- Quiding-Järbrink, M., Lundin, B. S., Lönröth, H. and Svennerholm, A. M. 2001. CD4+ and CD8+ T cell responses in *Helicobacter pylori*-infected individuals. *Clinical & Experimental Immunology*, 123(1): 81-87.
- Quinn, C. M., Bjarnason, I. and Price, A. B. 1993. Gastritis in patients on non-steroidal anti-inflammatory drugs. *Histopathology*, 23(4): 341-348.
- Raghavan, S. and Holmgren, J. 2005. CD4+ CD25+ suppressor T cells regulate pathogen induced inflammation and disease. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 44(2): 121-127.
- Rehfeld, J. F. 1998. The new biology of gastrointestinal hormones. *Physiological Reviews*, 78(4): 1087-1108.
- Replogle, M. L., Glaser, S. L., Hiatt, R. A. and Parsonnet, J. 1995. Biologic sex as a risk factor for *Helicobacter pylori* infection in healthy young adults. *American Journal of Epidemiology*, 142(8): 856-863.
- Robinson, K., Argent, R. H. and Atherton, J. C. 2007. The inflammatory and immune response to *Helicobacter pylori* infection. *Best practice & research Clinical Gastroenterology*, 21(2): 237-259.
- Rocha, M., Avenaud, P., Menard, A., Le Bail, B., Balabaud, C., Bioulac-Sage, P. and Megraud, F. 2005. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. *Gut*, 54(3): 396-401.

- Rokkas, T., Filipe, M. I. and Sladen, G. E. 1991. Detection of an increased incidence of early gastric cancer in patients with intestinal metaplasia type III who are closely followed up. *Gut*, 32(10): 1110-1113.
- Romaniuk, P. J., Zoltowska, B., Trust, T. J., Lane, D. J., Olsen, G. J., Pace, N. R. and Stahl, D. 1987. *Campylobacter pylori*, the spiral bacterium associated with human gastritis, is not a true *Campylobacter* sp. *Journal of Bacteriology*, 169(5): 2137-2141.
- Roosendaal, R., Kuipers, E. J., Van den Brule, A. J., Pena, A. S., Uytterlinde, A. M., Walboomers, J. M. and De Graaff, J. 1994. Importance of the fiberoptic endoscope cleaning procedure for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(4): 1123-1126.
- Rozengurt, E. and Walsh, J. H. 2001. Gastrin, CCK, signaling, and cancer. *Annual Review of Physiology*, 63(1): 49-76.
- Russmann, H., Kempf, V. A., Koletzko, S., Heesemann, J. and Autenrieth, I. B. 2001. Comparison of fluorescent in situ hybridization and conventional culturing for detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(1): 304-308.
- Ruzsovics, A., Unger, Z., Ebert, M., Malfertheiner, P. and Tulassay, Z. 2001. Determination of *Helicobacter pylori* cagA, vacA genotypes with real-time PCR in gastric biopsy specimen. Correlation to proliferation immunohistochemical data. *Gastroenterology*, 5(120): 578.
- Sambrook, J., Fritsch, E. F. and Maniatis, T. 1989. *Molecular cloning: a laboratory manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1546 page, New York.
- Santos, I. S., Boccio, J., Santos, A. S., Valle, N. C., Halal, C. S., Bachilli, M. C. and Lopes, R. D. 2005. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and associated factors among adults in Southern Brazil: a population-based cross-sectional study. *BMC Public Health*, 5(2): 1-10.
- Sardarian, H., Fakheri, H., Hosseini, V., Taghvaei, T., Maleki, I. and Mokhtare, M. 2013. Comparison of hybrid and sequential therapies for *Helicobacter pylori* eradication in Iran: a prospective randomized trial. *Helicobacter*, 18(2): 129-134.
- Satin, B., Del Giudice, G., Della Bianca, V., Dusi, S., Laudanna, C., Tonello, F. and Rossi, F. 2000. The neutrophil-activating protein (HP-NAP) of *Helicobacter pylori* is a

- protective antigen and a major virulence factor. *The Journal of Experimental Medicine*, 191(9): 1467-1476.
- Sawada, M. and Dickinson, C. J. 1997. The G cell. *Annual Review of Physiology*, 59(1): 273-298.
- Scholte, G. H. A., Van Doorn, L. J., Quint, W. G. V. and Lindeman, J. 2001. Genotyping of *Helicobacter pylori* Strains in Formalin-Fixed or Formaldehyde-Sublimate—Fixed Paraffin-Embedded Gastric Biopsy Specimens. *Diagnostic Molecular Pathology*, 10(3): 166-170.
- Scholte, G. H. A., Van Doorn, L. J., Quint, W. G. V. and Lindeman, J. 1997. Polymerase chain reaction for the detection of *Helicobacter pylori* in formaldehyde-sublimate fixed, paraffin-embedded gastric biopsies. *Diagnostic Molecular Pathology*, 6(4): 238-243.
- Selbach, M., Moese, S., Hurwitz, R., Hauck, C. R., Meyer, T. F. and Backert, S. 2003. The *Helicobacter pylori* CagA protein induces cortactin dephosphorylation and actin rearrangement by c-Src inactivation. *The EMBO Journal*, 22(1): 515-528.
- Semino-Mora, C., Doi, S. Q., Marty, A., Simko, V., Carlstedt, I. and Dubois, A. 2003. Intracellular and interstitial expression of *Helicobacter pylori* virulence genes in gastric precancerous intestinal metaplasia and adenocarcinoma. *The Journal of Infectious Diseases*, 187(8): 1165-1177.
- Sherman, P., Hassall, E., Hunt, R. H., Fallone, C. A., Veldhuyzen Van Zanten, S., Thomson, A. B. R. and Canadian *Helicobacter* Study Group. 1999. Canadian *Helicobacter* study group consensus conference on the approach to *Helicobacter pylori* infection in children and adolescents. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 13(5): 553-559.
- Sheu, B. S., Cheng, H. C., Yang, Y. J., Yang, H. B. and Wu, J. J. 2007. The presence of dental disease can be a risk factor for recurrent *Helicobacter pylori* infection after eradication therapy: A 3-year follow-up. *Endoscopy*, 7(3): 942-947.
- Shirota, K., LeDuy, L., Yuan, S. and Jothy, S. 1989. Interleukin-6 and its receptor are expressed in human intestinal epithelial cells. *Virchows Archiv B*, 58(9): 303-308.
- Shmueli, H., Obure, S., Passaro, D. J., Abuksis, G., Yahav, J., Fraser, G. and Niv, Y. 2003. Dyspepsia symptoms and *Helicobacter pylori* infection, Nakuru, Kenya. *Emerging Infectious Diseases*, 9(9): 1103.

- Sipponen, P., Riihelä, M., Hyvärinen, H. and Seppälä, K. 1994. Chronic nonatrophic ('superficial') gastritis increases the risk of gastric carcinoma: a case-control study. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(4): 336-340.
- Sipponen, P., Valle, J., Varis, K., Kekki, M., Ihamäki, T. and Siurala, M. 1990. Fasting levels of serum gastrin in different functional and morphologic states of the antropudal mucosa: an analysis of 860 subjects. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 25(5): 513-519.
- Slomiany, B. L., Murty, V. L. N., Piotrowski, J., Liao, Y. H., Sundaram, P. and Slomiany, A. 1992. Glycosulfatase activity of *Helicobacter pylori* toward gastric mucin. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 183(2): 506-513.
- Smythies, L. E., Waites, K. B., Lindsey, J. R., Harris, P. R., Ghiara, P. and Smith, P. D. 2000. *Helicobacter pylori*-induced mucosal inflammation is Th1 mediated and exacerbated in IL-4, but not IFN- γ , gene-deficient mice. *The Journal of Immunology*, 165(2): 1022-1029.
- Sobala, G. M., Crabtree, J. E., Dixon, M. F., Schorah, C. J., Taylor, J. D., Rathbone, B. J. and Axon, A. T. 1991a. Acute *Helicobacter pylori* infection: clinical features, local and systemic immune response, gastric mucosal histology, and gastric juice ascorbic acid concentrations. *Gut*, 32(11): 1415-1418.
- Sobala, G. M., Pentith, J. A., Axon, A. T. R., Dixon, M. F., Crabtree, J. E., Rathbone, B. J. and Wyatt, J. I. 1991b. Screening dyspepsia by serology to *Helicobacter pylori*. *The Lancet*, 338(8759): 94-96.
- Solcia, E., Villani, L., Fiocca, R., Luinetti, O., Boldorini, R., Trespi, E. and Porro, G. B. 1994. Effects of eradication of *Helicobacter pylori* on gastritis in duodenal ulcer patients. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 29(201): 28-34.
- Sommer, F., Faller, G., Konturek, P., Kirchner, T., Hahn, E. G., Zeus, J. and Lohoff, M. 1998. Antrum-and corpus mucosa-infiltrating CD4+ lymphocytes in *Helicobacter pylori* gastritis display a Th1 phenotype. *Infection and Immunity*, 66(11): 5543-5546.
- Storskrubb, T., Aro, P., Ronkainen, J., Vieth, M., Stolte, M., Wreiber, K. and Agréus, L. 2005. A negative *Helicobacter pylori* serology test is more reliable for exclusion of premalignant gastric conditions than a negative test for current *H. pylori* infection:

- a report on histology and *H. pylori* detection in the general adult population. *Scandinavian Journal of Gastroenterology*, 40(3): 302-311.
- Suarez, G., Reyes, V. E. and Beswick, E. J. 2006. Immune response to *H. pylori*. *World Journal of gastroenterology*, 12(35): 5593.
- Suerbaum, S. and Michetti, P. 2002. *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine*, 347(15): 1175-1186.
- Sundrud, M. S., Torres, V. J., Unutmaz, D. and Cover, T. L. 2004. Inhibition of primary human T cell proliferation by *Helicobacter pylori* vacuolating toxin (VacA) is independent of VacA effects on IL-2 secretion. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(20): 7727-7732.
- Sung, J. J., Chung, S. S., Ling, T. K., Yung, M. Y., Leung, V. K., Ng, E. K. and Li, A. K. 1995. Antibacterial treatment of gastric ulcers associated with *Helicobacter pylori*. *New England Journal of Medicine*, 332(3): 139-142.
- Suzuki, T., Kato, K., Ohara, S., Noguchi, K., Sekine, H., Nagura, H. and Shimosegawa, T. 2002. Localization of antigen-presenting cells in *Helicobacter pylori*-infected gastric mucosa. *Pathology International*, 52(4): 265-271.
- Takahashi, T., Yujiri, T., Shinohara, K., Inoue, Y., Sato, Y., Fujii, Y. and Tanizawa, Y. 2004. Molecular mimicry by *Helicobacter pylori* CagA protein may be involved in the pathogenesis of *H. pylori*-associated chronic idiopathic thrombocytopenic purpura. *British Journal of Haematology*, 124(1): 91-96.
- Tee, W., Lambert, J. R. and Dwyer, B. 1995. Cytotoxin production by *Helicobacter pylori* from patients with upper gastrointestinal tract diseases. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(5): 1203-1205.
- Telford, J. L., Covacci, A., Rappuoli, R. and Ghiara, P. 1997. Immunobiology of *Helicobacter pylori* infection. *Current Opinion in Immunology*, 9(4): 498-503.
- Terres, A. M. and Pajares, J. M. 1998. An increased number of follicles containing activated CD69+ Helper T cells and proliferating CD71+ B cells are found in *H. pylori*-infected gastric mucosa. *Official Journal of the American College of Gastroenterology*, 93(4): 579-583.
- Testoni, P. A., Colombo, E., Cattani, L., Longhi, M., Bagnolo, F., Lella, F. and Scelsi, R. 1996. *Helicobacter pylori* serology in chronic gastritis with antral atrophy and

- negative histology for *Helicobacter*-like organisms. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 22(3): 182-185.
- Tinnert, A., Mattsson, A., Bölin, I., Dalenbäck, J., Hamlet, A. and Svennerholm, A. M. 1997. Local and systemic immune responses in humans against *Helicobacter pylori* antigens from homologous and heterologous strains. *Microbial Pathogenesis*, 23(5): 285-296.
- Trebesius, K., Panthel, K., Strobel, S., Vogt, K., Faller, G., Kirchner, T. and Haas, R. 2000. Rapid and specific detection of *Helicobacter pylori* macrolide resistance in gastric tissue by fluorescent in situ hybridisation. *Gut*, 46(5): 608-614.
- Tsai, C. J., Perry, S., Sanchez, L. and Parsonnet, J. 2005. *Helicobacter pylori* infection in different generations of Hispanics in the San Francisco Bay Area. *American Journal of Epidemiology*, 162(4): 351-357.
- Tummuru, M. K., Sharma, S. A. and Blaser, M. J. 1995. *Helicobacter pylori* picB, a homologue of the *Bordetella pertussis* toxin secretion protein, is required for induction of IL-8 in gastric epithelial cells. *Molecular Microbiology*, 18(5): 867-876.
- Umehara, S., Higashi, H., Ohnishi, N., Asaka, M. and Hatakeyama, M. 2003. Effects of *Helicobacter pylori* CagA protein on the growth and survival of B lymphocytes, the origin of MALT lymphoma. *Oncogene*, 22(51): 8337-8342.
- Unemo, M., Aspholm-Hurtig, M., Ilver, D., Bergström, J., Borén, T., Danielsson, D. and Teneberg, S. 2005. The sialic acid binding SabA adhesin of *Helicobacter pylori* is essential for nonopsonic activation of human neutrophils. *Journal of Biological Chemistry*, 280(15): 15390-15397.
- Vaira, D., Malfertheiner, P., Megraud, F., Axon, A. T., Deltenre, M., Hirschl, A. M. and Tytgat, G. N. 1999. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection with a new non-invasive antigen-based assay. *The Lancet*, 354(9172): 30-33.
- Van De Bovenkamp, J. H., Mahdavi, J., Korteland-Van Male, A. M., Büller, H. A., Einerhand, A. W., Borén, T. and Dekker, J. 2003. The MUC5AC glycoprotein is the primary receptor for *Helicobacter pylori* in the human stomach. *Helicobacter*, 8(5): 521-532.
- Van Doorn, L. J., Figueiredo, C., Rossau, R., Jannes, G., Van Asbroeck, M., Sousa, J. C. and Quint, W. G. V. 1998. Typing of *Helicobacter pylori* vacA gene and detection

- of *cagA* gene by PCR and reverse hybridization. *Journal of Clinical Microbiology*, 36(5): 1271-1276.
- Vega, A. E., Alarcón, T., Domingo, D. and López-Brea, M. 2007. Detection of clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* in frozen gastric biopsies from pediatric patients by a commercially available fluorescent in situ hybridization. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 59(4): 421-423.
- Velin, D. and Michetti, P. 2006. Immunology of *Helicobacter pylori* infection. *Digestion*, 73(3): 116-123.
- Viala, J., Chaput, C., Boneca, I. G., Cardona, A., Girardin, S. E., Moran, A. P. and Ferrero, R. L. 2004. Nod1 responds to peptidoglycan delivered by the *Helicobacter pylori* *cag* pathogenicity island. *Nature Immunology*, 5(11): 1166-1174.
- Wadstrom, T., Hirno, S. and Boren, T. 1996. Biochemical aspects of *Helicobacter pylori* colonization of the human gastric mucosa. *Alimentary Pharmacology and Therapeutics*, 10(1): 17-27.
- Wagner, S., Beil, W., Westermann, J., Logan, R. P., Bock, C. T., Trautwein, C. and Manns, M. P. 1997. Regulation of gastric epithelial cell growth by *Helicobacter pylori*: Offence for a major role of apoptosis. *Gastroenterology*, 113(6): 1836-1847.
- Warren, J. R. and Marshall, B. 1983. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *The Lancet*, 321(8336): 1273-1275.
- Whary, M. T., Sundina, N., Bravo, L. E., Correa, P., Quinones, F., Caro, F. and Fox, J. G. 2005. Intestinal helminthiasis in Colombian children promotes a Th2 response to *Helicobacter pylori*: possible implications for gastric carcinogenesis. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 14(6): 1464-1469.
- Witteman, E. M., Mravunac, M., Becx, M. J., Hopman, W. P., Verschoor, J. S., Tytgat, G. N. and De Koning, R. W. 1995. Improvement of gastric inflammation and resolution of epithelial damage one year after eradication of *Helicobacter pylori*. *Journal of Clinical Pathology*, 48(3): 250-256.
- Wundisch, T., Thiede, C., Morgner, A., Dempfle, A., Günther, A., Liu, H. and Neubauer, A. 2005. Long-term follow-up of gastric MALT lymphoma after *Helicobacter pylori* eradication. *Journal of Clinical Oncology*, 23(31): 8018-24.

- Xiang, Z., Censini, S., Bayeli, P. F., Telford, J. L., Figura, N., Rappuoli, R. and Covacci, A. 1995. Analysis of expression of CagA and VacA virulence factors in 43 strains of *Helicobacter pylori* reveals that clinical isolates can be divided into two major types and that CagA is not necessary for expression of the vacuolating cytotoxin. *Infection and Immunity*, 63(1): 94-98.
- Yakoob, J., Jafri, W., Abid, S., Jafri, N., Abbas, Z., Hamid, S. and Shaikh, H. 2005. Role of rapid urease test and histopathology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in a developing country. *BMC Gastroenterology*, 5(2): 1-4.
- Yamaoka, Y., Kikuchi, S., El-Zimaity, H. M., Gutierrez, O., Osato, M. S. and Graham, D. Y. 2002. Importance of *Helicobacter pylori* oipA in clinical presentation, gastric inflammation, and mucosal interleukin 8 production. *Gastroenterology*, 123(2): 414-424.
- Yamaoka, Y., Kita, M., Kodama, T., Sawai, N., Kashima, K. and Imanishi, J. 1997. Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by cagA gene positive *Helicobacter pylori* strains. *Gut*, 41(4): 442-451.
- Yamaoka, Y., Kodama, T., Kita, M., Imanishi, J., Kashima, K. and Graham, D. Y. 2001. Relation between cytokines and *Helicobacter pylori* in gastric cancer. *Helicobacter*, 6(2): 116-124.
- Yamaoka, Y., Kwon, D. H. and Graham, D. Y. 2000. AM r 34,000 proinflammatory outer membrane protein (oipA) of *Helicobacter pylori*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(13): 7533-7538.
- Yamazaki, S., Yamakawa, A., Ito, Y., Ohtani, M., Higashi, H., Hatakeyama, M. and Azuma, T. 2003. The CagA protein of *Helicobacter pylori* is translocated into epithelial cells and binds to SHP-2 in human gastric mucosa. *The Journal of Infectious Diseases*, 187(2): 334-337.
- Yasumoto, K., Okamoto, S. I., Mukaida, N., Murakami, S., Mai, M. and Matsushima, K. 1992. Tumor necrosis factor alpha and interferon gamma synergistically induce interleukin 8 production in a human gastric cancer cell line through acting concurrently on AP-1 and NF-kB-like binding sites of the interleukin 8 gene. *Journal of Biological Chemistry*, 267(31): 22506-22511.

- Yoshiyama, H., Nakamura, H., Kimoro, M., Okita, K. and Nakazawa, T. 1999. Chemotaxis and motility of *Helicobacter pylori* in a viscous environment. *Journal of Gastroenterology*, 34(1): 1-4.
- You, W. C., Zhang, L., Gail, M. H., Ma, J. L., Chang, Y. S., Blot, W. J. and Fraumeni Jr, J. F. 1998. *Helicobacter pylori* infection, garlic intake and precancerous lesions in a Chinese population at low risk of gastric cancer. *International Journal of Epidemiology*, 27(6): 941-944.
- Yousfi, M., El-Zimaity, H. M., Cole, R. A., Genta, R. M. and Graham, D. Y. 1997. Comparison of agar gel (CLOtest) or reagent strip (PyloriTek) rapid urease tests for detection of *Helicobacter pylori* infection. *American Journal of Gastroenterology*, 92(6): 990-999.
- Zhang, L., Day, A., McKenzie, G. and Mitchell, H. 2006. Nongastric *Helicobacter* species detected in the intestinal tract of children. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(6): 2276-2279.
- Zhang, Z., Sun, L. P., Gong, Y. H., Wang, X. G., Zhang, M. and Yuan, Y. 2007. Factors affecting the serum gastrin 17 level: an evidence-based analysis of 3906 serum samples among Chinese. *Journal of Digestive Diseases*, 8(2): 72-76.
- Zheng, P. Y. and Jones, N. L. 2003. *Helicobacter pylori* strains expressing the vacuolating cytotoxin interrupt phagosome maturation in macrophages by recruiting and retaining TACO (coronin 1) protein. *Cellular Microbiology*, 5(1): 25-40.
- Zsikla, V., Hailemariam, S., Baumann, M., Mund, M. T., Schaub, N., Meier, R. and Cathomas, G. 2006. Increased rate of *Helicobacter pylori* infection detected by PCR in biopsies with chronic gastritis. *The American journal of surgical pathology*, 30(2): 242-248.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Salah Shayyal Shingar SHINJAR

Eğitim

Doktora	Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2019-2024
Yüksek Lisans	Kahire Amerikan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı	2013-2015
Lisans	Basra Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü	2006-2010