

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**ÇOCUKLARDA HELİCOBACTER PYLORİ
ENFEKSİYONUNUN VİTAMİN B₁₂ DÜZEYİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN HOLOTRANSKOBALAMİN ARACILIĞI İLE
SAPTANMASI**

**Ahmet Oğuz AFYONCU
Tbp.Yzb.**

**Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Dalı
Tıpta Uzmanlık Tezi**

**ANKARA
2008**

**T.C.
GENELKURMAY BAŞKANLIĞI
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ
ASKERİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI**

**ÇOCUKLARDA HELİCOBACTER PYLORİ
ENFEKSİYONUNUN VİTAMİN B₁₂ DÜZEYİ ÜZERİNE
ETKİSİNİN HOLOTRANSKOBALAMİN ARACILIĞI İLE
SAPTANMASI**

Ahmet OĞuz AFYONCU

Tbp.Yzb.

Gülhane Askeri Tıp Akademisi
Askeri Tıp Fakültesi'nin
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanlık Dalı
İçin Öngördüğü
TIPTA UZMANLIK TEZİ
olarak hazırlanmıŐtır.

TEZ DANIŐMANI
Prof.Tbp.Kd.Alb
Ahmet Emin KÜREKÇİ

Ankara

2008

Gülhane Askeri Tıp Akademisi Askeri Tıp Fakültesi Dekanlığına:

“Çocuklarda Helicobacter pylori enfeksiyonunun vitamin B₁₂ düzeyi üzerine etkisinin holotranskobalamin aracılığı ile saptanması” konulu bu çalışma jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof. Tbp. Kd. Alb. Ahmet Emin KÜREKÇİ

 ye :

 ye :

 ye :

 ye :

ONAY :

Tbp. Yzb. Ahmet Oğuz AFYONCU’nun/...../.....tarihinde savunduğu bu tez Akademi Kurulu’nca belirlenen yukarıdaki jüri  yeleri tarafından uygun görülmüş ve kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Bu tez konusu, Gülhane Askeri Tıp Akademisi ve Askeri Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 22 Aralık 2005 tarih ve 0530-108-05/1735 sayılı yazısı ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Helicobacter pylori enfeksiyonu dünyadaki en yaygın kronik bakteriyel enfeksiyondur. Son yıllarda yapılan çalışmalarla *Helicobacter pylori* enfeksiyonu ile vitamin B₁₂ eksikliği arasında bir ilişki olduğu gösterilmiştir. Bu çalışma çocukluk çağındaki *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun, vitamin B₁₂ eksikliği üzerine olan etkisini holotranskobalamin düzeyleri ile saptamayı amaçlamaktadır.

Bu günlere gelmemde çok emekleri olan anneme ve babama, her zaman desteklerini hissettiğim eşime ve oğluma, uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde katkısı olan, bilgi ve deneyimlerini bizlere aktaran Anabilim Dalı Başkanımız Prof.Tbp.Tuğa.Okan ÖZCAN'a, öğrencisi olmaktan gurur duyduğum ve hocam olarak her zaman desteğini hissettiğim, tez danışmanım Prof.Dr.A.Emin KÜREKÇİ'ye, çocuk hekimi olarak yetişmemde emeği geçen kliniğimizin değerli öğretim üyelerine, uzman doktorlarına, asistan arkadaşlarıma, klinik personeline ve bana emeği geçen herkese teşekkür ederim.

Tbp.Yzb.Ahmet Oğuz AFYONCU

ÖZET

Çocuklarda Helicobacter Pylori Enfeksiyonunun Vitamin B₁₂ Düzeyi Üzerine Etkisinin Holotranskobalamin Aracılığı İle Saptanması

Helicobacter pylori, gastrit, gastrik ve duodenal ülser hastalığı, gastrik maligniteler, demir eksikliği anemisi ve vitamin B₁₂ eksikliği ile ilişkilendirilmiş, spiral, gram negatif bir bakteridir. Helicobacter pylori gastrik asit sekresyonuna olan etkisi nedeniyle vitamin B₁₂ malabsorbsiyonunun potansiyel bir nedeni olarak düşünülmüştür. Vitamin B₁₂ eksikliğin erken tanısı, bu hastalığın sinsi seyretmesi ve muhtemel kalıcı nörolojik hasar riski nedeniyle çok önemlidir. Son zamanlarda vitamin B₁₂ eksikliğin sensitif bir belirteci olan holotranskobalamin ölçümü için yeni bir metot geliştirilmiştir. Bu çalışmanın amacı, çocuklarda Helicobacter pylori enfeksiyonu ile vitamin B₁₂ seviyeleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmek ve holotranskobalamin ölçümünün klinik yararlılığını araştırmaktır. Karın ağrısı, bulantı, kusma ve iştahsızlık yakınmaları ile Gülhane Askeri Tıp Akademisi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları bölümüne başvurmuş ve C¹⁴ üre nefes testi ile Helicobacter pylori enfeksiyonu tanısı konulmuş 30 hasta ile benzer yakınmaları olan ancak enfeksiyon gösterilemeyen 26 kontrol çalışmaya alınmıştır. Çalışma ve kontrol grubundaki her hastada tam kan sayımı, serum kreatinin, vitamin B₁₂, folat, plazma total homosistein ve holotranskobalamin seviyeleri için testler yapılmıştır. Helicobacter pylori enfeksiyonlu çocuklarda tedavi öncesi ortalama plazma holotranskobalamin konsantrasyonları tedavi sonrasına ve kontrollere göre belirgin olarak düşüktü. Çalışmamızdaki bulgular çocuklarda Helicobacter pylori enfeksiyonunun vitamin B₁₂ seviyeleri üzerine negatif bir etkisi olduğunu düşündürmektedir. Vitamin B₁₂ seviyeleri üzerindeki bu negatif etki plazma holotranskobalamin seviyelerinde daha belirgindir. Helicobacter pylori enfeksiyonunun çocuklarda serum folat, serum vitamin B₁₂ ve plazma homosistein düzeyleri üzerine önemli bir etkisi saptanmamıştır.

Anahtar Kelimeler : Helicobacter pylori, vitamin B₁₂, holotranskobalamin

Yazar Adı : Tbp. Yzb. Ahmet Oğuz AFYONCU

Danışman : Prof. Tbp. Kd. Alb. Ahmet Emin KÜREKÇİ

SUMMARY

Assessing the Effect of Helicobacter Pylori Infection on Vitamin B₁₂ Levels in Children by Holotranscobalamin.

Helicobacter pylori is a spiral, gram negative bacterium that has been found to be associated with gastritis, gastric and duodenal peptic ulcer disease, gastric malignancies, iron deficiency anemia, and vitamin B₁₂ deficiency. Helicobacter pylori has been considered to be a potential cause of vitamin B₁₂ malabsorption because of its effect on gastric acid secretion. Early diagnosis of vitamin B₁₂ deficiency is crucial because of the latent nature of this disorder and the possible risk of irreversible neurological damage. Recently, a new method for measurement of holotranscobalamin, a sensitive marker of vitamin B₁₂ deficiency, has been introduced. The purpose of this study was to evaluate the association between vitamin B₁₂ levels and Helicobacter pylori infection and examine the clinical usefulness of holotranscobalamin measurement in children. Thirty patients between 5 to 16 years of age, who were admitted to the Department of Pediatrics in Gülhane Military Medical Academy with the complaints of abdominal pain, nausea, vomiting and anorexia and diagnosed as Helicobacter pylori infection by C¹⁴ urea breath test, and 26 controls with similar complaints but no evidence of infection were enrolled in the study. Tests for complete blood count, serum creatinine, vitamin B₁₂, folate, plasma total homocystein, and holotranscobalamin levels were performed in each patient in the study group and control group. Mean plasma holotranscobalamin concentrations were significantly lower in children with Helicobacter pylori infection before treatment versus after treatment and controls. The findings of our study suggest that Helicobacter pylori infection has a negative effect on vitamin B₁₂ levels in children. This negative effect on vitamin B₁₂ levels is marked in plasma holotranscobalamin levels. Helicobacter pylori infection has no significant effect on serum folate, vitamin B₁₂, and plasma homocysteine levels among children.

Keywords : Helicobacter pylori, vitamin B₁₂, holotranscobalamin

Author : Ahmet Oğuz AFYONCU, MD

Counselor : Ahmet Emin KÜREKÇİ, MD, Professor of Pediatrics

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET	v
İNGİLİZCE ÖZET.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xi
GİRİŞ.....	1
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Helicobacter Pylori.....	3
2.1.1. Tarihçe.....	3
2.1.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikler.....	4
2.1.3. Epidemiyoloji.....	5
2.1.4. Helicobacter Pylorinin Bulaşma Yolları.....	8
2.1.5. Patolojik Mekanizmalar.....	9
2.1.6. Klinik Tablolar.....	15
2.1.7. Tanı Yöntemleri.....	21
2.1.8. Tedavi.....	28
2.2. Vitamin B ₁₂	30
2.2.1. Vitamin B ₁₂ Metabolizması.....	30
2.2.2. Çocuklarda Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Görülme Sıklığı.....	30
2.2.3. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinin Nedenleri.....	31
2.2.4. Vitamin B ₁₂ Eksikliğinde Bulgular.....	32
2.2.5. Tanı Yöntemleri.....	33
2.2.6. Tedavi.....	34
GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
BULGULAR.....	40
4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Genel Özellikleri.....	40
4.2. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Semptomları.....	41
4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Tam Kan Parametreleri.....	41

4.4. Vitamin B ₁₂ , Homosistein, Folat ve Holotranskobalamin Düzeyleri.....	43
4.5. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum Kreatinin Düzeyleri.....	46
TARTIŞMA.....	47
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	54

SİMGELER VE KISALTMALAR

CAP	: Sitotoksine eşlik eden protein
CPM	: Counts per minute
DNA	: Deoksi ribonükleik asit
ECLIA	: Elektrokemilüminesans
ELISA	: Enzyme linked immunosorbent assay
GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
HoloTC	: Holotranskobalamin
HP	: Helicobacter pylori
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
HSV-1	: Herpes simpleks virüs tip 1
Ig	: İmmünglobulin
İTP	: İmmün trombositopenik purpura
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MMA	: Metil malonik asit
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
RIA	: Radioimmunoassay
RNA	: Ribonükleik asit
SDS	: Sodyum dodesil sülfat
TLR	: Toll like reseptör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1. Elektron mikroskopunda Helicobacter pylori.....	4
2.2. Dünya'da HP enfeksiyonunun dağılımı.....	6
2.3. HP'nin mukus engelini aşması.....	11
2.4. Humoral immün yanıt.....	12
2.5. Spesifik savunma mekanizmaları	14

TABLolar DİZİNİ

Tablo	Sayfa
2.1. Türkiye’de HP IgG pozitifliğinin görülme sıklığı.....	7
2.2. Peptik ülser etyopatogenezinde rol oynayan nedenler.....	16
2.3. Helicobacter pylori tanısında kullanılan testler.....	22
2.4. HP tanısında kullanılan testlerin karşılaştırılması.....	27
2.5. Helicobacter pylori eradikasyon tedavisi sonuçları.....	29
4.1. Hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri.....	40
4.2. Hasta grubunda HP eradikasyon tedavisi öncesinde ve sonrasında saptanan semptomların karşılaştırılması.....	41
4.3. Hasta ve kontrol gruplarının tam kan parametrelerinin karşılaştırılması.....	42
4.4. Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası vitamin B ₁₂ , homosistein, folat ve holoTC düzeylerinin karşılaştırılması.....	43
4.5. Tedaviden önce hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B ₁₂ , homosistein, folat ve holoTC düzeylerinin karşılaştırılması.....	44
4.6. Tedavi sonrasında hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B ₁₂ , homosistein, folat ve holoTC düzeylerinin karşılaştırılması.....	45

1. GİRİŞ

Helicobacter pylori (HP) mide mukozasından izole edilen gram negatif, spiral şekilli, mikroaerofilik bir bakteridir. Dünya üzerinde en sık görülen bakteriyel enfeksiyonlardan birisidir. HP enfeksiyonunun 0-20 yaşlar arasındaki prevalansı %13 ile %70 arasında bildirilmektedir (1-6). HP'nin çocuklarda ve yetişkinlerde peptik ülser ve atrofik gastritin major etiyolojik faktörü olduğu düşünülmektedir. HP gastrik asit sekresyonu ile etkileşmek suretiyle birçok besinin absorpsiyonunda yetersizliğe neden olabilir (7-13). Son yıllarda yapılan bir dizi çalışmada HP enfeksiyonunun demir, vitamin B₁₂, folat, alfa tokoferol, vitamin C ve beta karoten gibi besin maddelerinin emilimini azalttığı gösterilmiştir (14-16). HP'nin vitamin B₁₂ emilimini azaltarak pernisiyöz anemiye, demir emilimini azaltarak da demir eksikliği anemisine neden olabileceği bildirilmiştir (17-19). Demir eksikliği anemisi ve HP enfeksiyonu saptanan çocuklarda demir tedavisi verilmeksizin, enfeksiyonun tedavisi sonrası demir eksikliği anemisinde düzelme olduğu gösterilmiştir (17). Vitamin B₁₂ eksikliği nedeniyle makrositik anemisi olan bir grupta HP gastritinin tipik histolojik paterni %57 oranında tek patolojik bulgu olarak saptanmıştır (18). Vitamin B₁₂ eksikliği ve HP enfeksiyonu saptanan erişkin bir hasta grubunda bakterinin eradikasyonu sonrası vitamin B₁₂ düzeylerinde %40 oranında düzelme sağlandığı gösterilmiştir (19). HP ile enfekte çocuklarda %6.8-28 oranında vitamin B₁₂ eksikliği olduğunu bildiren çalışmalar mevcuttur (20-22).

Vitamin B₁₂ düzeyinin saptanmasında serum vitamin B₁₂ konsantrasyon tayini en çok başvurulanan yöntemdir. Buna ilaveten, artmış metilmalonik asit ve total homosistein düzeyleri vitamin B₁₂ eksikliğinin sensitif metabolik belirteçleri olarak kullanılabilir, ancak bunların spesivitesi tartışmalıdır (23-28). Çünkü, metilmalonat ve total homosistein düzeyleri böbrek yetmezliği nedeniyle de artabilir (29). Ayrıca total homosistein düzeylerindeki artış folat ve vitamin B₆ eksikliği nedeniyle de gelişmiş olabilir (30-32). Bu noktada vitamin B₁₂ düzeyini daha erken dönemde ve daha

güvenilir olarak saptayabilen yeni bir yöntem olan plazma holotranskobalamin tayini önem kazanmaktadır.

Vitamin B₁₂ plazmada haptokorrin ve transkobalamin isimli iki proteine bağlı olarak taşınır. Transkobalamin vitamin B₁₂ kompleksine holotranskobalamin (holoTC) adı verilir. B₁₂ vitamininin deoksi-ribonükleik asit (DNA) sentez eden hücrelerce alınıp kullanılabilen aktif formu holoTC'dir. Yıllardır holoTC'nin vitamin B₁₂ tayininde sensitif ve spesifik bir belirteç olabileceği düşünülmektedir (33,34). Bu amaçla, holoTC ölçümü için yeni bir 'radioimmunoassay' (RIA) metodu geliştirilmiştir (35). Vitamin B₁₂ eksikliği düşünülen bir hasta grubunda bu metodu kullanılarak plazma holoTC düzeyleri saptanmış ve vitamin B₁₂, metil malonik asit ve total homosistein düzeyleri ile karşılaştırılmış, sonuçta holoTC tayininin serum vitamin B₁₂ tayinine göre daha sensitif ve daha spesifik olduğu gösterilmiştir (36).

Bu çalışmanın amacı, HP enfeksiyonunun vitamin B₁₂ düzeyleri üzerine etkisini plazma holoTC aracılığı ile araştırmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Helicobacter Pylori

2.1.1. Tarihçe

İnsan midesinde bakteri varlığı yeni bir bulgu değildir. İnsan gastrik biyopsilerinde spiral bir mikroorganizma varlığı ilk olarak 1906 yılında Krientiz (37) tarafından bildirilmiştir. 1938 yılında Doenges (38), 1940 yılında Freedberg ve Baron (39) inceledikleri mide dokularında spiral bir mikroorganizma saptamışlardır.

Bu mikroorganizmanın varlığı, Warren (40) ve Marshall (41)'ın, kronik aktif gastritli hastaların gastrik mukozasında Campylobacter genusuna benzeyen spiral şekilli gram negatif bir bakteri bulunduğunu bildirmesine kadar adeta unutulmuştur. 1982 yılında Robin Warren ile Barry Marshall bakteriyi nonselektif besi yerinde üretmişlerdir (42). Bu bakteri sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edildiği için başlangıçta Campylobacter pyloridis, daha sonra Campylobacter pylori olarak adlandırılmıştır.

1989 yılında Goodwin ve ark. (43) bu organizmanın ribonükleik asit (RNA) yapısındaki farklılıklar nedeniyle Campylobacter cinsi içerisinde yer alamayacağına karar vererek "Helicobacter pylori" adını vermişlerdir.

HP, 1994 yılında "Grup I karsinojen" olarak bildirilmiş ve "National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement"da, gastrik ve duodenal ülserasyonu olan her hastanın, bakteri eradikasyonuna yönelik tedavi edilmesi önerilmiştir (44). 1997 yılında European Consensus panelinde, HP enfeksiyonunun gastrit, peptik ülser, gastrik mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması ve gastrik kanser ile ilişkili olduğu ve tedavisinde "üçlü tedavi protokolü" uygulanması gerektiği bildirilmiştir (45).

Tıp alanındaki Nobel ödülü peptik ülserlerin önemli bir bölümünün HP nedeniyle oluştuğunu keşfetmeleri nedeniyle 2005 yılında Marshall ve Warren'a verilmiştir (46).

2.1.2. Morfolojik ve Biyokimyasal Özellikler

HP spiral veya çomağımsı şekilli, 0,5-1 μ genişliğinde, 2,5-4 μ uzunluğunda, kılıflı, unipolar, gram negatif bir bakteridir (Şekil 2.1). Bakterinin 4-6 adet flagellası vardır ve bunların yardımıyla mide lümeninden mukus tabakaların içine doğru hareket eder. Katalaz, oksidaz, üreaz, alkalin fosfataz, proteaz ve esteraz gibi enzimatik aktivitelere sahiptir. HP'nin güçlü katalaz aktivitesinin bulunması fagositozdan sonra uzun süre canlı kalmasını sağlar. İn vivo şartlarda genellikle S şeklinde veya 1-3 yerinden kıvrılmış çubuk halinde bulunur. Mikroorganizma gastrik asit ve lokal immüniteye rağmen canlı kalabilmektedir (47-49).



Şekil 2.1. Elektron mikroskobunda Helicobacter pylori.

Bakterinin besiyerinde üreme hızı çok yavaştır ve 10 güne kadar uzayabilir. Biyopsi örneğinin kanlı zengin besiyerine hemen ekilmesi gerekir. Bu mümkün değilse brucella broth, nutrient broth, beyin-kalp infüzyon broth gibi taşıma besiyerlerinde oda ısısında veya +4°C'de 4-5 saat saklanabilir. Oldukça zor kültüre edilir. Doku kesitleri ve yaymada gümüş boyası, Gram boyası, hemotoksilen eozin ve Giemsa ile boyanır (50-51).

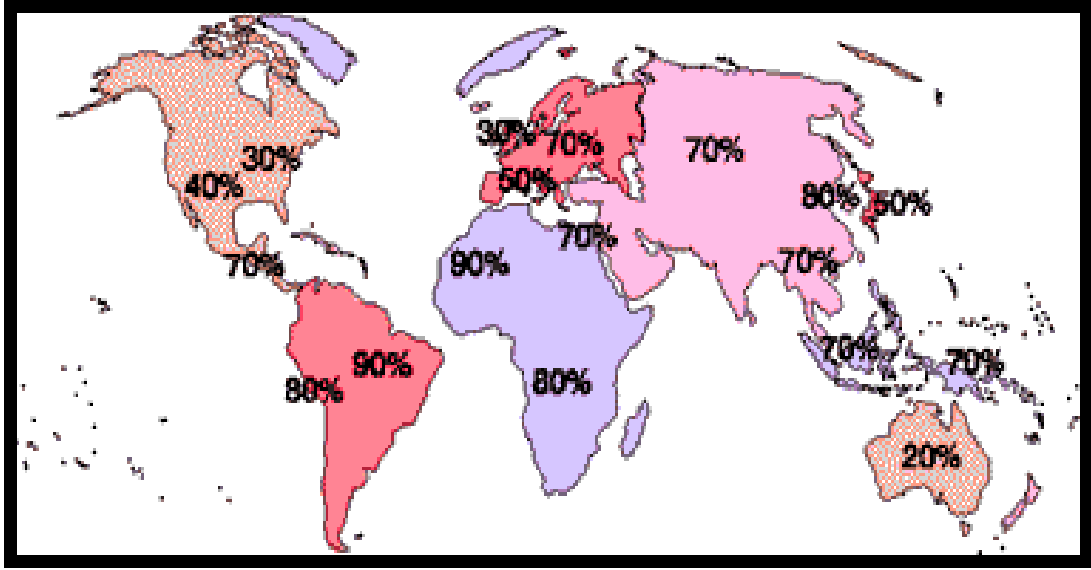
Mukus içinde yaşayan ve özellikle kriptler veya mikrovillüslerin yüzeyinde bulunan mikroorganizma, mikroaerofilik şartlarda yaşamını devam ettirebilmektedir. Ayrıca, mide epitel hücre yüzeyleri ile sıkı ilişkide olan, mukus tabakasını ve hücreler arası bağlantı bölgelerini özellikle tercih eden ve bu ortamlara oldukça iyi uyum sağlamış bir bakteridir. HP midede özellikle antrum bölgesine yerleşmektedir. Bu durum, bu bölgede mukus tabakasının daha kalın olmasından kaynaklanmaktadır. Mukusun bakteriyi midenin asit ortamından koruduğu düşünülmektedir.

Çalışmalar, mikroorganizmanın yalnız gastrik tip epitele yerleştiğini göstermektedir. Bu yerleşme, reseptör-ligand ilişkisi tarafından belirlenmekte olup intestinal epitel bu reseptörlerden yoksundur. HP'nin mikroaerofilik koşullarda üreyebilmesi ve bunun sadece gastrik tip epitelde olması, bu seçiciliğin belki de en temel nedenidir. Fundus mukozasına yerleşebilse de, kolonizasyon için en uygun ortamı antrum sağlar. HP'nin sadece gastrik epitele yerleştiğinin bir diğer kanıtı da, bu bakterinin, mide dışında gastrik metaplazinin görüldüğü özefagus ve duodenumda, Meckel divertikülü zemininde, Barret özefagusunda, rektumun heterotopik mide mukozasında ve yüzeyel mukus hücrelerinde gösterilmiş olmasıdır (49).

2.1.3. Epidemiyoloji

HP'nin bulaşma yolları gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında farklılıklar göstermektedir. Gelişmiş ülkelerde direk kişisel temas primer bulaşma yolu iken gelişmekte olan ülkelere fekal oral yol ve kontamine sular ilk sırada yer almaktadır. Toplum kökenli çalışmalar HP ile infekte olmada düşük sosyoekonomik koşulların önemini göstermiştir. Yaşam standartlarında

iyileşmeye bağlı olarak enfeksiyonun prevalansı dramatik olarak azalmaktadır. Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerdeki çocuklarda prevalans sırasıyla %8.9 ve %72.8'dir. Reinfeksiyon oranları gelişmekte olan ülkelere daha yüksektir (52). Afrika, Asya ile Güney ve Orta Amerika'da yüksek oranda enfeksiyon tespit edilmektedir (Şekil 2.2) (49,53,54).



Şekil 2.2. Dünya'da HP enfeksiyonunun dağılımı

Türkiye'de Göçmen ve ark. (55)'nin yaşları 6-13 arasında değişen, 169 sağlıklı çocukta yaptıkları tarama sonucunda 6-9 yaş grubunda % 34 ve 10-13 yaş grubunda ise % 54 oranında HP immunglobulin G (IgG) pozitifliği saptanmıştır. Özden ve ark. (49) ise, 6 yaş altındaki çocuklarda HP IgG pozitifliğini % 20.3 olarak bulmuşlardır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Türkiye’de HP IgG Pozitifliğinin Görülme Sıklığı

Yaş Grubu	Olgu Sayısı	HP IgG Pozitifliği
0 – 2	68	14.7
3 – 6	64	20.3
7 – 11	99	72.7
12 – 17	81	84.4
18 – 24	69	76.8
25 – 55	19	84.2

Aile içi bulaşmaya ait kanıtlar gittikçe artmaktadır. Gelişmiş bir ülke olan İsveç’te ve gelişmekte olan bir ülke olan Benin’de yapılan iki epidemiyolojik çalışma HP enfeksiyonunda güçlü ailesel kümelenme olduğunu göstermiştir (56,57). Her iki çalışmada da enfekte bir anne, çocukta enfeksiyonun güçlü bir belirleyicisi olmuştur. İsveç’te yapılan çalışmada enfekte kardeş varlığının bağımsız bir risk faktörü olduğu saptanmıştır.

Japonya’da yapılan bir çalışmada, Konno ve ark. (58) anneden çocuklara aile içi bulaşmayı göstermişlerdir. Çek Cumhuriyeti’nde 5 ile 100 yaşları arasında 2309 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada hastalığın prevalansının yaşla birlikte arttığı ancak cinsiyet ile ilişkisinin olmadığı gösterilmiştir. Yine bu çalışmada, anne eğitim düzeyinin düşük olmasının, ailesi ile aynı odayı paylaşmasının ve küçük bir kasabada yaşamasının çocuklar için HP enfeksiyonu açısından güçlü risk faktörleri olduğu, yetişkinlerde ise düşük eğitim düzeyinin ve aşırı sigara kullanımının risk faktörleri olduğu saptanmıştır. Son yıllarda Çek Cumhuriyeti’nde yaşanan sosyoekonomik düzelme ve düşük fertilité oranları genç kesitlerde HP prevalansında bir azalmaya yol açmıştır (59). Çin’de yapılan başka bir çalışmada ise HP ile enfekte annelerin çocuklarında % 60 oranında enfeksiyon tespit edilirken, enfekte olmayan annelerin çocuklarında ise bu oran % 16 olarak saptanmıştır. Hem anne hem de babası enfekte olan

çocuklarda ise enfeksiyon mevcudiyeti % 83 olarak saptanmıştır. Bu çalışma aile içi bakteri bulaşmasının güçlü bir kanıtıdır (60).

2.1.4. Helicobacter Pylorinin Bulaşma Yolları

HP esas olarak insandan insana oral-oral ve fekal-oral yolla bulaşmaktadır (61-63). Gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler arasında HP'nin bulaşma yolları arasında farklılıklar görülmektedir. Gelişmiş ülkelerde direk kişiler arası temas ile bulaşma önemli bir yol iken gelişmekte olan ülkelerde fekal-oral yol ve kontamine sular ile bulaşma önem kazanmaktadır (52).

Dental plakta ve tükürükte, kültür ve Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile bakteri varlığının gösterilmesi, aynı zamanda diş hekimlerinde prevalansın yüksek olması enfeksiyonun oral-oral yolla bulaşabileceğini düşündüren bulgulardır (54,64). Amerika Birleşik Devletlerinde 12-19 yaşlarında 1090 kişi üzerinde yapılan bir çalışmada Herpes simpleks virüs tip 1 (HSV-1) ve HP enfeksiyonlarının bulaşmasında kişiler arası direk temasın primer yol olduğunu destekleyen sonuçlar alınmıştır (65).

Anne ve babası HP ile enfekte çocuklarda prevalansın yüksekliği, HP ile enfekte çocukların kardeşlerinde daha yüksek oranda HP IgG pozitifliği saptanması ve HP ile enfekte çocukların birinci derece akrabalarında daha sık peptik ülserle rastlanması, aile içi bulaşmayı düşündürmektedir (49,60,66).

HP'nin kokoid formlarının insan dışkılarından izole edilmesi ve kanalizasyon sistemleri olmayan toplumlarda prevalansın daha yüksek olması, fekal-oral geçişi düşündüren bulgulardır. Nehir suyunda, HP'nin spiral formları bir hafta, kokoid formları ise bir yıldan uzun süre yaşayabilmektedir (54,66). Gelişmekte olan ülkelerde suyun HP bulaşmasında ki rolünü göstermek için yapılan bir çalışmada, farklı seviyelerde fekal kirlenme olan sularda mikrobiyal indikatörlerle bakterinin varlığı araştırılmıştır. PCR ile HP DNA'sı fekal örneklerde %33, atık sularda %66 ve ırmak sularında %11 oranında pozitif olarak saptanmıştır. Kaynak sularında ise bakteri varlığı gösterilememiştir. Bu sonuçlar suyun HP'nin fekal-oral bulaşında vektör

olabileceği yönünde yorumlanmıştır (67). Peru'da yapılan bir başka çalışmada insanların kontamine sulardan hastalığı kazanabileceği gösterilmiş olup, belediye şebekesinden gelen suyu içme suyu olarak kullanan çocuklarda hastalık prevalansı % 37 civarında bulunmuştur (68).

Gastroenterologlarda HP prevalansının yüksek olması, nozokomiyal geçişin önemini göstermektedir. Endoskopların iletimde bir rolü olabileceği belirtilmektedir. Bugüne kadar seksüel yolla bulaşma bildirilmemiştir (61).

2.1.5. Patolojik Mekanizmalar

HP bazı bireylerde hayat boyu herhangi bir semptomla yol açmazken bazı bireylerde ciddi hastalıklar gelişmesine sebep olmaktadır. Bunun nedenleri henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Konağa ait immünolojik ve fizyolojik faktörler, bakteriyel virülans ve çevresel etkenler gibi multifaktöriyel etkileşimler konağın immün yanıtını etkiliyor olabilir. Bu noktada bakteriyel faktörler ve konağa ait faktörler ön plana çıkmaktadır.

Bakteriyel Faktörler

Spiral Şekil ve Motilite: HP spiral şekli ve kamçıları sayesinde visköz mide ortamında kolaylıkla hareket ederek mukus tabakasının derinliklerinde yerleşir. Kemotaksisten sorumlu proteinleri kodlayan cheW, cheA, cheY genlerinden yoksun HP mutantları fare midesinin sadece korpusuna yerleşebilirlerken vahşi tip bakteri ise hem korpusa hem de antruma yerleşebilmektedir (49,69,70).

İmmün Cevaba Karşı Defans: HP'ye karşı oluşan immün yanıtın etkinliği zayıftır. Ayrıca, bakterinin endotoksinleri mononükleer hücreleri aktive etmede zayıf bir potansiyele sahiptir (49,69).

Aside Karşı Korunma: HP, optimal olarak pH: 6.0-7.0 olan ortamlarda yaşamakta ve gelişmekte olup, pH $\leq$ 3.0 olduğunda bakterisid etkiye uğramaktadır. Mikroorganizma, asit salgılayan parietal hücreler açısından fakir olan antruma yerleşme eğiliminde olması ve gastrik mukusun

derinliklerine kolonize olması sayesinde kendini asidik ortamdan korumaktadır. Üreaz enzimi vasıtası ile ürenin olduğu ortamlarda 1.5'in altındaki pH değerlerine dayanabilmektedir (49,69).

Adezyon: Bakterilerin yaklaşık %80'i mukus tabakasının derinliklerinde serbest yaşar. Geri kalan bakteriler ise, ayaksı çıkıntıları ile mukozal epitel hücrelerine tutunmaktadırlar. HP'nin gastrik epitelyal hücrelere adheransı için lipopolisakkarit O-antijen gerekmektedir. Fowler ve ark. (70) O-antijen'in bir Beta-galaktozid bağlayıcı lektin olan galektin-3 tarafından tanımlandığını göstermişlerdir. Bu adezyonun, kolonizasyonda önemli olduğu düşünülmektedir (49,69).

Salgıladığı Enzim ve Proteinler: Üreaz enzimi, bakterinin kolonize olması için gereklidir ve tüm HP suşları üreaz enzimi üretmektedirler. Üreaz konağın mide mukozasında epitel hasarı oluşturur. Bu hasar sonucu ortaya çıkan doku sıvıları bakteri için gerekli besin maddelerini içermektedir. Ayrıca, üreaz üreyi parçalayarak bikarbonat ve amonyak oluşturmakta ve bakterinin gastrik lümende yaşayabilmesi için gerekli nötral ortamı sağlamaktadır. Yapılan çalışmalarda oluşan amonyağın bakteriyel adezyonu arttırdığı ve komplemanı inaktive ettiği saptanmıştır (47,49,69).

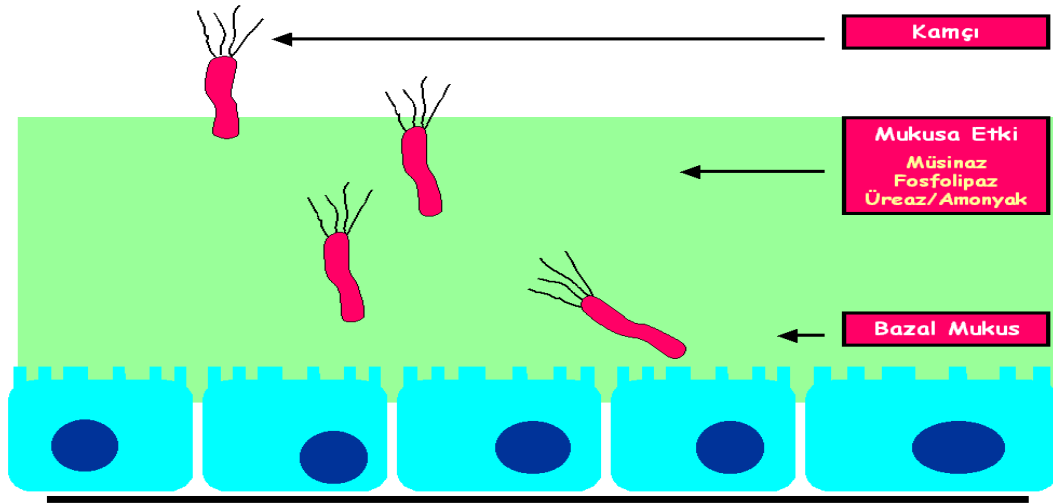
HP, katalaz ve süperoksid dismutaz enzimlerine de sahiptir. Bakteri, bu enzimler aracılığı ile nütrofillerden açığa çıkan serbest oksijen radikallerinden korunabilmektedir (69,72).

Mikroorganizma, lipolitik bir enzim olan fosfolipaz A2 aracılığı ile fosfolipidleri sindirerek hücre hasarını artırmaktadır (69,72). Ayrıca, salgıladığı proteaz enzimi ile mide mukozasındaki mukusu parçalayarak kolonizasyonunu kolaylaştırmaktadır (Şekil 2.3) (49,69).

Konak Cevabı

Enfekte olduktan sonra bakteriye karşı hem humoral hem de hücresel düzeyde immün yanıt gelişmektedir. Yüzey epitelinden ve dolaşan immün hücrelerden antimikrobiyal peptidlerin üretim ve salınımı konağın

antimikrobiyal korunmasında anahtar bir role sahiptir (73). Doğal immün yanıt; lipopolisakkarit, lipoprotein, peptidoglikan, flagellin, çift sarmal RNA ve zimosan gibi patojene eşlik eden moleküllerin konağın makrofaj ve dendritik hücrelerindeki reseptörler tarafından tanınmasına bağlıdır. Bunların tanınması proinflatuar sitokinler, kemokinler, tip I interferonlar (interferon α veya β) ve dendritik hücre matürasyonunu içeren bir yolun tetiklenmesine neden olur.



Şekil 2.3. HP'nin Mukus Engelini Aşması

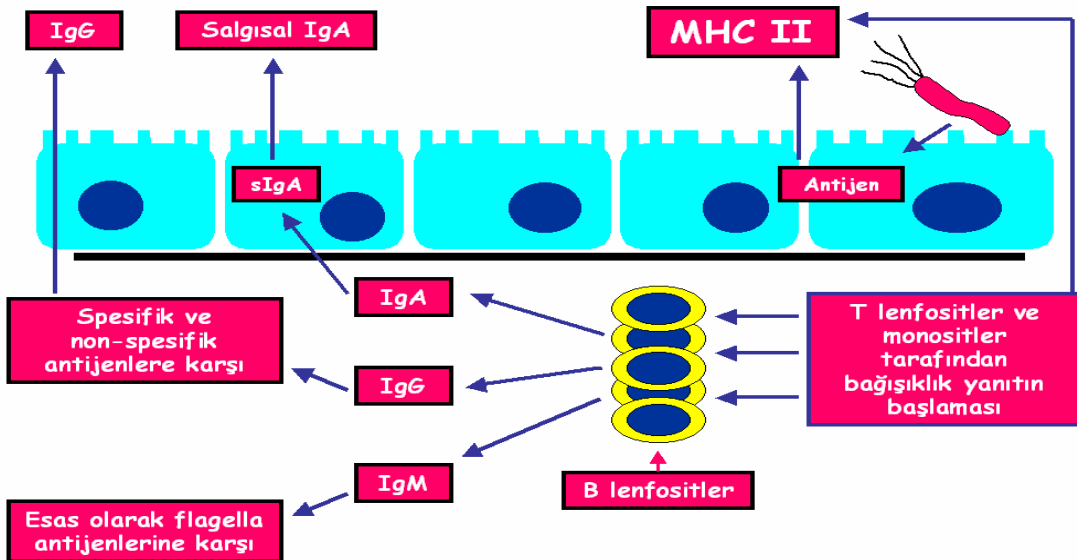
En iyi tanımlanmış patojene eşlik eden molekül reseptörleri Toll-like reseptörler (TLR) ve Nod reseptörleridir (74,75). Çalışmalar son zamanlarda TLR4 üzerine odaklanmıştır. TLR4 aracılı hücre apoptozunun HP enfeksiyonu esnasındaki epitelyal hücre hasarının patolojisine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Bakterinin yüzey epitel hücresine yapışması interleokinler (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), interferon γ , tümör nekrozis faktör α , trombosit aktive edici faktör ve diğer sitokinlerin salınmasına neden olur. Bu sitokin ve kemotaktik faktörler, nötrofiller ve diğer inflammatuar hücrelerin bu bölgeye göçüne neden olur (69).

Epitel hücre membranındaki mikrobiyal antijenler, gastrik epitelden salınan major histokompatibilite kompleksleri Class II'nin de yardımıyla

sitotoksik T hücreleri ve yardımcı T hücreleri tarafından tanınmaktadır. Böylece ortama daha fazla sitokin salınmakta ve sitokinlerin artışı da B lenfositlerinin plazma hücrelerine dönüşmesine yol açmaktadır. Plazma hücrelerince oluşturulan antikorlar, hücre yüzeyindeki bakteri antijenleri ile reaksiyona girmekte ve otodestruktif bir olay başlamaktadır. Diğer taraftan aktive olan nötrofillerden salgılanan reaktif oksijen metabolitleri ve proteaz gibi enzimler de epitel hasarına katkıda bulunmaktadır. Ayrıca, ortamda bol miktarda bulunan sitotoksik T lenfositler de doğrudan epitele zarar verebilmektedir. Bu olaylar epitelyal erozyon ve ülserasyonlara neden olmaktadır (49,69).

Hem dolaşan hem de lokal antikorların bulunması humoral immün yanıtın varlığını gösterir. Enfekte kişilerde serumun yanı sıra tükürük, mide sıvısı, dışkı ve idrarda HP için spesifik antikorlar gösterilmiştir. Ancak oluşan bu antikorlar enfeksiyonun eradikasyonuna katkıda bulunmazlar (Şekil 2.4)

Humoral immün yanıtın olmadığı hipogamaglobulinemililerde, HP ile enfeksiyon halinde, hızla gastrik atrofi gelişir ve gastrik kanser gelişme olasılığı 50 kat artar (49).



Şekil 2.4. Humoral İmmün Yanıt

Humoral immün yanıtı harekete geçiren ve kendilerine karşı antikor oluşan başlıca HP antijenleri şunlardır:

Sitotoksine Eşlik Eden Protein (CAP): HP türlerinin % 60'ında bulunan 120 KD büyüklüğündeki çok antijenik bu proteini, Cag A denilen bir gen kodlar. Cag A nötrofilleri aktive eden IL-8 sekresyonunu arttırır. Bütün HP türleri gastrit oluşturabilmesine rağmen, Cag A pozitif türlere bağlı gastrit, peptik ülser ve distal gastrik kanser gelişme riski daha fazladır (69,72,76).

Üreaz ile ilişkili protein: Vac A geni ile kodlanan ve epitelyal hücrelerde vakuolizasyona ve porlar oluşmasına neden olan 54-58 KD büyüklüğünde bir proteindir. Bu porlar ürenin hücrelerden dışarı çıkışına izin verir. HP'nin hücre duvarında ise  re I olarak adlandırılan üre spesifik porlar vardır ve bunlar ürenin kullanılmak üzere bakterinin içine girişini sağlarlar. Üre I gastrik mukozal kolonizasyon için esansiyeldir (69,72,77).

Dış membran proteinleri: Bab A membrana bağlı bir adezin molekülü olup Bab A2 denilen bir gen tarafından kodlanır. Gastrik epitelyal hücre membranında Lewis^b denilen kan grubu antijenine bağlanır. Bab A2 geni pozitif olan HP türleriyle olan infeksiyonlar gastrik adenokarsinom için artmış risk taşırlar. Hop Q, Sab A, Oip A gibi dış membran proteinleri de HP patogeneziyle ilişkili olduğu düşünülen antijenik yapılardır (69).

Arginaz: Roc F denilen bir gen tarafından kodlanır ve L-argininin üre ve L-ornitine dönüşümünü sağlar. Normalde L-arginin uyarılabilir nitrik oksit sentaz enzimiyle nitrik oksite dönüştürülür ve bakterisidal etki sağlanır (69,72).

Hücresel immün yanıt konusunda çok fazla çalışma yapılmamış olup immün yanıtın nasıl başladığı çok açık değildir. Normal mide mukozasında, organize lenfoid doku yoktur. Lamina propriada dağınık T lenfositleri ve epitelde de intraepitelyal T lenfositleri bulunur. HP enfeksiyonunda midede adeta peyer plaklarını andıran organize lenfoid agregatlar görülebilmektedir.

yerleşerek mide asidinin etkisinden korunmaktadır. Ayrıca hem mukus tabakasını % 30 oranında inceltmekte hem de mukusun niteliğini değiştirerek aside karşı daha geçirgen duruma getirmektedir (47,49,69,72).

2.1.6. Klinik Tablolar

HP'nin 1982 yılında keşfinden sonra çocuklarda enfeksiyonun varlığına dair ilk literatürlerin yayınlanmasına kadar yaklaşık on yıllık bir süre geçmiştir. Günümüzde bakterinin başlıca anneden fekal oral yol ile çocukluk çağına bulaştığı kabul edilmektedir. Bu nedenle çocukluk çağına HP enfeksiyonu ile ilgili araştırmalar giderek artmaktadır (58,79,80). HP ile enfekte bireylerin büyük çoğunluğu asemptomatik olmasına karşın, semptomatik olanlarda değişik gastrointestinal hastalıklar görülebilmektedir (81-85).

Gastrit

HP öncelikle korpus ve antrumu eşit oranda tutarak hipoklorhidri ile seyreden akut gastrit oluşturur. Gönüllü bireylere ağız yoluyla HP verilen bir çalışmada bu bireylerde daha sonra akut gastrit geliştiği gösterilmiştir (86).

HP gastritinin sıklığı yaşla birlikte artmaktadır. Gastritli çocukların % 60'ından fazlasında, antral mukozada HP saptanmıştır (87).

Talley ve ark. (88) çocuklarda dispepsi araştırmasında endoskopinin mutlaka yapılması gerektiğini bildirmişlerdir. HP gastritinde en önemli endoskopik bulgu yamalı tarzdaki eritemdir (49).

Peptik Ülser

Mide ve duodenumda mukoza bütünlüğünün sürdürülmesi, mukozaya saldıran ve mukozayı koruyan faktörler arasındaki dengeye bağlıdır (Tablo 2.2). HP gerek koruyucu faktörleri azaltarak, gerekse de en önemli saldırgan olan asit pepsinin gücünü artırarak peptik ülseri neden olmaktadır. HP'nin

asitle birlikte ülser etyopatogenezinde rol oynayan en güçlü saldırgan olduğu kabul edilmektedir (47).

Tablo 2.2. Peptik Ülser Etyopatogenezinde Rol Oynayan Nedenler

Saldıran faktörler	Koruyucu faktörler
Asit	Vasküler endotel ve bazal membran bütünlüğü
Pepsin	Mukozal kan akımı
Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaçlar	Yüzeyel epitel rejenerasyonu
Steroidler	Bikarbonat sekresyonu
Alkol	Mukus sekresyonu
Sigara	Lokal prostaglandin sekresyonu
Helicobacter pylori	Fosfolipidler

Parietal hücre kitlesinin ve pepsinojen salınımının artması ile birlikte hipergastrineminin de etkisiyle duodenuma boşalan asit yükünde belirgin bir artış olur. Devamlı fazla asitle karşılaşan duodenal mukozada cevap olarak, Brunner bezlerinin boyun kısımlarında, gastrik metaplazi adacıkları oluşur. HP ancak gastrik tip epitelde kolonize olduğu için, duodenumda gastrik metaplazi adacıklarının oluşması, mikroorganizmanın aradığı koşulların gerçekleşmesine ve dolayısıyla bakterinin duodenuma yerleşerek duodenit geliştirmesine neden olur. Müteakiben, asit etkisine daha duyarlı hale gelen duodenal mukozada ülserasyonlar oluşur (69).

HP ile enfekte gastrik ülserli hastalarda, bakteri eradikasyonu yapıldıktan sonra ülser rekürrensının büyük ölçüde azalması, HP'nin gastrik ülser etyolojisinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir.

Klinik alışmalar, duodenal ülserli hastalarla karşılaştırıldığında gastrik ülserli hastalarda HP enfeksiyonu görülme oranının % 50–80 daha az olduğunu göstermiştir (54). HP'nin gastrik ülsere ne şekilde sebep olduğu tam olarak bilinmemektedir ancak trombosit aktive edici faktör yoluyla arteriyel tromboza yol açıp mukozal infarktlar yaparak gastrik ülsere neden olabileceği, bu konuda ileri sürülen görüşlerden birisidir (89).

Gastrik Kanser

Dünya Sağlık rgt 1994 yılında, HP'nin gastrik karsinomaya yol açan patogeneze zincirinde önemli rolü olduğunu belirtmiş ve Grup-I karsinojen (kesin karsinojen) olarak tanımlamıştır (44).

HP enfeksiyonlu hastalarda, enfeksiyon olmayan hastalara göre gastrik kanser gelişme riskinin ortalama 6 kat arttığı ne sürülmektedir. Özellikle bakterinin çocukluk çağında alınmasının, gastrik karsinoma riskini arttıran önemli bir faktör olduğu bildirilmektedir (49).

HP enfeksiyonu sonrasında kanser gelişimini açıklamaya yönelik bir çok hipotez ne sürülmüştür. Son zamanlarda çalışmalar inflamatuvar sitokinleri kodlayan genlerdeki, özellikle interleokinin 1'deki genetik polimorfizmin gastrik kanser oluşumunda önemli bir bileşen olduğu üzerine yoğunlaşmıştır (90-92).

Lenfoma

HP, normal şartlarda midede bulunmayan lenfoid doku ve foliküllerin oluşumuna (MALT) yol açar. Midede gelişen düşük grade'li B hücreli lenfomalar, MALT'ın temel yapısal özelliklerini taşımaktadırlar. Bu lenfomalar ve bunların dönüşümü ile gelişebilen yüksek grade'li lenfomalar, birlikte MALT lenfomalar olarak bilinmektedirler. Mide-MALT lenfomalı olguların % 92'sinde HP enfeksiyonunun saptanması, HP gastriti ile mide-MALT lenfoma arasındaki ilişkiyi desteklemektedir. Bu ilişkiyi destekleyen bir başka bulgu ise, HP gastriti ile birlikte bulunan MALT lenfoma vakalarının, bakteri

eradikasyonunu takiben tam iyileşme ve/veya lezyonlarda gerileme göstermesidir. Bu nedenle düşük grade'li mide MALT lenfomalarında diğer tedavi yöntemlerine yönelmeden önce HP eradikasyonu yapılması gerektiği ileri sürülmektedirler (47,49).

Helicobacter Pylori ve Ateroskleroz

Epidemiyolojik 18 çalışmanın meta analizi ile yaklaşık 100.000 hasta üzerinde HP enfeksiyonu ile koroner kalp hastalığı arasındaki ilişki, peptik ülser ile olan ilişkisinden daha önceleri araştırılmıştır (93).

HP pozitifliği ile lökosit sayısı, serum total kolesterol seviyesi, trigliserid seviyesi, kan basıncı, fibrinojen, C reaktif protein gibi biyokimyasal belirteçler arasındaki ilişkiler araştırılmış, kesin olarak net bir ilişki saptanamamıştır. HP'nin direkt olarak aterosklerotik plak üzerine olan etkisi kanıtlanamamıştır.

Pasceri ve ark. (94) iskemik kalp hastalığı olan hastalar üzerinde yaptıkları bir araştırmada, HP prevalansının iskemik kalp hastalığı olanlarda (% 62) kontrol grubuna göre (% 40) anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır.

Farsak ve ark. (95) aterosklerotik lezyonlara bağlı olarak cerrahi tedavi uygulanmış hastaların endarterektomi örnekleri üzerinde yaptıkları çalışmada, toplam 46 örneğinin 17'sinde (% 37) PCR ile HP DNA'sını saptamışlardır. Aynı şekilde Ameriso ve ark. (96) karotid endarterektomi ile elde edilen 38 aterosklerotik plağın 20'sinde HP DNA'sını saptamışlar ve bu plakların 10 tanesinin morfolojik ve immunohistokimyasal olarak HP enfeksiyonu bulguları gösterdiğini belirtmişlerdir.

Helicobacter Pylori ve Kronik İmmün Trombositopenik Purpura

HP'nin Kronik immün trombositopenik purpura (ITP) patogenezindeki rolü iyi tanımlanmış ve başka çalışmalarla doğrulanmıştır. Suzuki ve ark. (97) HP eradikasyonu sonrasında ITP hastalarının platelet sayımlarında belirgin düzelme olduğunu bildirmişlerdir. Kürekçi ve ark. (98) HP enfeksiyonu

saptadıkları kronik ITP'li hastanın sadece HP eradikasyon tedavisi ile tamamen düzeldiğini bildirmişlerdir. Emilia ve ark. (99) HP ile ITP arasındaki ilişkiyi saptamak için 30 kronik ITP'li hastayı incelemişler ve hastaların 13'ünde (%43.3) HP enfeksiyonu saptamışlardır. Enfeksiyon tedavi edildikten sonra hastaların dördünde trombosit sayısında tam iyileşme (%33.3) ve iki hastada ise kısmi iyileşme (%16.6) saptanmıştır. İyileşen hastalardan sadece birinde relaps gözlenmiştir. Bu nedenle araştırmacılar kronik ITP'li hastaların, bu enfeksiyon açısından da araştırılması gerektiğini ifade etmektedirler.

Helicobacter Pylori ve Demir Eksikliği

Son yıllarda yapılan çalışmalar, demir eksikliği anemisi ile HP enfeksiyonu arasında bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir (17,100,101). Kürekçi ve ark. (17) HP enfeksiyonu saptanan 140 hasta üzerinde yaptıkları araştırmada HP ile enfekte olan olguların % 12.9'unda demir eksikliği anemisi, ve % 25.7'sinde demir eksikliği saptamışlardır. Demir eksikliği anemisi olan olguların % 83.3'ünün ve demir eksikliği olan olguların % 80.6'sının demir tedavisi yapılmadan sadece HP enfeksiyonunun tedavi edilmesi ile düzeldiği gösterilmiştir.

Annibale ve Marignani (102), HP enfeksiyonu ile demir eksikliği anemisi arasındaki ilişkiyi saptamak için 189 hastayı incelemişlerdir. Çalışmaya alınan hastalardan 30'unda (% 15.9) demir eksikliği anemisi saptanmıştır. Demir tedavisi yapılmadan, sadece bakteri eradikasyon tedavisi verilmiş ve 6. ayda hastaların % 75'inde, 12. ayda ise % 91.7'sinde aneminin, eradikasyonla birlikte spontan düzeldiği görülmüştür.

Yon Ho Choe ve ark. (89) çok fazla miktarda demire ihtiyaç duyulan puberte dönemindeki çocuklarda, HP enfeksiyonunun büyüme geriliğine katkıda bulunup bulunmadığını araştırmışlardır. Bu nedenle 10-15 yaşlarında 375 çocuk üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda hem demir eksikliği anemisi hem de HP enfeksiyonu olan hastaların boy ortalamalarının anlamlı derecede kısa olduğunu saptamışlardır. Sonuç olarak HP enfeksiyonu ile demir eksikliği anemisinin birlikte olmasının pubertal büyümeyi

yavaşatabileceğini, bu nedenle demir eksikliği anemisi ve boy kısalığı mevcut olan hastaların HP enfeksiyonu açısından da araştırılması gerektiğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu çalışmada demir eksikliği anemisi olan grupta HP enfeksiyonunun prevalansı % 31.3 iken demir eksikliği anemisi olmayan grupta % 15.5 olarak saptanmıştır.

Helicobacter Pylori ve Kobalamin Eksikliği

HP enfeksiyonu ile vitamin B₁₂ eksikliği arasında bir ilişki olabileceğini ifade eden yayınlar da son zamanlarda artmıştır. Kaptan ve ark. (19) HP enfeksiyonu ile vitamin B₁₂ eksikliği arasındaki ilişkiyi göstermek için vitamin B₁₂ eksikliği olan 138 erişkin hastayı HP açısından taramıştır. Bu hastaların 77'sinde (% 56) HP enfeksiyonu tespit edilmiştir. Enfekte olan hastaların 31'inde (% 77), eradikasyon sonrasında hem anemi hem de serum vitamin B₁₂ düzeyi düzelmiştir. Bu nedenle HP'nin vitamin B₁₂ eksikliğine neden olabileceği ve tek başına bu enfeksiyonun tedavisinin anemiyi düzeltebileceğini ileri sürmüşlerdir.

HP enfeksiyonundan kaynaklanan vitamin B₁₂ malabsorbsiyonunun mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Ancak şu olasılıklar üzerinde durulmaktadır:

a) HP'nin neden olduğu azalmış asit sekresyonu ve gastrit vitamin B₁₂'nin yiyeceklerden ayrılıp R binder'lara kritik transferinde yetersizliğe yol açmaktadır.

b) İntrensek faktör sekresyonunda yetersizlik.

c) Askorbik asitin gastrik mukozadan salınımında azalma ve artmış gastrik pH (103,104).

Annibal ve ark. (18) vitamin B₁₂ eksikliği nedeniyle makrositik anemisi olan bir grupta HP gastritinin tipik histolojik paternini %57 oranında tek patolojik bulgu olarak saptamışlardır.

Atay ve ark. (21)'nin yaptığı çalışmada mikropartikül enzim immunoassay yöntemi ile HP enfeksiyonlu çocuklarda %6.8 oranında vitamin B₁₂ eksikliği saptanmıştır.

İsrail'de yapılan bir çalışmada HP prevalansının yüksek olduğu diğer yönlerden sağlıklı bireylerde vitamin B₁₂ düzeyleri alt sınırlara yakın olarak bulunmuştur (105).

Gümürdülü ve ark. (106) non atrofik gastrik mukozası olan hastalarda vitamin B₁₂ eksikliğinin sıklığını değerlendirdikleri çalışmalarında vitamin B₁₂ düzeylerinin hastaların %46.8'inde 200 pg/mL'nin, %6.5'inde ise 100 pg/mL'nin altında olduğunu göstermişlerdir. Bu çalışmada serum kobalamin seviyesinin hasta yaşı ile ilişkili olmadığı ancak antral mukozanın bakteri yükü ile ilişkisinin bulunduğu gösterilmiştir.

Akçam ve ark. (22) dispeptik semptomlar nedeniyle üst GİS endoskopisi uyguladıkları 5-18 yaşlar arasında ki 50 çocukta vitamin B₁₂ ve ferritin düzeylerini kontrol etmişlerdir. HP pozitif olarak saptanan grup negatif olarak saptana grupla karşılaştırıldığında vitamin B₁₂ düzeylerinin ferritin düzeylerine göre daha düşük olduğu (sırasıyla p=.042, p=.098) gösterilmiştir.

2.1.7. Tanı Yöntemleri

HP enfeksiyonunun saptanmasında pek çok yöntem kullanılmaktadır. Bu testler yardımıyla HP epidemiyolojisi, gastrik ve duodenal ülser patofizyolojisi, hastalığın tedavi ve takibi daha iyi değerlendirilmektedir. Bu testlerden hiçbirisi tek başına 'gold standart' değildir. Genellikle birkaç testin bir arada kullanılması daha güvenilir sonuçlar vermektedir. Bu amaçla kullanılan testler, invazif ve non invazif yöntemler olarak başlıca iki grupta incelenmektedir (Tablo 2.3). İnvazif testlerin maliyetinin yüksek olması, uygulamada yaşanan güçlükler dikkatlerin daha çok non-invazif testler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur.

Tablo 2.3. Helicobacter Pylori Tanısında Kullanılan Testler

Testler	İnvazif	Noninvazif
Direk	Kültür (gastrik mukoza)	PCR (Tükrük, Dışkı)
	Histopatolojik İnceleme	ELISA (Dışkı)
	PCR	
İndirek	Hızlı Üreaz testi	Serolojik testler
		Üre nefes testi

İnvazif Testler

Kültür

HP'nin gastrik mukozadan kültür yoluyla izole edilmesi, mikroorganizmanın doku örneğinde mevcut olduğunun en iyi kanıtıdır (107,108). Ancak, teknik olarak zor olması, bakterinin çoğalmasının 3 - 6 günü bulması nedeniyle zaman alıcı bir yöntem olması, yalancı negatif sonuçların fazla olması ve en deneyimli laboratuvarlarda bile izolasyon oranının % 75–90 olması nedeniyle kullanım olanağı sınırlıdır.

Klinik araştırmalarda uygulanabilecek referans bir metod olarak gözükmektedir. Ayrıca tedavinin başarısız kaldığı durumlarda ve bakteriye karşı antibiyotik direncinin yüksek olduğu bölgelerde seçilecek tedaviye yol göstermesi açısından kültür ve antibiyogram yapılabilir (109).

Histopatolojik İnceleme

Mikroskop ile mikroorganizmanın doğrudan gözle görüntülenmesi yöntemi olup HP enfeksiyonunun yaygınlığını ve mukozal hasarı gösteren tek

metoddur. Işıık mikroskobunda bakteri, spiral omak şeklinde ve mukozada ise gastrik epitele bitişik şekilde görölür. Işıık mikroskobu kullanıldığında Gram boyama, Hematoksilen-Eozin, Whartin-Starry gümüş boyası, Giemsa, Genta gibi boyalar kullanılabilir. Bunların arasında en iyi sonuçlar Whartin-Starry gümüş boyası ve Giemsa ile alınmıştır. Bu yöntemlerin dışında immünohistokimyasal ve immünofloresan yöntemler de mevcuttur. Ancak bu yöntemlerin daha pahalı olması, uygulanmasındaki zorluklar ve standart histolojik yöntemlere ek katkı getirmediğlerinden rutin olarak uygulanmamaktadırlar (63,107,108).

Endoskopi esnasında HP'nin in vivo olarak gözlenmesi bu konudaki önemli bir gelişmedir. Confocal lazer endoskopi, 1000 kat büyütmede IV floresan zeminde bakterinin 'acrişlavine' ile boyanması temeline dayanan, bakteriyi kendi doğal nişinde görüntülemeyi sağlayan yeni bir metoddur (110).

Polimeraz Zincir Reaksiyonu

PCR, bakteri yoğunluğunun fazla olmasına gereksinim göstermeyen etkili bir yöntemdir. PCR için, *Helicobacter pylori*'nin üreaz A geninin nükleotid zinciri veya 16S r-RNA'sının nükleotid sekansları kullanılmaktadır. Tükrük veya dışkı gibi materyaller PCR ile incelenebileceğı gibi endoskopik biyopsi materyalleri de incelenebilmektedir. Ancak, DNA kontaminasyonunu önlemek için biyopsi forsepsleri ve endoskopun iyice temizlenmesi gerekmektedir (111).

Hızlı Üreaz Testi

Endoskopi ile biyopsi alındığında, en ucuz ve kolay tanı yöntemi hızlı üreaz testidir. Testin esasını, bakterinin yüksek üreaz aktivitesine sahip olması oluşturur. Bakteri, üreaz enzimi ile üreyi, amonyum ve bikarbonata çevirir. Bu reaksiyon sonrasında çevre dokunun asiditesi azalır ve pH artar. Bu durum pH indikatöründe renk değışikliğı olarak gözlenir (108).

Genel olarak, hızlı üreaz testlerinin duyarlılığı ve özgüllüğü oldukça yüksektir. Buna rağmen, az sayıda mikroorganizmanın olması veya bakteri mide mukozasında yama tarzında yerleştiği için uygun örnek alınmaması durumunda yalancı negatif sonuçlar alınabilir (108).

Noninvazif Testler

Noninvazif testlerin kullanımı için potansiyel endikasyonlar şunlardır:

- a) Gastrik mukozanın direk muayenesi gerekmeyen hastalar,
- b) Biyopsi elde etmede güçlükler (Kanayan ülserler, antikoagülan kullanımı),
- c) Eradikasyon tedavisinin etkinliğini değerlendirme,
- d) Epidemiyolojik çalışmalar (112).

Serolojik Testler

Noninvazif ve indirek bir tanı yöntemidir. HP hem lokal hem de sistemik immün yanıtı neden olur. Bakteriye karşı gelişen antikorlar 'Enzyme linked immunosorbent assay' (ELISA), bakteriyel aglutinasyon, kompleman fiksasyon, immünofloresan, immünoblot ve immünokromatografi gibi pek çok teknikle tespit edilebilir (107,108).

ELISA tekniği ucuz, hızlı, basit ve sensitif olması nedeniyle çok yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu teknik ile IgG, IgM, IgA antikorları tespit edilebilir. Enfeksiyonun tanısında IgG antikorlarının kullanılması önerilmektedir. ELISA testinde tüm hücre kullanılabileceği gibi, ikinci jenerasyon testlerde olduğu gibi daha pürifiye antijenler de (hücre membran proteinleri, üreaz veya yapısal proteinler) kullanılabilir. *Campylobacter jejuni* antikorları ile çapraz reaksiyona girerek yalancı pozitif sonuçlar verebileceği için, tüm hücrenin antijen olarak kullanılması sakıncalıdır. Ancak, iki antijen kombinasyonunun bir arada kullanıldığı ikinci jenerasyon testlerinin sensitivite ve spesifitesi

daha yüksektir. Erişkin hastalarda ELISA IgG'nin sensitivitesi % 63.6–100, spesifitesi ise % 20–100 arasında bulunmuştur.

IgG antikor titresi ile semptomlar ve endoskopi bulguları arasında bir ilişki saptanmamıştır. Ayrıca, HP tedavisinden sonra antikor titresi yavaş olarak düşüş göstermekte ve tamamen ortadan kaybolması bir yıldan uzun sürebilmektedir.

Dışkıda Helicobacter Pylori Antijen Tarama Testi

Uygulanmasının kolay, maliyetinin düşük olması ve tanısal açıdan değerli olması açısından dışkıda HP antijen tarama testi son yıllarda çok ilgi gören bir tanı yöntemidir. Özellikle infant ve küçük çocuklara kolaylıkla uygulanabilmesi en önemli avantajlarından.

Manes ve ark. (113), üre nefes testi ve dışkıda HP antijen tarama testi yardımıyla 106 hastayı, eradikasyon tedavisinin bitiminden 4 hafta sonra karşılaştırmışlardır. Bakterinin eradikasyon oranı % 85 olarak saptanmış olup dışkıda HP antijen tarama testinin sensitivitesi ve spesifitesi sırayla % 97.7 ve % 95.5 olarak saptanmıştır. Yazarlar dışkıda Helicobacter pylori antijen tarama testinin infeksiyonun varlığını doğrulamak için değerli bir test olduğunu ifade etmektedirler.

Konstantopoulos ve Russmann (114) ise 274 çocuk üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda dışkıda HP antijen tarama testinin sensitivitesini % 88.9 ve spesifitesini % 94.0 olarak bulmuşlardır. Ayrıca, her iki test sonuçları arasındaki mükemmel uyum nedeniyle, dışkıda antijen taranmasının çok değerli bir test olduğunu ve özellikle HP eradikasyon tedavisinden sonra kontrol amacıyla kullanılma için çok uygun olabileceğini ifade etmişlerdir.

Gonzales ve ark. (115) dispeptik şikayetleri olan 60 çocuk üzerinde yaptıkları çalışma sonucunda, dışkıda HP antijen tarama testinin sensitivitesini % 95 ve spesifitesini % 100 olarak bulmuşlardır. Bu testin, uygulanabilirliğinin kolay olması, noninvazif olması ve üre nefes testine göre

daha ucuz olması gibi avantajları nedeniyle tercih edilebileceğini ifade etmişlerdir.

Üre Nefes Testi

Üre nefes testi, noninvazif ve indirek bir tanı yöntemidir. HP tanısında kullanılan noninvazif testlerden en güvenilir olanıdır. Gastrik mukozadaki bakteriyel kolonizasyonu göstermektedir. Test yaklaşık 20 yıl önce tanımlanmasına rağmen birçok modifikasyona uğramıştır ve hala tam olarak standardize edilememiştir. Yöntemin esası, HP'nin yüksek üreaz aktivitesi göstermesine dayanmaktadır (63,107,108). Bu nedenle hastaya C^{14} veya C^{13} ile işaretli üre, oral yolla verilir. Enfekte kişilerde, işaretli üre bakteriyel üreaz ile amonyum ve bikarbonata dönüştürülür. İşaretli bikarbonat ($HC^{14}O_3$) kana difüze olur ve işaretli $C^{14}O_2$ şeklinde solunum ile akciğerlerden atılır. Bundan sonra solunum ile atılan işaretli $C^{14}O_2$ sintilasyon sayacı ile ölçülür.

Üre, C^{14} veya C^{13} ile işaretlenmektedir. C^{14} , pahalı olmayan bir izotop olup sintilasyon sayacı ile kolaylıkla ölçülebilmektedir. C^{14} izotopunun fiziksel yarılanma ömrü yaklaşık 5000 yıl olmasına rağmen, solunum ve idrar ile hızlı bir şekilde vücuttan atılır. Marshall ve ark. (48) uygulanan 1000 kadar C^{14} -üre nefes testinin kemik iliği dozunun tek bir gastrointestinal çalışmadan daha az olduğunu göstermiştir. Ayrıca hastalara yılda birkaç kez uygulanan C^{14} -üre nefes testinin yıllık alınan radyasyon dozunda önemli bir değişikliğe yol açmadığını göstermişlerdir. Çocuklarda C^{13} -üre nefes testi önerilmektedir. Ancak bu testin yapılabilmesi için kütle spektrofotometresine gerek duyulması maliyeti çok arttırmaktadır.

Antibiyotikler, bizmut içeren ilaçlar veya H_2 reseptör antagonistlerinin kullanılmış olması, C^{14} -üre nefes testinin yanlış negatif sonuçlanmasına neden olur. Bu nedenle bu ilaçlardan en az bir ay sonra test tekrarlanmalıdır.

HP'nin midede 'kaldırım taşı' şeklinde tutulum yapmasından dolayı biyopsiye dayalı yöntemler, uygun yerden biyopsi yapılmadığı zaman mikroorganizmanın varlığını net olarak değerlendiremez. Ancak üre nefes

testi için böyle bir durum söz konusu değildir. Unutulmaması gereken bir diğer nokta da orofarinksteki üreaz üretebilen bakterilerin yalancı pozitifliğe neden olabilecekleridir.

Yanez ve ark. (108) 59 çocuk hastayı tedavi öncesi ve sonrası üre nefes testi, kültür, histoloji, hızlı üreaz testi ve serolojik olarak incelemişlerdir. Çalışma sonunda, hastaların tedavi öncesi ve sonrası değerlendirilmesinde üre nefes testinin endoskopinin gerekli olmadığı durumlarda güvenle kullanılabileceğini göstermişlerdir. Ayrıca test nükslerin saptanmasında çok yararlıdır. HP enfeksiyonunun tanısında kullanılan testlerin karşılaştırılması Tablo 2.4'te verilmiştir.

Tablo 2.4. HP Tanısında Kullanılan Testlerin Karşılaştırılması

Test		Sensitivite (%)	Spesifite (%)	Açıklamalar
İnvazif	Histoloji	>95	100	Proton pompa inhibitörleri, bizmut'lu bileşikler ve antibiyotikler sensitivitesini azaltır
	Üreaz aktivitesi	93-97	>95	Proton pompa inhibitörleri, bizmut'lu bileşikler ve antibiyotikler sensitivitesini azaltır
	Kültür	70-80	100	Teknik olarak zor
	Seroloji (IgG)	85	79	Çocuklarda güvenilirliği tam olarak bilinmiyor
Non-invazif	Üre Nefes Testi	95-100	91-98	Tedavi başarısını değerlendirmede çok güvenilir. 6 yaşından büyük çocuklarda en iyi non-invazif test
	Gaitada Antijen	91-98	94-99	Tedavi sonrası 7. günde değerlendirmede çok iyi. Yaştan bağımsız olarak uygulanması kolay.

2.1.8. Tedavi

1994 yılında Uluslararası Sağlık Enstitüsü tarafından yapılan toplantıda, HP ile infekte olup gastrik ve duodenal ülseri olan hastalara bakterinin eradikasyonunun yapılması önerilmiştir. HP ile infekte olan asemptomatik hastalar ile dispepsili hastalarda, bakteri eradikasyonunun gerekip gerekmediği tartışmalıdır. Tedavi edilmeyen HP enfeksiyonu hayat boyu devam edebilir. Çalışmalar enfeksiyonun ortadan kaldırılması ile dispepsi semptomlarının kaybolduğunu, kronik gastritte klinik ve histolojik iyileşme olduğunu göstermiştir. Ayrıca, duodenal ve gastrik ülserlerde iyileşme süresinin kısaldığı, rekürrens oranının azaldığı ve ülser komplikasyonlarının önlendiği anlaşılmıştır. Bu nedenlerle, pediatrik popülasyonda bakterinin eradikasyonu önemlidir (116).

Bazı araştırmacılar tüm infekte çocukların tedavisi için yeterli kanıt olmadığını savunurken, bazıları ise HP'nin Grup-I karsinojen olması nedeniyle tüm çocukların tedavi edilmesi gerektiğini savunmaktadırlar.

Avrupa HP Çalışma Grubu, gastrik kanserli hastaların enfekte aile üyelerine, gastrit düşündürülen bulguları olan hastalara ve gastrik kanserin erken rezeksiyonu yapılmış hastalara eradikasyon önermektedir (45).

İdeal tedavi rejimi güvenli, ucuz, yan etkisi en az ve % 90 hastada etkili olmalıdır. HP pek çok antibiyotiğe duyarlı olsa da, tek başına bakterinin eradikasyonunu sağlayacak antimikrobiyal ajan yoktur. Pek çok tedavi kombinasyonu önerilmektedir. Ancak çocuklarda önerilen tedavi rejimlerinde görüş birliği yoktur.

HP'ye yönelik antimikrobiyal tedavi, mikroorganizmanın gastrik mukozaya yapışık olarak mukusun altına yerleşmesi nedeniyle güçtür. Çünkü antibiyotiklerin mide lümeninden ve damarlardan bakteriye ulaşması zordur. Ayrıca mide asidinin yüksek düzeylerde bulunması nedeniyle antimikrobiyal ilaçlar sindirilerek etkinliklerini kaybetmektedirler.

Genellikle tek antibiyotik ile bakterinin eradikasyonunun yetersiz olması nedeniyle ikili, üçlü, dördü ve uzun süreli tedavi protokolleri geliştirilmiştir. Ancak kullanılan ilaç sayısı ve kullanım süresi arttıkça yan etki, maliyet ve hasta uyumunda problemler artmaktadır. Şu anda en çok kullanılan protokoller ikili ve üçlü protokollerdir (Tablo 2.5).

H₂ reseptör antagonistleri, parietal hücrelerdeki H₂ reseptörlerini bloke ederler. Bunlar bazal asit salgısının kuvvetli inhibitörüdürler. Özellikle gece asit salgısını baskılayarak ülser iyileşmesinde etkili olurlar.

Proton pompa inhibitörleri ise parietal hücre membranının luminal yüzünde yer alan H⁺-K⁺-ATPase pompasına bağlanarak bu pompayı geri dönüşümsüz olarak bloke ederler. Oral alındıktan 1–3 saat sonra serumda pik yaparlar. Günde tek doz alınan proton pompa inhibitörü, midede en az 20 saat süresince pH > 4.0 seyretmesine neden olur. Bu da, gün boyu ve gece mide asidinin etkin bir şekilde baskılandığını göstermektedir.

Tablo 2.5. Helicobacter Pylori Eradikasyon Tedavi Sonuçları

Kaynak	Hasta sayısı	İlaç	Süre	Eradikasyon
(83)	73	Omeprazol Amoksisilin Klaritromisin	7 gün	% 75
(85)	15	Lansoprazol Amoksisilin Klaritromisin	7 gün	% 87
(17)	140	Lansoprazol Amoksisilin Klaritromisin	14 gün	%86.4
(45)	106	Omeprazol Amoksisilin Metronidazol	14 gün	% 88.9

2.2. Vitamin B₁₂ (Kobalamin)

2.2.1. Vitamin B₁₂ Metabolizması

Vitamin B₁₂ esas olarak hayvansal gıdalarda bulunur. Yiyeceklerle alındığı zaman midede yiyecek proteinlerinden serbestleşir ve R-binder proteinlere bağlanır. Bu şekilde geldiği İnce barsakta pankreatik proteazlara maruz kalınca R-binder'lerden ayrılarak mide parietal hücrelerince yapılan intrinsek faktör ile bir kompleks oluşturur. Oluşan intrinsek faktör-vitamin B₁₂ kompleksi terminal ileumda spesifik ileal reseptörlerce tanınarak absorbe edilir. Enterosit içine giren vitamin B₁₂, burada kompleksden ayrılarak portal dolaşıma geçer ve portal dolaşımda kendisini dokulara transfer edecek olan transkobalamin II'ye bağlanır. vitamin B₁₂-transkobalamin II kompleksine holotranskobalamin adı verilir. Bu form vitamin B₁₂'nin dokularca alınıp kullanılabilen aktif formudur (117).

Vitamin B₁₂ iki önemli metabolik reaksiyonun kofaktörüdür. Bunlar homosistein'in methionin'e metilasyonu ve matilmalonil koenzim A'nın süksinil koenzim A'ya dönüşümüdür (118). Vitamin B₁₂ eksikliğinde prekürsörlerin (homosistein ve metilmalonik asit) oranı artar. Bu prekürsörlerin ölçümü, eksikliğin tanısını koymada halen kullanılmaktadır.

Eskiden vitamin B₁₂ eksikliğinin çocuklarda nadir olduğuna inanılırdı. Ancak son zamanlarda yapılan çalışmalar bu durumun sıklığının daha önce belirtilenden daha fazla olduğunu göstermiştir (119). Çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliğinin belirtileri genellikle nonspesifiktir. Bunlar arasında irritabilite, halsizlik, büyüme ve gelişme geriliği sayılabilir. Bu komplikasyonlar tedavi ile düzelebilir ancak oluşan nörolojik hasar kalıcıdır. Bu nedenle çocuklarda erken tanı ve tedavi çok önemlidir (120).

2.2.2. Çocuklarda Vitamin B₁₂ Eksikliğinin Görülme Sıklığı

Çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliğinin sıklığı hakkında çalışmalar kısıtlı sayıdadır. Bununla birlikte ABD'de 3766 çocukta serum vitamin B₁₂

seviyelerinin araştırıldığı bir çalışmada 100 pg/mL'nin altında 3 çocuk (sıklık 1/1255) saptanmıştır. Yine aynı çalışmada 18 çocukta (1/200) serum vitamin B₁₂ seviyeleri 200 pg/mL'den düşük olarak tespit edilmiştir. Bu çocukların büyük bir çoğunluğunun 12 ile 19 yaşlar arasında olduğu ve bu yaş grubunda oranın 1/112'ye yükseldiği görülmüştür. Hayvansal ürünlerin daha az kullanıldığı ülkelerde vitamin B₁₂ eksikliğinin sıklığı artmaktadır (121,122). Örneğin Meksika'nın kırsal bölgelerinde yaşayan okul çağı çocuklarında 140 pg/mL'nin altında plazma vitamin B₁₂ düzeyleri %22 oranında saptanmıştır. Bu eksikliğin bir bölümünden yetersiz alım sorumlu iken bir bölümünden de vitamin B₁₂ malabsorbsiyonu (Giardia lamblia enfeksiyonuna ve bakteriyel aşırı çoğalmaya sekonder oluşan) sorumlu tutulabilir (122).

2.2.3. Vitamin B₁₂ Eksikliğinin Nedenleri

Çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliği üç ana başlık altında incelenir: azalmış alım, anormal absorbsiyon ve doğuştan vitamin B₁₂ metabolizması bozuklukları (123-125).

Azalmış Alım:

Çocuk ve adölesanlarda günlük vitamin B₁₂ gereksinimi 0.4-2.4 µg'dır (126). Azalmış alıma ait en sık bildirilen pediatrik durumlar; sıkı vejetaryen diyet nedeniyle vitamin B₁₂ eksikliği oluşmuş ancak tanı konulmamış annelerin, tanı almamış pernisiyöz anemili annelerin ve daha önce gastrik bypass cerrahisi uygulanmış annelerin anne sütüyle beslenen bebeklerine aittir (127-129). Anne sütündeki vitamin B₁₂'nin düzeyi anne serumundaki düzeyi ile paraleldir (130). Normalde yenidoğanın karaciğerinde depo halde bulunan 25µg vitamin B₁₂ hayatının ilk bir yılı için yeterlidir (117). Ancak annede vitamin B₁₂ eksikliği varsa fetal vitamin B₁₂ deposu önemli ölçüde azalmaktadır (131).

Çocuk ve adölesanlarda atipik diyetler vitamin B₁₂ eksikliğine neden olabilir. Sıkı vejetaryen diyet uygulayan adölesanlarda ciddi nörolojik bozukluklar bildirilmiştir (132).

Anormal Absorbsiyon:

Anormal absorpsiyonun nedenleri; intrinsek faktörün yokluğu veya anormallığı, yiyecek proteinlerinden vitamin B₁₂ salınımında azalma, R-binder proteinden ayrılma problemleri, ileumdan emilimde azalma, ileal absorbtif yüzeyin kaybı ve anormal bir ileal reseptör olarak sıralanabilir (125).

Çocuklarda intrinsek faktör yokluğu nedeniyle oluşan vitamin B₁₂ eksikliği gastrik rezeksiyon sonrası bildirilmiştir (133). Otoimmün pernisiyöz aneminin klasik yetişkin formu çocuklarda nadirdir (123).

Diyetle alınan proteinlerden vitamin B₁₂ salınımı gastrik asit gerektirir. Gastrik asit sekresyonunu etkileyen omeprazol gibi ilaçların uzun süre kullanılması vitamin B₁₂ malabsorpsiyonu için risk faktörü olabileceği bildirilmiştir (134). Yine R-binder proteinlerden vitamin B₁₂'nin ayrılması için pankreatik proteazlara ihtiyaç duyulduğundan dolayı pankreatik yetersizlik çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliğinin nadir bir sebebi olabilir (135). Giardia lamblia, Plasmodium falciparum, Diphylobothrium latum, Strongyloides stercoralis ve HP enfeksiyonlarında düşük vitamin B₁₂ seviyeleri bildirilmiştir (20,136-138).

Tropikal sprue, Crohn hastalığı ve çöliyak hastalığı gibi ileal yüzeyi bozan hastalıklarda da vitamin B₁₂ eksikliği riski artmıştır (139).

Vitamin B12 Metabolizmasının Doğuştan Hastalıkları:

Bu hastalıklar ortaya çıkışları, belirti ve bulguları, tanı metodları ve tedavileri ile burada tartışılan konudan farklılıklar göstermektedirler. Bu hastalıklar; transkobalamin II eksikliği, R-binder eksikliği, adenoilkobalamin eksikliği ve metilkobalamin eksikliği olarak sıralanabilir.

2.2.4. Vitamin B₁₂ Eksikliğinde Bulgular

Vitamin B₁₂, DNA sentezi için önemli olan tetrahidrofolat üretimi için gereklidir. Bazı vitamin B₁₂ eksikliği olgularında, geciken DNA sentezi

nedeniyle hızla çoğalan hematopoetik hücrelerde makrositik anemi ortaya çıkar. Hematolojik olarak nötrofillerde hipersegmentasyon, lökopeni, trombositopeni ve pansitopeni de görülebilir (140).

Nörolojik değişiklikler hematolojik anormallik olmaksızın oluşabilir. Bunlar; pareteziler, duyusal defisitler, derin tendon reflekslerinin kaybı, hareket bozuklukları, gelişmede regresyon, hipotoni, nöbetler, demans, ataksi, paraliziler ve nöropsikiyatrik değişiklikler (depresyon, kişilik değişiklikleri, hafıza kaybı, okul performansında düşme) olarak sıralanabilirler (127,141-143).

Anormal pigmentasyon, büyümede yetersizlik, irritabilite, sistolik üfürümler, glossit, halsizlik, anoreksi, kusma, konstipasyon, diyare ve ikterde sapatanabilecek diğer bulgulardır (129,144,145).

2.2.5. Tanı Yöntemleri

Önceleri makrositik aneminin hemen her zaman vitamin B₁₂ eksikliğinde görülebileceği düşünülmekteydi, ancak son zamanlarda buna karşı bir çok çalışma yapılmıştır. Fine ve Soria (146), vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısı için anormal hemoglobin, hematokrit veya ortalama eritrosit hacminin (MCV) kullanılmasının olguların %30'unu yakalayamadığını göstermişlerdir. Makrositoz demir eksikliği, talasemi ve benzeri durumlarca maskelenmiş olabilir. Her ne kadar periferik yaymada oval makrositler ve hiper segmente nötrofiller görülse bile bu bulgular hafif olgular için sensitif ve spesifik değildir (147). Bununda ötesinde, makrositoz çocuklarda sadece vitamin B₁₂ eksikliğine özgü değildir.

Bu nedenlerle vitamin B₁₂ seviyelerinin ölçümü eksikliğin tespitinde faydalı olacaktır. Serum ya da plazma vitamin B₁₂ seviyeleri laboratuvara ve kullanılan metoda bağlı olarak değişkenlikler göstermektedir (126). Normal serum vitamin B₁₂ seviyesi genellikle 200-900 pg/mL arasındadır ve 80 pg/mL'nin altındaki değerler daima vitamin B₁₂ eksikliğini gösterir (148). Buna ilaveten doku seviyeleri serum seviyelerinden daha önce düşük düzeylere

gelebilir ve sınırda veya düşük normal serum seviyesine sahip kişiler semptomatik hale gelebilir (149).

HoloTC seviyeleri vitamin B₁₂ eksikliği için erken bir belirteç olabilir. Çünkü vitamin B₁₂ öncelikle holoTC'den eksilir (150).

Deoksiüridin supresyon testi, DNA sentezinde metilkobalamin gerektiren yolu ölçen sensitif bir metoddur. Ancak yalnızca özel laboratuvarlarda yapılabilen ve kemik iliği aspiratı gerektiren zor bir testtir (150).

Metabolik yolların iki prekürsörü Metil malonik asit (MMA) ve homosistein seviyeleri vitamin B₁₂ eksikliğinde artmaktadır. Homosistein metabolizması, vitamin B₆ ve folik asit seviyelerinden de etkilenmekte iken MMA seviyelerinde artış, vitamin B₁₂ eksikliğine spesifiktir. Bu nedenle MMA ve total homosisteinin her ikisinin de değerlendirilmesi folat ve vitamin B₁₂ eksikliğinin ayırt edilmesinde faydalıdır. Serum MMA ölçümü vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısı için oldukça sensitif olarak bulunmuştur (151).

Çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısında kullanılacak optimum stratejinin belirlenmesi için bu konuda daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Vitamin B₁₂ eksikliği saptandıktan sonra nedenini ortaya çıkarmak için daha ileri araştırmalar yapmak gerekmektedir. Bunlar; diyet değerlendirmesi, parazitik enfeksiyonların araştırılması, Schilling testi, modifiye Schilling testi, aminoasit analizleri, transkobalamin II seviyesi tespiti, genetik çalışmalar ve parietal hücreler ve intrinsek faktöre karşı antikorların araştırılmasını içerebilir (150,152).

2.2.6. Tedavi

Vitamin B₁₂ eksikliğinin tedavisi asıl olarak ortaya çıkaran nedenin tedavisidir. Hafif ve asemptomatik olgularda diyet değişiklikleri veya altta yatan sebebin düzeltilmesi uygun bir yaklaşım olmakla birlikte, bir çok olguda vitamin B₁₂ uygulanması gerekli olmaktadır. Uygulamanın çocuk dozu hala tam olarak tanımlanamamıştır. Çünkü ciddi anemisi olan yetişkinlerde

tedavinin başlangıcı esnasında hipokalemi gözlenmiştir (153). Ciddi anemisi olan çocuklarda başlangıçta düşük siyanokobalamin dozları (0.2 µg/kg, subkutan, 2 gün), gerekli olduğunda potasyum desteği ve transfüzyon ile aneminin parsiyel olarak düzeltilmesi önerilmektedir. Düşük başlangıç dozlarını 3-7. günlerde 1000 µg/gün ve sonrasında 100 µg/hafta dozunda bir aylık tedavi takip eder. Malabsorbsiyon nedeniyle oluşan vitamin B₁₂ eksikliklerinin uzun süreli tedavisinde, aylık 100 µg idame dozu önerilmektedir (123).

Hastaların büyük bir bölümünde tedaviye klinik ve laboratuvar olarak dramatik yanıt alınmaktadır ancak nörolojik hasar kalıcıdır. Uzun dönem prognoz, eksikliğin süresi ve ciddiyeti ile ilişkili gibi gözükmetedir (128). Bu nedenle erken tanı ve tedavi önemlidir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmaya, Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA) Etik Kurulu'nun 31.01.2006 gün ve 1491-69-2006 sayılı onayı ile başlandı. Nisan 2006 - Aralık 2006 tarihleri arasında GATA Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları polikliniğine iştahsızlık, bulantı, kusma ve karın ağrısı şikayetleri ile başvuran 6–16 yaşları arasındaki 56 olgu alındı. Muayene ve laboratuvar tetkikleri neticesinde HP enfeksiyonu saptanan 30 olgu çalışma grubunu, muayenesinde ve laboratuvar tetkiklerinde bir hastalık tespit edilemeyen 26 olgu ise kontrol grubunu oluşturdu.

Son 1 ay içerisinde antibiyotik, bizmut içeren preparatlar, H₂ reseptör antagonistleri, proton pompa inhibitörü ve vitamin B₁₂ içeren multivitamin preparatları kullananlar çalışmaya dahil edilmedi. Ayrıca, daha önce *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisi alanlar, vejetaryen diyet ile beslenenler, kardiyak, renal, hepatik ve inflamatuvar barsak hastalığı gibi kronik hastalığı olanlar da çalışma dışında tutuldu.

Çalışma öncesinde, hasta ailelerine çalışmanın içeriği ve şekli anlatılarak onayları alındı.

Karın ağrısı, bulantı, kusma ve iştahsızlık gibi şikayetler ile polikliniğimize başvuran hastalara C¹⁴ üre nefes testi yapıldı.

C¹⁴ üre nefes testi yapılacak hastalarda, son 1 ay içerisinde proton pompa inhibitörleri, bizmut içeren bileşikler ve antibiyotiklerin, son 1 hafta içerisinde H₂ reseptör antagonistlerinin ve son 24 saat içerisinde antasitlerin kullanılmamış olması şartı arandı. Her hastaya, en az 6 saatlik açlıktan sonra 37 kBq (1µCi) ¹⁴C-üre-sitrik asit kompozisyonu olan kapsülden (Helicap, Noster System AB Stockholm, Sweden) 25 ml su ile birlikte verildi. Heliprobe metodu ile nefes örnekleri toplandı. Bu metoda göre kapsül alındıktan 10 dakika sonra hastanın nefesi özel kuru kartuş sistemine (Heliprobe BreathCard, Noster System AB Stockholm, Sweden) toplanmaya başlandı. Hastalardan kartuşun indikatörü portakal renginden sarıya dönünceye kadar

kartuşa nefeslerini vermeleri istendi. Nefes kartuşu özel Geiger-Müller sayacına (Heliprobe-analyser, Noster System AB Stockholm, Sweden) yerleştirildi ve 250 saniye süreyle aktivite sayıldı. Sonuçlar "counts per minute" (CPM) olarak derecelendirildi.

Grade 0: infekte değil, negatif, CPM<25

Grade 1: şüpheli, CPM:25-50

Grade 2: infekte, pozitif, CPM>50

Test sonucu Grade 2 olan hastalar *Helicobacter pylori* ile infekte olarak kabul edildi. İnfekte olduğu tespit edilen her hastaya ve kontrol grubuna tam kan sayımı, serum kreatinin, vitamin B₁₂, homosistein, holotranskobalamin ve folat testleri yapıldı.

Homosistein ve holotranskobalamin ölçümleri için, bir gecelik açlık sonrası, antekubital venden, 4.5 ml'lik EDTA'lı tüplere 4.5 ml kan alındı. En geç 30 dakika içerisinde santrifüj edilerek plazma ayrıldı, çalışma bitiminde toplu halde çalışılması için -50 °C'de 9 ay süre ile saklandı. Ölçümlerden önce örneklerde erime ve tekrar donma olmadı. Tam kan sayımı için 4.5 ml'lik EDTA'lı tüpe, folat ve vitamin B₁₂ ölçümü için ise 10 ml'lik düz tüpe 5-6 ml kan alınıp, 2-8 °C ısı şartları sağlanarak ölçümün yapılacağı laboratuvara nakledildi ve aynı gün içerisinde çalışıldı.

Tam kan sayımları Abx pentra 80 (Horiba ABX Diagnostics, Montpellier, France) otomatik kan sayım cihazında yapıldı.

Serum kreatinin düzeyleri Olympus AU-2700 (Olympus Optical Co. Ltd. Mishima, Japan) otoanalizöründe spektrofotometrik yöntemle ölçüldü.

HoloTC ölçümleri 'isotek gamma counter' (Titertek Instruments Inc. Huntsville, AL, USA) cihazında, ticari HoloTC RIA kiti (Axis-Shield Diagnostics, Dundee, Scotland, UK) kullanılarak kompetitif binding radioimmunoassay yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla, hasta plazmasının 400 µL'si, 400 µL 0.1 mol/L fosfat tamponlu serum fizyolojik ile seyreltilti. Örnekler monoklonal anti-transkobalamin antikoru ile kaplı manyetik partiküller ilave edilerek oda sıcaklığında bir saat süreyle karıştırıcı üzerinde

inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında partiküllere bağlı holoTC bir manyetik yüzeyde çöktüldü, üstte kalan kısım atıldı ve çökelti fosfat-tamponlu serum fizyolojik ile yıkandı. Bağlı transkobalaminin ayrılmasını müteakip indirgeyici ajan (reductant), denatüre edici ajan (extractant) ve ⁵⁷Co ile işaretli vitamin B₁₂ (tracer) eklendi. Transkobalaminden salınan vitamin B₁₂ ve tracer, intrinsik faktöre (binder) bağlanmak için yarıştı. Daha sonra bağlanmamış haldeki "tracer" santrifüj yoluyla uzaklaştırıldı. Bağlı halde olan "tracer"ın radyoaktivitesi ölçülerek bununla ters orantılı olan, örnek içindeki transkobalamine bağlı vitamin B₁₂ miktarı belirlenmiş oldu. Transkobalamine bağlı vitamin B₁₂ konsantrasyonu rekombinant holoTC kalibratörlerini kullanarak yapılmış bir doz yanıt eğrisinden enterpole edildi. HoloTC kalibratörleri, rekombinant holoTC stok solüsyonundan gravimetrik olarak hazırlandı. Rekombinant holoTC'nin saflığı Sodyum dodesil sülfat (SDS) elektroforezi ve kobalamin komponenti ile protein komponenti arasındaki orandan spektroskopik olarak sağlandı. HoloTC stok solüsyonunun konsantrasyonu 362 nm'deki absorbansdan ve vitamin B₁₂ ölçümü içinde sağlanarak doğrulandı. HoloTC kontrolleri insan plazmalarından hazırlandı. Tüm örnekler iki defa çalışıldı. HoloTC için 24-157 pmol/L arası değerler referans aralık olarak kullanıldı (35).

Serum folat ve vitamin B₁₂ düzeyi ölçümleri Roche Modüler E170 (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) immünokimya cihazında elektrokemilüminesans yöntemi (ECLIA) ile yapıldı. Kobalamin için 200–835 pg/mL, folat için 5-21 ng/mL arası değerler normal olarak kabul edildi.

Homosistein düzeyi ölçümü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile yapıldı (An HP 1050 series HPLC, Agilent Technologies, CA, USA). Bu yöntem ile total homosistein düzeyi ölçümü, değişik homosistein formlarındaki disülfid bağlarının sodyum borohidrid ile indirgenmesi, monobrombiman ile ayrıştırılması ve ayrışan homosisteinin HPLC cihazında floreskopik okuma ile ölçülmesi prensibine dayanmaktadır. Homosistein için 5-14 µmol/L arasındaki değerler normal olarak kabul edildi.

Başlangıç tetkiklerinin ardından HP enfeksiyonunun tedavisi için,

Çalışmaya alınan her hastaya 1.0 mg/kg/gün dozunda (en fazla 30 mg) lansoprazol tek dozda, 40 mg/kg/gün dozunda amoksisilin 3 eşit dozda ve 20 mg/kg/gün dozunda klaritromisin 2 eşit dozda 14 gün süreyle verildi. 6 hastada tedavi sonrasında semptomların devam etmesi ve C¹⁴ re nefes testinin pozitif olması nedeniyle ikinci bir kr tedavi uygulandı. Bu tedavi sonunda bütün hastaların semptomları düzeldi ve C¹⁴ re nefes testi sonuçları negatifleşti.

Hastalar, tedaviyi tamamladıktan 1 ay sonra kontrole çağrılarak, tedaviye başlamadan önce yapılan tetkikler tekrarlandı.

Tedavi sırasında hiçbir hastada, kullanılan ilaçlara bağlı yan etki tespit edilmedi.

Çalışmanın İstatistiksel analizi için, çalışmaya alınan hastalara ait tüm veriler bilgisayara yüklendikten sonra SPSS 12.0 for Windows (SPSS Inc Co. Chicago, USA) paket programı kullanılarak değerlendirme yapıldı. Verilerin ortalama $\pm$ standart sapma değerleri belirlendi. p değeri <0.05 olan sonuçlar anlamlı kabul edildi. Sonuçların yorumlanmasında “Student t-testi” ve bağımlı grupların karşılaştırmasında parametrik “paired samples test” kullanıldı. Kategorik verilerin karşılaştırmasında Pearson Ki-kare testi kullanıldı.

4. BULGULAR

Bu çalışmada karın ağrısı, bulantı, kusma ve iştahsızlık gibi yakınmalar ile polikliniğimize başvurup, muayene ve tetkikler sonucunda HP enfeksiyonu saptanan 5–16 yaşları arasındaki 30 hasta ile 26 kontrol olgusunun; genel özellikleri, semptomları, tam kan sayımları, serum kreatinin, vitamin B₁₂, folat, plazma holoTC ve homosistein düzeyleri değerlendirildi.

4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Genel Özellikleri

Hasta ve kontrol gruplarının genel özellikleri Tablo 4.1’de görülmektedir.

Tablo 4.1. Hasta ve Kontrol Gruplarının Genel Özellikleri

	Hasta Grubu (n=30)	Kontrol Grubu (n=26)
Cinsiyet		
Kız	17 (%56)	14 (%53)
Erkek	13 (%44)	12 (%47)
Yaş		
Yaş Aralığı	5-16	6-15
Ortalama $\pm$ SS	10.03 $\pm$ 2.79	9.69 $\pm$ 2.51

Hasta ve kontrol grupları arasında yaş ve cinsiyet bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamıştır.

4.2. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrası Semptomları

Hasta grubunda HP eradikasyon tedavisi öncesi ve sonrasında saptanan semptomlar Tablo 4.2’de sunulmuştur.

Tablo 4.2. Hasta grubunda HP Eradikasyon Tedavisi Öncesi ve Sonrasında Saptanan Semptomların Karşılaştırılması

	Tedavi Öncesi (n=30)	Tedavi Sonrası (n=30)	P değeri*
Karın Ağrısı (%)	30 (%100)	3 (%10)	<0.001
Bulantı (%)	14 (%46)	7 (%23)	0.058
Kusma (%)	3 (%10)	1 (%3)	0.309
İştahsızlık (%)	20 (%66)	4 (%13)	<0.001

*Pearson Ki-kare

Hasta grubunun karın ağrısı ve iştahsızlık yakınmaları tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmıştır ($p<0.05$). Bulantı ve kusma yakınmalarının ise istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte azaldığı saptanmıştır.

4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Tam Kan Parametreleri

Hasta ve kontrol gruplarının tam kan parametreleri Tablo 4.3’de görülmektedir.

Tablo 4.3. Hasta ve Kontrol Gruplarının Tam Kan Parametrelerinin Karşılaştırılması

Parametre	Hasta Grubu (n=30)		Kontrol Grubu (n=26)
	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası	
WBC (/mm³)	7303±2157 (4700-14700)	7206±1642 (5000-12200)	6680±2027 (4600-12200)
RBC (x10⁶/mm³)	4.90±0.28 (4.41-5.65)	4.90±0.29 (4.34-5.81)	4.79±0.28 (4.39-5.44)
HGB (g/dL)	13.21±1.05 (11.30-16.30)	13.28±0.74 (11.80-14.80)	13.39±0.81 (11.80-15.10)
HCT (%)	40.53±3.15 (35.20-49.40)	40.38±2.50 (35.80-45.10)	40.14±2.42 (35.40-45.00)
MCV (fL)	82.54±3.94 (76-91)	82.42±3.87 (77-90)	83.80±4.80 (74-90)
MCH (pg)	26.95±1.61 (24.10-29.70)	27.11±1.37 (24.80-29.80)	27.98±1.67 (24.80-31.40)
MCHC (g/dL)	32.63±1.37 (30.30-35.30)	32.90±0.96 (30.80-34.10)	33.36±0.45 (32.20-34.40)
RDW (%)	13.70±1.06 (11.40-16.80)	13.98±1.18 (12.10-17.40)	13.64±1.18 (11.30-15.80)
PLT (x10³/mm³)	325±63 (165-453)	315±58 (172-457)	296±79 (167-483)
MPV (fL)	8.22±1.13 (6.10-10.60)	7.78±0.98 (6.00-11.20)	7.47±0.60 (6.5-9.10)
PDW (fL)	11.90±2.53 (6.50-16.80)	11.50±2.29 (6.30-16.50)	10.93±1.83 (7.80-15.80)

Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası değerleri ile kontrol grubunun değerlerinin karşılaştırılmasında tam kan parametreleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p>0.05$). Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol gruplarında MCV değeri yaşa göre referans aralığının dışında kalan olgu saptanmamıştır.

4.4. Vitamin B₁₂, Homosistein, Folat ve Holotranskobalamin Düzeyleri

Hasta grubunun tedavi öncesi ve sonrası vitamin B₁₂, homosistein, folat ve holoTC düzeyleri Tablo 4.4’de sunulmuştur.

Tablo 4.4. Hasta Grubunun Tedavi Öncesi ve Sonrası Vitamin B₁₂, Homosistein, Folat ve HoloTC Düzeylerinin Karşılaştırılması

Parametre	Tedavi öncesi (n:30)	Tedavi sonrası (n:30)	P değeri*
Vitamin B₁₂ (pg/mL)	422.79±183.23 (135-911)	423.41±191.50 (126-852)	0.977
Homosistein (µmol/L)	10.50±2.82 (6.00-18.20)	10.10±3.11 (5.00-18.20)	0.416
Folat (ng/mL)	10.09±3.57 (6.10-20.00)	10.03±2.45 (5.98-15.27)	0.897
HoloTC (pmol/L)	29.86±27.56 (6.08-149.01)	46.41±36.94 (5.95-174.56)	0.017

*Paired samples test

Hastaların tedavi öncesi ve sonrası vitamin B₁₂, homosistein ve folat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($P>0.05$).

Hasta grubunun tedavi öncesi plazma holoTC düzeyleri 29.86 ± 27.56 pmol/L, tedavi sonrasında ise 46.41 ± 36.94 pmol/L olarak bulunmuştur. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası plazma holoTC düzeyleri karşılaştırıldığında, holoTC'nin tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür ($p=0.017$).

Tedaviden önce hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B₁₂, homosistein, folat ve holoTC düzeyleri Tablo 4.5'de sunulmuştur.

Tablo 4.5. Tedaviden Önce Hasta Grubunun ve Kontrol Grubunun Vitamin B₁₂, Homosistein, Folat ve HoloTC Düzeylerinin Karşılaştırılması

Parametre	Hasta grubu Tedaviden önce (n:30)	Kontrol (n:26)	P değeri*
Vitamin B ₁₂ (pg/mL)	422.79 ± 183.23 (135-911)	478.62 ± 198.22 (179-1017)	0.278
Homosistein (μmol/L)	10.50 ± 2.82 (6.00-18.20)	11.01 ± 3.15 (5.40-18.50)	0.528
Folat (ng/mL)	10.09 ± 3.57 (6.10-20.00)	11.34 ± 3.03 (6.39-16.52)	0.166
HoloTC (pmol/L)	29.86 ± 27.56 (6.08-149.01)	44.28 ± 24.23 (19.60-103.95)	0.044

*Student t test

Tedavi öncesi hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B₁₂, homosistein ve folat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($P>0.05$). Hasta grubunun tedavi öncesi serum vitamin B₁₂ düzeyleri ile kontrol grubunun serum vitamin B₁₂ düzeyleri arasında

istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamakla birlikte düzeylerin hasta grubunda tedavi öncesinde daha düşük olduğu dikkati çekmektedir (OR: 1.78, %95 CI: 397,65 - 499,77).

Plazma holoTC düzeyleri, hasta grubunda tedavi öncesinde 29.86 ± 27.56 pmol/L, kontrol grubunda ise 44.28 ± 24.23 pmol/L olarak bulunmuştur. Hasta grubunun tedavi öncesi plazma holoTC düzeyleri kontrol grubunun plazma holoTC düzeylerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptanmıştır ($p=0.044$) (OR: 5.5, %95 CI: 29,37 – 43,74).

Tedavi sonrasında hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B₁₂, homosistein, folat ve holoTC düzeyleri Tablo 4.6'da sunulmuştur.

Tablo 4.6. Tedavi Sonrasında Hasta Grubunun ve Kontrol Grubunun Vitamin B₁₂, Homosistein, Folat ve HoloTC Düzeylerinin Karşılaştırılması

Parametre	Hasta grubu Tedavi sonrası (n:30)	Kontrol (n:26)	P değeri*
Vitamin B ₁₂ (pg/mL)	423.41 ± 191.5 (126-852)	478.62 ± 198.22 (179-1017)	0.294
Homosistein (μmol/L)	10.10 ± 3.11 (5.00-18.20)	11.01 ± 3.15 (5.40-18.50)	0.284
Folat (ng/mL)	10.03 ± 2.45 (5.98-15.27)	11.34 ± 3.03 (6.39-16.52)	0.079
HoloTC (pmol/L)	46.41 ± 36.94 (5.95-174.56)	44.28 ± 24.23 (19.60-103.95)	0.803

*Student t test

Tedavi sonrasında hasta grubunun ve kontrol grubunun vitamin B₁₂, homosistein folat ve holoTC düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($P>0.05$).

4.5. Hasta ve Kontrol Gruplarının Serum Kreatinin Düzeyleri

Tedavi öncesi, tedavi sonrası ve kontrol gruplarında serum kreatinin düzeyleri normal sınırlar içerisinde saptandı.

5. TARTIŞMA

HP, gastrit, peptik ülser, gastroözefagial reflü, özefagus kanseri, gastrik kanser, lenfoma, demir eksikliği anemisi, pernisiyöz anemi, otoimmün trombositopeni ve gelişme geriliği gibi pek çok hastalıkla ilişkili çok yaygın bir enfeksiyondur. HP'nin serum vitamin B₁₂ düzeyleri üzerine etkisi özellikle erişkinlerde yapılan çalışmalarla bildirilmektedir. Çocuklarda bu konuda çok sınırlı sayıda araştırma yapılmıştır. Bu çalışmada, klinik ve laboratuvar olarak HP enfeksiyonu tanısı almış çocuklarda enfeksiyonun serum vitamin B₁₂ ve plazma holoTC düzeyleri üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık.

İsrail'de yapılan çalışmada Shuval-Sudai ve Granot (105) sağlıklı erişkinlerde HP enfeksiyonu ile vitamin B₁₂ seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmaya katılan 18 ile 90 yaşları arasındaki 133 kişinin %72,2'sinde HP IgG pozitifliği saptanmıştır. HP ile infekte grupta hemoglobin, hematokrit ve folik asit düzeyleri düşük olarak saptanmıştır. Vitamin B₁₂ düzeylerinin HP IgG pozitifliği saptanan grupta normal aralığın alt sınırında olduğu, bunun istatistiksel olarak anlamlı olduğu ve vitamin B₁₂ düzeyleri ile HP enfeksiyonu arasında sebep sonuç ilişkisi olabileceği belirtilmiştir. HP'nin neden olduğu antral gastritin kronik gastrite ilerleyebileceği ve aklorhidrinin yiyeceklerden kobalamin malabsorbsiyonuna neden olabileceği belirtilmiştir.

Kaptan ve ark. (19) vitamin B₁₂ eksikliği saptanan erişkin bir hasta grubunda, sadece HP eradikasyonu ile vitamin B₁₂ düzeylerinde %40 oranında düzelme sağlandığını göstermişlerdir.

Serin ve ark. (154) gastroenteroloji kliniğine dispepsi yakınması ile gelen ancak üst gastrointestinal endoskopide gastrik mukozada ülser, erozyon veya atrofi görülmeyen hastalarla yaptıkları çalışmada, olguların gastrik antrum ve korpuslarından ikişer biyopsi örneğini inceleyerek, Sydney klasifikasyonuna göre gastritli olguları tanımlamışlardır. Bu şekilde 145 hasta çalışmaya dahil edilmiş ve histolojik değerlendirmeye ilaveten serum kobalamin, hemoglobin ve MCV değerleri standart metotlarla ölçülmüştür. Bakterinin eradikasyonundan sonra aynı testler tekrarlanarak vitamin B₁₂

seviyelerinin hastaların yaşı, biyopsilerdeki HP yoğunluğu, inflamasyon derecesi ve nötrofil aktivitesinin seviyesi ile ilişkisi araştırılmıştır. Eradikasyon tedavisi öncesi yapılan istatistiksel analizde serum vitamin B₁₂ düzeyleri ile hemoglobin düzeylerinin doğru, MCV düzeylerinin ters orantılı olduğu, HP yoğunluğu, inflamasyon ve nötrofil aktivitesini içeren histopatolojik skorlamanın serum vitamin B₁₂ seviyesi ile ters orantılı olduğu gösterilmiştir. Tedavi öncesinde sadece HP yoğunluğunun serum vitamin B₁₂ seviyesi ile korelasyonunun anlamlı olduğu gösterilmiştir. Tedavi sonrasında ise hemoglobin ve vitamin B₁₂ seviyelerinde anlamlı artış gösterilmiştir. Yaş ve cinsiyetin serum vitamin B₁₂ seviyesi üzerine herhangi bir etkisi gösterilememiştir. Yaşlı hastalarda atrofik gastrit ve buna bağlı olarak aklorhidrinin yiyeceklerden kobalamin malabsorbsiyonuna yol açtığı iddia edilebilir ancak, bu çalışmada yaş ile serum kobalamin seviyeleri arasında bağlantı bulunmaması, daha başka mekanizmaların bu konuda etken olabileceğini düşündürmektedir. Çünkü çalışmaya alınan hastaların gastrik mukozalarında atrofi minimal veya yok iken vitamin B₁₂ düzeyleri ile HP yoğunluğu, inflamasyon ve nötrofil aktivitesi arasında anlamlı ilişki gösterilmiştir. Bu durum HP'nin kendisinin veya yol açtığı inflamasyonun kobalamin malabsorbsiyonunun nedeni olabileceğini göstermektedir. Yazarlar, azalmış asit seviyelerine gastrin yanıtının azalması sonucu antral glandların kaybı, belirli bazı sitokinlerin pariyetal hücre fonksiyonlarını bloke etmesi ve mide korpusunda glandların kaybolması gibi kombine mekanizmalarla asit sekresyonunun azalmasının bu duruma neden olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Atay ve ark. (21) HP enfeksiyonu saptayarak eradikasyon tedavisi verdikleri çocuk yaş grubundaki 192 hastanın tedavi sonrasında serum vitamin B₁₂ düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptamışlardır. Hasta grubunda tedavi öncesi 13 olgunun (%6.8) kontrol grubunda ise 1 olgunun (%2.5) serum vitamin B₁₂ düzeyi 200 pg/mL'nin altında saptandığını bildirmişlerdir. Vitamin B₁₂ eksikliği saptanan hastaların, serum vitamin B₁₂ düzeylerinin vitamin B₁₂ tedavisi verilmeksizin sadece HP eradikasyon tedavisi ile normal düzeylere yükselmiştir. Bu çalışma ile HP enfeksiyonunun

yetişkinlerde olduğu gibi çocuklarda da vitamin B₁₂ eksikliğine neden olabileceği gösterilmiştir.

Akçam ve ark. (22) HP ile enfekte çocuklarda serum vitamin B₁₂, folat, ferritin ve çinko düzeylerini araştırmışlardır. Çocuklarda HP tanısında histopatolojik inceleme ve hızlı üreaz testinin kombinasyonunu kullanan bu ilk çalışmanın sonucunda; gastrik atrofiden bağımsız olarak, HP enfeksiyonu ile serum vitamin B₁₂ seviyeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmuştur. Bu çalışma gastrik atrofi olmaksızın, sadece akut gastritin yol açtığı aklorhidrinin vitamin malabsorbsiyonuna neden olduğunu düşündürmektedir.

Çalışmamızda, yetişkinlerde saptananın aksine gruplar arasında vitamin B₁₂ düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. Ancak HP ile enfekte çocukların serum vitamin B₁₂ düzeylerinin kontrol grubunun serum vitamin B₁₂ düzeylerinden istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte daha düşük olduğu dikkati çekmektedir. Bu bulgu, yaşın ilerlemesiyle birlikte eksikliğin daha belirgin bir hale geldiğini ve eksikliğin daha küçük yaşlarda oluşmaya başladığını düşündürmektedir. HP ile enfekte çocukların tedavi sonrasında ortalama serum vitamin B₁₂ seviyelerinde bir değişiklik olmamıştır. Tedavi sonrasında absorpsiyonun düzelmesi ile birlikte öncelikle doku seviyesinde eksikliğin giderilecek olması bu durumun nedeni olabilir. Tedavi sonrası daha uzun dönemde serum seviyelerinde bir artış gözlenebilir (120). Hastalarımızın tedavi sonrası ortalama serum vitamin B₁₂ seviyelerinin, bu nedenle hemen yükselmediğini düşünmekteyiz.

Serum vitamin B₁₂ ölçümünün eksikliği saptamada spesifitesi ve sensitivitesi düşüktür. Vitamin B₁₂ eksikliği bulguları olan hastaların önemli bir kısmında serum vitamin B₁₂ değerleri normal olarak bulunmuştur (23,155). Yine vitamin B₁₂ düzeyi düşük olarak saptanan hastaların %50'sinde eksikliğe dair başka bir semptom ve muayene bulgusu gösterilememiştir (155,156).

Bu nedenlerle vitamin B₁₂'nin metabolitlerinin ölçümü gündeme gelmiştir. Bunlar MMA ve homosisteindir. Homosisteinin methionin'e

remetilasyonu folat ve vitamin B₁₂ gerektirir. Bu nedenle vitamin B₁₂ veya folat eksikliği homosistein düzeylerinde artışa yol açar. Homosistein'in artmış plazma konsantrasyonları fonksiyonel intrasellüler vitamin B₁₂ ve folat eksikliğini belirteci olarak kullanılabilir (157). Stabler ve ark. (158) homosistein düzeylerindeki yükselmenin vitamin B₁₂ eksikliği tanısında çok sensitif ve spesifik olduğunu göstermiştir. Artmış homosistein konsantrasyonlarının folat veya vitamin B₁₂ eksikliğinden kaynaklanmış olabileceğini, bu ikisinin ayrımında ise MMA veya vitamin düzeylerinin ölçümünün kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Savage ve ark. (151) ise MMA ve homosistein'in her ikisinin de normal olduğu bireylerde klinik olarak anlamlı bir kobalamin eksikliğinden söz edilemeyeceğini bildirmişlerdir.

Çalışmamızda vitamin B₁₂ eksikliğinin saptanmasında homosistein düzeylerinden faydalanılmıştır. Böbrek fonksiyon bozukluğundan kaynaklanabilecek homosistein yüksekliğinin sonuçlarımızı etkilememesi için tüm hastaların ve kontrol grubunun serum kreatinin düzeylerine bakılarak renal fonksiyonlarında bozukluk olmadığı gösterilmiştir. Çalışmamızda homosistein düzeyleri açısından üç grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. HP eradikasyon tedavisi ortalama homosistein düzeylerinde azalmaya yol açmamıştır.

Folat eksikliği nedeniyle oluşabilecek homosistein yüksekliğini dışlamak amacı ile tüm olguların folat düzeyleri kontrol edilmiş ve eksiklik saptanmamıştır. Ayrıca, tedavi öncesi ve sonrası ile kontrol gruplarının folat düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmamış olması, HP enfeksiyonunun folat eksikliğe neden olmadığını düşündürmektedir.

Çocuklarda vitamin B₁₂ eksikliğinin genellikle subklinik seyretmesi ve serum vitamin B₁₂ düzeylerinin erken dönemde etkilenmemesi nedeniyle, oluşabilecek eksikliği saptayabilmek amacıyla bu çalışmada serum vitamin B₁₂ ve plazma homosistein düzeylerinin yanı sıra yeni bir metotla plazma holoTC ölçümünden faydalanılmıştır.

Hvas ve Nexo (36) vitamin B₁₂ eksikliğinin erken tanısı için bu yeni metodla plazma holoTC ölçümünün performansını değerlendirdikleri çalışmalarında, plazma holoTC ölçümünün sensitivitesinin ve spesifitesinin

serum vitamin B₁₂ ölçümüne göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. HoloTC ölçümünün serum vitamin B₁₂, homosistein ve MMA gibi vitamin B₁₂ metabolit ölçümlerinin yerini alarak eksikliği saptamada ilk tercih olarak kullanılabileceğini ancak bunun için öncelikle yaş ve cinsiyete göre referans aralıkların çok iyi belirlenmesine ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir. Aynı şekilde Türk toplumunda ve çocuk yaş grubunda da referans aralıkların belirlenmesi gerekmektedir.

Vitamin B₁₂ eksikliği prevalansının yüksek olduğu Guatemala'da, vitamin B₁₂ eksikliği saptanan 556 çocuk üzerinde yapılan çalışmada; vitamin B₁₂ eksikliği prevalansı ile HP enfeksiyonu prevalansı arasında anlamlı bir ilişki gösterilememiştir. Plazma vitamin B₁₂ konsantrasyonu düşük (<162 pmol/L), sınırda (162-221 pmol/L) ve dengeli (>221 pmol/L) olarak saptanan 60'ar çocukta serum MMA, plazma homosistein, plazma holoTC konsantrasyonları ölçülmüştür. Plazma vitamin B₁₂ düzeyleri ile plazma holoTC düzeylerinin güçlü korelasyon gösterdiği, plazma holoTC düzeyleri ile serum metil malonik asit ve plazma homosistein düzeyleri arasında da güçlü negatif korelasyon olduğu, ancak plazma vitamin B₁₂ düzeyleri ile serum MMA ve plazma homosistein düzeyleri arasındaki korelasyonun çok güçlü olmadığı saptanmıştır. Vitamin B₁₂ alımındaki yetersizlik, bakteriyel aşırı çoğalma ve HP enfeksiyonu eksikliğe yol açabilecek olası risk faktörleri olarak düşünülerek üç grup arasında karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak HP enfeksiyonu ve bakteriyel aşırı çoğalma açısından 3 grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamış iken, B₁₂ vitamininden fakir diyetle beslenmenin vitamin B₁₂ eksikliği gelişiminde risk faktörü olabileceği gösterilmiştir (20). Ancak Guatemala'da yapılan çalışmada, HP tanısında sadece üre nefes testinin kullanıldığı dikkati çekmektedir. Bizim çalışmamıza ise HP enfeksiyonunu düşündüren karın ağrısı, iştahsızlık, bulantı ve kusma gibi dispeptik yakınmalarla gelen ve üre nefes testi ile tanısı konulan hastalar dahil edilmiştir. Burada elde edilen sonuçlar tek başına HP serolojisinin değil, HP'nin ortaya çıkardığı akut gastrit gibi klinik durumların eksikliğin oluşumunda önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda eradikasyon tedavisi sonrası plazma holoTC düzeylerinde gözlenen istatistiksel olarak anlamlı artış ve hasta grubunda tedavi öncesi plazma holoTC düzeyinin kontrol grubuna göre daha düşük saptanması HP'nin vitamin B₁₂ malabsorbsiyonuna yol açabileceğini ve eksikliğin saptanmasında holoTC düzeylerinin daha erken dönemde bilgi verebileceğini göstermektedir. Bu bulgu aynı zamanda, HP enfeksiyonunun vitamin B₁₂ eksikliğine yol açtığı yönündeki düşüncemizi desteklemektedir. Çalışmamızda HP ile enfekte çocuklar ile kontrol grubu karşılaştırıldığında, HP enfeksiyonlu çocuklarda holoTC düşüklüğünün ortaya çıkma riskinin kontrol grubuna göre 5.5 kat fazla (OR:5.5, %95CI: 29.37-43.74) olduğu görülmektedir.

Karnes (159) ve Varis (160), HP ile enfekte atrofik gastritlilerde, pernisiyöz anemiye yol açan irreversibl sürecin başlangıcında HP'nin yer aldığını göstermişlerdir. HP prevalansı yüksek olan Japonya'da yapılan bir çalışmada ise HP enfeksiyonlularda pernisiyöz aneminin daha az sıklıkta görüldüğü saptanmıştır (161). Fine ve Soria (146) ise vitamin B₁₂ eksikliğinin tanısı için anormal hemoglobin, hematokrit veya MCV'nin kullanılmasının olguların %30'unu yakalayamadığını göstermişlerdir.

Bizim çalışmamızda da vitamin B₁₂ düzeyi düşük olarak saptanan olgular dahil hiçbir olgunun MCV değeri yaşa göre referans aralığının dışında değildi. Bu bulgu değerlendirme amacıyla tek başına MCV'nin kullanılmasına kuşkuyla yaklaşmamız gerektiğini göstermektedir. Çalışmamızda HP enfeksiyonu ile hematolojik parametreler arasında da anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Bu durum, enfeksiyona sekonder olarak gelişen holoTC düşüklüğünün henüz hematolojik parametrelere yansiyacak kadar uzun süre geçmeden tanı alıp tedavi edilmesi ile açıklanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışma ile HP enfeksiyonunun çocuklarda vitamin B₁₂ düzeylerinde düşüklüğe neden olduğu ve bu düşüklüğün HP eradikasyon tedavisi ile düzelebileceği, vitamin B₁₂'nin metabolik olarak aktif formu olan holoTC aracılığı ile gösterilmiştir. Plazma holoTC düzeylerindeki bu düşüklük HP'nin akut gastrite neden olarak vitamin B₁₂ absorpsiyonunu bozması ile açıklanabilir.

2. Vitamin B₁₂ eksikliğinin saptanmasında güncel olarak kullanılan elektrokemiluminesans tekniğinin saptayamadığı anormallikleri plazma holoTC ölçümünün gösterebildiği saptanmıştır.

3. Gizli vitamin B₁₂ eksikliğinin kalıcı nörolojik hastalıklara neden olabileceği düşünüldüğünde, eksikliğin erken dönemde tespiti önem kazanmaktadır. Bu amaçla erken tanıda holoTC ölçümünden faydalanılabilir.

4. Çocukluk çağında HP enfeksiyonu ve vitamin B₁₂ düzeyleri arasındaki ilişkinin ortaya konması için daha kapsamlı ve uzun dönem takipli çalışmaların yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Blaser, M.: The bacteria behind the ulcers. *Sci. Am.*, 274:92-7, 1996.
2. Logan, R., Hirschl, A.: Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Curr. Opin. Gastroenterol*, 12:1-5, 1996.
3. Williams, C.: *Helicobacter pylori*: a microbiologist's view. *Hosp. Med.*, 64:539-42, 2003.
4. Gibbons, A.: *Helicobacter pylori*: a clinician's view. *Hosp. Med.*, 64:535-8, 2003.
5. Dunn, B., Cohen, H., Blaser, M.: *Helicobacter pylori*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 10:720-41, 1997.
6. Frenck, R., Clemens, J.: *Helicobacter* in the developing world. *Microbes Infect.*, 5:705-13, 2003.
7. Raymond, J., Bergeret, M., Benhamou, P.H., Mensah, K., Dupont, C.: A two-year of *H.pylori* infection in children. *J. Clin. Microbiol.*, 32:461-3, 1994.
8. Dale, A., Thomas, J.E., Darboe, M.K., Coward, W.A., Harding, M., Weaver, L.T.: *Helicobacter pylori* infection, gastric acid secretion and infant growth. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 26:393-7, 1998.
9. Doglioni, C., De Boni, M., Cielo, R., Laurino, L., Pelosio, P., Braidotti, P., Viale, G.: Gastric giardiasis. *J. Clin. Pathol.*, 64:964-7, 1992.
10. Sanad, MM., Darwish, RA., Nasr, ME., el-Gammal, NE., Emara, MW.: *Giardia lamblia* and chronic gastritis. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, 26:481-95, 1996.
11. Skikne, B., Lynch, S., Cook, J.: Role of gastric acid in food iron absorbtion. *Gastroenterology*, 81:1068-71, 1981.

12. McColl, K.: *Helicobacter pylori* and acid secretion: where are we now? *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 9:333-5, 1997.
13. El-Omar, E., Oien, K., El-Nujumi, A., Wirz, A., Gillen, D., Williams, C., Fullarton, G., Mc Coll, K.E.: *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology*, 113:15-24, 1997.
14. Javed, Y., Wasim, J., Shahab, A.: *Helicobacter pylori* infection and micronutrient deficiencies. *World J. Gastroenterol.*, 9:2137-9, 2003.
15. Ruiz, B., Rood, J.C., Fontham, E.T.H., Malcom, G.T., Hunter, F.M., Sobhan, M., Johnson, W.D., Correa, P.: Vitamin C concentration in gastric juice before and after anti-*Helicobacter pylori* treatment. *Am. J. Gastroenterol.*, 89:533-539, 1994.
16. Stopeck, A.: Links between *Helicobacter pylori* infection, cobalamin deficiency, and pernicious anemia. *Arch. Intern. Med.*, 160:1229-30, 2000.
17. Kurekci, A.E., Atay, A.A., Sarici, S.U., Yesilkaya, E., Senses, Z., Okutan, V., Ozcan, O.: Is there a relationship between childhood *helicobacter pylori* infection and iron deficiency anemia? *Journal of Tropical Pediatrics*, 51(3):166-9, 2005.
18. Annibale, B., Capurso, G., Delle Fave, G.: Consequences of *helicobacter pylori* infection on the absorption of micronutrients. *Digest. Liver Dis.*, 34(suppl.):72-7, 2002.
19. Kaptan, K., Beyan, C., Ural, A.U, Cetin, T., Avcu, F., Gulsen, M., Finci, R., Yalcin, A.: *Helicobacter pylori*: is it a novel causative agent in vitamin B12 deficiency? *Arch. Intern. Med.*, 160:1349-53, 2000.
20. Rogers, L.M., Boy, E., Miller, J.W., Green, R., Sabel, J.C., Allen, L.H.: Predictors of Cobalamin Deficiency in Guatemalan School

- Children: Diet, *Helicobacter pylori*, or Bacterial Overgrowth? *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 36:27-36, 2003.
21. Atay, A.A., Kurekci, A.E., Kesik, V., Ozcan, O., Gokcay, E.: *Helicobacter Pylori* enfeksiyonlu çocuklarda vitamin B12 düzeyleri. *Gülhane Tıp Dergisi*, 47:123-6, 2005.
 22. Akcam, M., Ozdem, S., Yilmaz, A., Gultekin, M., Artan, R.: Serum ferritin, vitamin B12, folate, and zinc levels in children infected with *Helicobacter pylori*. *Dig. Dis. Sci.*, 52:405-410, 2007.
 23. Lindenbaum, J., Savage, D.G., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Diagnosis of cobalamin deficiency: II. Relative sensitivities of serum cobalamin, methylmalonic acid, and total homocysteine concentrations. *Am. J. Hematol.*, 34:99-107, 1990.
 24. England, J.M., Linnell, J.C.: Problems with the serum vitamin B12 assay. *Lancet*, 2:1072-3, 1980.
 25. Herbert, V., Colman, N., Palat, D., Manusselia, C., Drivas, G., Block, E., Akerkar, A., Weaver, D., Frenkel, E.: Is there a “gold standard” for human serum vitamin B12 assay? *J. Lab. Clin. Med.*, 104:829-41, 1984.
 26. Schilling, R.F.: Who has vitamin B12 deficiency? *Proceedings of the Association of american Physicians*, 108:68-70, 1996.
 27. Carmel, R.: Current concepts in cobalamin deficiency. *Annu. Rev. Med.*, 51:357-75, 2000.
 28. Hvas, A.M., Ellegaard, J., Nexø, E.: Vitamin B-12 treatment normalizes metabolic markers but has limited clinical effect: a randomized placebo-controlled study. *Clin. Chem.*, 47:1396-404, 2001.
 29. Rasmussen, K., Vyberg, B., Pedersen, K.O., Brochner-Mortensen, J.: Methylmalonic acid in renal insufficiency: evidence of accumulation and implications for diagnosis of cobalamin deficiency. *Clin. Chem.*, 36:1523-4, 1990.

30. Hvas, A.M., Juul, S., Gerdes, L.U., Nexø, E.: The marker of cobalamin deficiency, plasma methylmalonic acid, correlates to plasma creatinine. *J. Intern. Med.*, 247:507-12, 2000.
31. Hultberg, B., Anderson, A., Sterner, G.: Plasma homocysteine in renal failure. *Clin. Nephrol.*, 40:230-5, 1993.
32. Joosten, E., van den Berg, A., Riezler, R., Naurath, H.J., Lindenbaum, J., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate, and vitamin B-6 occur commonly in elderly people. *Am. J. Clin. Nutr.* 58:468-76, 1993.
33. Herzlich, B., Herbert, V.: Depletion of serum holotranscobalamin II. An early sign of negative vitamin B12 balance. *Lab. Invest.*, 58:332-7, 1988.
34. Herbert, V., Fong, W., Gulle, V., Stopler, T.: Low holotranscobalamin II is the earliest serum marker for subnormal vitamin B12 (cobalamin) absorption in patients with AIDS. *Am. J. Hematol.*, 34:132-9, 1990.
35. Ulléland, M., Eilertsen, I., Quadros, E.V.: Direct assay for cobalamin bound to transcobalamin (holotranscobalamin) in serum. *Clin. Chem.*, 48:407-9, 2002.
36. Hvas, A.M., Nexø, E.: Holotranscobalamin – a first choice assay for diagnosing early vitamin B12 deficiency? *J. Intern. Med.*, 257:289-98, 2005.
37. Krientz, W., Über das Auftreten von spirochäten verschiedener Form im Mageninhalt bei Carcinoma Ventriculi. *Dtsch. Med. Wochenschr.*, 28:872, 1906.
38. Doenges, J.L.: Spirochaetes in Gastric Glands of Macacus Rhesus and Humans without Definite History of Related Disease. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 38:536-538, 1938.

39. Freedberg, A.S., Barron, L.E.: The Presence of Spirochetes in Human Gastric Mucosa. *Am. J. Dig. Dis.*, 7:443-445, 1940.
40. Warren, J.R.: Spiral bacteria of the gastric antrum. *Med. J. Aust.*, 141(7):477-8, 1984.
41. Marshall, B.J., Armstrong, J.A., McGeachie, D.B., Glancy, R.J.: Attempt to Fulfill Koch's Postulates for Pyloric *Campylobacter*. *Med. J. Aust.*, 142:436-439, 1985.
42. Marshall, B., Warren, J.R.: Unidentified Curved Bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1(8390):1311-5, 1984.
43. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A.: Microbiological Aspects of *Helicobacter Pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 9:1-13, 1990.
44. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement. *H.Pylori in Peptic Ulcer Disease*, 12:1-23, 1994.
45. Malferteiner, P., Megraud, F., O'Morian, C.: Current European Concepts in The Management of *Helicobacter Pylori* Infection—The Maastricht Concensus Report. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 9:1-2, 1997.
46. Zetterstrom, R.: The Nobel Prize in 2005 for the discovery of *Helicobacter pylori*: implications for child health. *Acta Paediatr.*, 95:3-5, 2006.
47. Chelimsky, G., Czinn, S.: Peptic Ulser Disease in Children. *Pediatrics in Rewiew*, 22:349-354, 2001.
48. Marshall, B.: *Helicobacter Pylori*: Past, Present and Future. *Keio J. Med.*, 52:80-85, 2003.
49. Özden, A.: *Helicobacter Pylori* Epidemiyolojisi. İşte *Helicobacter Pylori*, Gastrit, Peptik Ülser. Ankara, Nurol Matbaacılık: 18-26, 1994.

50. Graham, K.S., Graham, D.Y.: Contemporary Diagnosis and Management of H.pylori-associated Gastrointestinal Diseases. Handbooks in Health Care Co., Newtown, Pennsylvania, U.S.A., 5-8, 2001.
51. Ozden, A.: Midenizdeki yabancı: Helicobacter pylori. Türk Gastroenteroloji Vakfı, 26-29, 2003.
52. Queiroz, D.M.M., Luzzza, F.: Epidemiology of Helicobacter pylori infection. Helicobacter, 11(Suppl.1):1-5, 2006.
53. Go, M.F.: Review Article: Natural History and Epidemiology of Helicobacter Pylori Infection. Aliment. Pharmacol. Ther., 16:3-15, 2002.
54. Pellicano, R.: Helicobacter Pylori Infection in Pediatrics. Present Knowledge and Practical Problems. Minerva Pediatr., 52:29-45, 2000.
55. Aydınöz, S., Bahar, A., Göçmen, İ., Karademir, F., Mete, Z.: Asemptomatik Çocuklarda Helicobacter Pylori Seroprevalansı. T. Klin. Pediatri, 10:89-92, 2001.
56. Kivi, M., Johansson, A.L.V., Reilly, M., Tindberg, Y.: Helicobacter pylori status in family members as risk factors for infection in children. Epidemiol. Infect., 133:645-52, 2005.
57. Aguemon, B.D., Struelens, M.J., Massougboji, A., Ouendo, E.M.: Prevalence and risk factors for Helicobacter pylori infection in urban and rural Beninese populations. Clin. Microbiol. Infect., 11:611-7, 2005.
58. Konno, M., Fujii, N., Yokota, S., Takahashi, M., Sato, K., Mino, E., Sugiyama, T.: Five-year follow-up study of mother-to-child transmission of helicobacter pylori infection detected by a random amplified polymorphic DNA fingerprinting method. J.Clin. Microbiol., 43:2246-50, 2005.

59. Bures, J., Kopacova, M., Koupil, I., Vorisek, V., Rejchrt, S., Beranek, M., Seifert, B., Pozler, O., Zivny, P., Pouda, T., Kolesarova, M., Pinter, M., Palicka, P., Holcik, J.: Epidemiology of *Helicobacter pylori* in the Czech Republic. *Helicobacter*, 11:56-65, 2006.
60. Brown, L.M., Thomas, T.L., Ma, J.L., Chang, Y.S., You, W.C., Liu, W.D., Zhang, L., Pee, D., Gail, M.H.: *Helicobacter Pylori* Infection in Rural China: Demographic, Lifestyle and Environmental Factors. *Int. J. Epidemiol.*, 31:638-645, 2002.
61. Feldman, R.A., Eccersley, A.J.P., Hardie, J.M.: Epidemiology of *Helicobacter Pylori*: Acquisitions, Transmission, Population Prevalence and Disease-to-infection Ratio. *Br. Med. Bull.*, 54:39-53, 1998.
62. Sherman, P.M., Macarthur, C.: Current Controversies Associated with *Helicobacter Pylori* Infection in the Pediatric Population. *Front. Biosci.*, 6:187-92, 2001.
63. Vaira, D., Hotlon, J., Menegatti, M., Gatta, L., Ricci, C., Ali, A.: Routes of Transmission of *Helicobacter Pylori* Infection. *Ital. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 30:279-285, 1998.
64. Okutan, V., Kul, M., Sarıcı, S.Ü., Erdil, A., Akın, R., Gökçay, E.: Tekrarlayan Karın Ağrılı Olgularda *Helicobacter Pylori* Varlığının Saptanmasında C¹⁴ Üre Nefes Testi ile Histopatolojik İncelemenin Karşılaştırılması. *T. Klin. Pediatri.*, 9:164-70, 2000.
65. Baccaglini, L., Schoenbach, V.J., Poole, C., McKaig, R.G., Ibrahim, J., Baric, R.S., Wiesen, C.: Association between herpes simplex virus type 1 and *Helicobacter pylori* in US adolescents. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.*, 101:63-9, 2006.
66. Zhou, H., Chan, K.L., Chu, K.M.: Intrafamilial Spread of *Helicobacter Pylori*. *J. Pediatr. Surg.*, 35:1672-1675, 2000.

67. Siavoshi, F., Salmanian, A.H., Akbari, F., Malekzadeh, R., Massarrat, S.: Detection of *Helicobacter pylori* specific genes in the oral yeast. *Helicobacter*, 10:318-22, 2005.
68. Klein, P.D., Graham, D.Y., Gaillour, A., Opekum, A.R., Smith, E.O.: Water Source as Risk Factor for *Helicobacter Pylori* Infection in Peruvian Children. Gastrointestinal Physiology Working Group. *Lancet*, 337:1503-1506, 1991.
69. Peek, R.M. Jr.: Pathogenesis of *Helicobacter Pylori* Infection. *Springer Semin. Immunopathol*, 27(2):197-215, 2005.
70. Terry, K., Williams, S.M., Connolly, L., Ottemann, K.M.: Chemotaxis plays multiple roles during *Helicobacter pylori* animal infection. *Infect. Immun.*, 73:1820-7, 2005.
71. Fowler, M., Thomas, R.J., Atherton, J., Robets, I.S., High, N.J.: Galectin-3 binds to *Helicobacter pylori* O-antigen: it is upregulated and rapidly secreted by gastric epithelial cells in response to *H.pylori* adhesion. *Cell Microbiol.*, 8:44-54, 2006.
72. Panchal, P.C., Forman, J.S., Blumberg, D.R., Wilson, K.T.: *Helicobacter Pylori* Infection: Pathogenesis. *Curr. Opin. Gastroenterol.* 19:4-10, 2003.
73. Boughan, P.K., Argent, R.H., Body-Malapel, M.: Nucleotide-binding oligomerization domain-1 and epidermal growth factor receptor: critical regulators of beta-defensins during *Helicobacter pylori* infection. *J. Biol. Chem.*, 281:11637-48, 2006.
74. Kawai, T., Akira, S.: Pathogen recognition with Toll-like receptors. *Curr. Opin. Immunol.*, 17:338-44, 2005.
75. Kelly, D., Conway, S.: Bacterial modulation of mucosal innate immunity. *Mol. Immunol.*, 42:895-901, 2005.
76. Censini, S., Lange, C., Xiang, Z., Crabtree, J.E., Ghiara, P., Borodovsky, M., Rappuoli, R., Covacci, A.: Cag A Pathogenicity Island of *Helicobacter Pylori*, Encodes Type-I Specific and

- Disease-associated Virulence Factors. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93:14648-14653, 1996.
77. Weeks, D.L., Eskandari, S., Scott, D.R., Sachs, G. A H-gated Urea Channel: The Link Between *Helicobacter Pylori* Urease and Gastric Colonisation. Science, 287:482-485, 2000.
 78. Chmiela, M., Michetti, P.: Inflammation, immunity, vaccines for *Helicobacter* infection. *Helicobacter*, 11(Suppl. 1):21-26, 2006.
 79. Rothenbacher, D., Winkler, M., Gonser, T., Adler, G., Brenner, H.: Role of infected parents in transmission of *Helicobacter pylori* to their children. *Pediatr. Infect. Dis. J.*, 21:674-9, 2002.
 80. Weyerman, M., Adler, G., Brenner, H., Rothenbacher, D.: The mother as source of *Helicobacter Pylori* infection. *Epidemiology*, 17:1-3, 2006.
 81. Ashorn, M., Ruuska, T., Maki-pernaa, A.: *Helicobacter Pylori* and Iron Deficiency Anaemia in Children. *Scand. J. Gastroenterol.*, 7:701-705, 2001.
 82. Bini, E.J.: *Helicobacter Pylori* and Iron Deficiency Anemia: Guilty as Charged? *Am. J. Med.*, 111:495-7, 2001.
 83. Gottrand, F., Kalach, N., Spyckerelle, C., Guimber, D., Mougenot, J.F., Tounian, P., Lenaerts, C., Roquelaure, B., Lachaux, A., Morali, A., Dupont, C., Maurage, C., Husson, MO., Barthelemy, P.: Omeprazole Combined with Amoxicillin and Clarithromycin in the Eradication of *Helicobacter Pylori* in Children with Gastritis: A Prospective Randomized Double-blind Trial. *J. Pediatr.*, 139:664-668, 2001.
 84. Integlia, M.J., Krishnamurthy, S., Berhane, R., Grand, R.J., Dayal, Y.: Pancreatic Metaplasia of the Gastric Mucosa in Pediatric Patients. *Am. J. Gastroenterol.*, 92:1553-1556, 1997.
 85. Marignani, M., Angeletti, S., Bordi, C., Malagnino, F., Mancino, C., Delle Fave, G., Annibale, B.: Reversal of Long-standing Iron

Deficiency Anemia After Eradication of *Helicobacter Pylori* Infection. *Scand. J. Gastroenterol.*, 32:617-22,1997.

86. Perez-Perez, G.I., Israel, D.A.: Role of Iron in *Helicobacter Pylori*: Its Influence in Outer Membrane Protein Expression and in Pathogenicity. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 12:1263-1265, 2000.
87. Nowicki, M.J., Coyle, W.J.: Severe Iron Deficiency Anemia and Asymptomatic Nodular Gastroduodenitis: An Uncommon Presentation of *Helicobacter Pylori* Infection in a Child. *Clin. Pediatr.*, 40:111-114, 2001.
88. Talley, N.J., Vakil, N.B., Moayyedi, P.: American Gastroenterological Association Medical position statement: evaluation of dyspepsia. *Gastroenterology*, 19:425-7, 2005.
89. Choe, Y.H., Hwang, T.S., Kim, H.J., Shin, S.H., Song, S.U., Choi, M.S. : A Possible Relation of the *Helicobacter Pylori* Pfr Gene to Iron Deficiency Anemia. *Helicobacter*, 6:55-59, 2001.
90. Palli, D., Saieva, C., Luzzi, I.: Interleukin 1 gene polymorphisms and gastric cancer risk in a high-risk Italian population. *Am. J. Gastroenterol.*, 100:1941-8, 2005.
91. Sicinschi, L.A., Lopez-Carrillo, L., Camargo, M.C., Correa, P., Sierra, R.A., Henry, R.R., Zabaleta, J., Piazuelo, M.B., Schneider, B.G.: Gastric cancer risk in a Mexican population: role of *Helicobacter pylori* CagA-positive infection and polymorphisms in interleukin 1 and 10 genes. *Int. J. Cancer*, 118:649-57, 2006.
92. Zang, W.H., Wang, X.L., Zhou, J., An, L.Z., Xie, X.D.: Association of interleukin 1B (IL-1B) gene polymorphisms with risk of gastric cancer in Chinese population. *Cytokine*, 30:378-81, 2005.
93. Gupta, S., Camm, J.: *Chronic Infection, Chlamydia and Coronary Heart Disease*. Kluwer Academic Publishers, London, U.K.:

Associations Between Infective Microorganism and Atherosclerosis, Chapter 2, s:23-43, 1999.

94. Pasceri, V., Cammarota, G., Patti, G., Cuoco, L., Gasbarrini, A., Grillo, R., Fedeli, G., Gasbarrini, G., Maseri, A. Association of Virulent *Helicobacter Pylori* Strains with Ischemic Heart Disease. *Circulation*, 97:1675-1679, 1998.
95. Farsak, B., Yıldırım, A., Akyön, Y., Pınar, A., Öç, M., Erkmen, B., Kes, S., Tokgözoğlu, L.: Detection of *Chlamydia Pneumoniae* and *Helicobacter Pylori* DNA in Human Atherosclerotic Plaques by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, 38:4408-4411, 2000.
96. Ameriso, S.F., Fridman, A.F., Leiguarda, R.C., Sevrer, G.E.: Detection of *Helicobacter Pylori* in Human Carotid Atherosclerotic Plaques. *Stroke*, 32:385-391, 2001.
97. Suzuki, T., Matsushima, M., Masui, A., Watanabe, K., Takagi, A., Ogawa, Y., Shirai, T., Mine, T.: Effect of *Helicobacter pylori* eradication in patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura-a randomized controlled trial. *Am. J. Gastroenterol.*, 100:1265-70, 2005.
98. Kurekci, A.E., Atay, A.A., Sarici, S.U., Özcan, O.: Complete platelet recovery after treatment of *Helicobacter pylori* infection in a child with chronic immune thrombocytopenic purpura: a case report. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 22(5):437, 2005.
99. Emilia, G., Longo, G., Luppi, M., Gandini, G., Morselli, M., Ferrara, L., Amarri, S., Cagossi, K., Torelli, G.: *Helicobacter Pylori* Eradication Can Induce Platelet Recovery in Idiopathic Thrombocytopenic Purpura. *Blood*, 97:812-814, 2001.
100. Annibale, B., Capurso, G., Martino, G., Grossi, C., Delle Fave, G.: Iron Deficiency Anemia and *Helicobacter Pylori* Infection. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 16:515-519, 2000.

101. Annibale, B., Capurso, G., Chistolini, A., D'Ambra, G., DiGiulio, E., Monarca, B., Dellefave, G.: Gastrointestinal Causes of Refractory Iron Deficiency Anemia in Patients without Gastrointestinal Symptoms. *Am. J. Med.*, 111:439-445, 2001.
102. Annibale, B., Marignani, M., Monarca, B., Antonelli, G., Marcheggiano, A., Martino, G., Mandelli, F., Caprilli, R., Delle Fave, G.: Reversal of Iron Deficiency Anemia after *Helicobacter Pylori* Eradication in Patient with Asymptomatic Gastritis. *Ann. Intern. Med.*, 131:668-672, 1999.
103. Del Corral, A., Carmel, R.: Transfer of cobalamin from the cobalamin-binding protein of egg-yolk binder of human saliva and gastric juice. *Gastroenterology*, 98:1460-1466, 1990.
104. Appelmelk, B.J., Simoons-Smit, I., Negrini, R.: Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. *Infect. Immun.*, 64:2031-2040, 1996.
105. Shuval-Sudai, O., Granot, E.: An association between *Helicobacter pylori* infection and serum vitamin B12 levels in healthy adults. *J. Clin. Gastroenterol.*, 36(2):130-133, 2003.
106. Gumurdulu, Y., Serin, E., Ozer, B., Kayaselcuk, F., Kul, K., Pata, C., Guclu, M., Gur, G., Boyacioglu, S.: Predictors of vitamin B12 deficiency: Age and *helicobacter pylori* load of antral mucosa. *Turk. J. Gastroenterol.*, 14(1):44-49, 2003.
107. Braden, B., Caspary, W.F.: Detection of *Helicobacter Pylori* Infection. *Ann. Med.*, 33:91-97, 2001.
108. Yanez, P., Garza, A.M., Cabrera, L.: Comparison of Invasive and Noninvasive Methods for the Diagnosis and Evaluation of Eradication of *Helicobacter Pylori* Infection in Children. *Arch. Med. Res.*, 31:415-421, 2000.

109. Pellicano, R., Smedile, A., Ponzetto, A., Berrutti, M., Astegiano, M., Saracco, G., De Angelis, C., Repici, A., Morgando, A.: How accurate is the culture of *Helicobacter pylori* in a clinical setting? An appraisal. *Panminerva Med.*, 47:191–4, 2005.
110. Kiesslich, R., Goetz, M., Burg, J., Stolte, M., Siegel, E., Maeurer, M.J., Thomas, S., Strand, D., Galle, P.R., Neurath, M.F.: Diagnosing *Helicobacter pylori* in vivo by confocal laser endoscopy. *Gastroenterology*, 128:2119–23, 2005.
111. Ching, C.L., Kwok-Hung, L., Nan-Jing, P., Gin-Ho, L., Hui-Hwa, T., Chiun-Ku, L., Chang-Bih, S., Chao-Ming, W., Yu-Shan, C., Wen-Keui, H., Angela, C., Ping-I, H.: Polymerase Chain Reaction: A Sensitive Method for Detecting *Helicobacter Pylori* Infection in Bleeding Peptic Ulcers. *World J. Gastroenterol.*, 11:3909-3914, 2005.
112. Hirschl, A.M., Makristathis, A.: Non-invasive *Helicobacter pylori* diagnosis: stool or breath tests? *Dig. Liver Dis.*, 37:732–4, 2005.
113. Manes, G., Balzano, A., Ricci, C.: Accuracy of Stool Antigen Test in Posteradication Assessment of *Helicobacter Pylori* Infection. *Dig. Dis. Sci.*, 46:2440-2444, 2001.
114. Konstantopoulos, N., Russmann, H., Tasch, C.: Evaluation of the *Helicobacter Pylori* Stool Antigen Test for Detection of *Helicobacter Pylori* Infection in Children. *Am. J. Gastroenterol.*, 96:677-683, 2001.
115. Gonzalez Cuevas, A., Juncosa, T., Jene, M., Varea, V., Gene, A., Munoz, C., Latorre, C.: *Helicobacter Pylori* Infections: Antigen Detection in Stool Samples. *Enferm. Infece. Microbiol. Clin.*, 19:49-52, 2001.
116. Milman, N., Rosenstock, S., Andersen, L., Jorgensen, T., Bonnevie, O.: Serum Ferritin, Hemoglobin, and *Helicobacter Pylori*

- Infection: A Seroepidemiologic Survey Comprising 2794 Danish Adults. *Gastroenterology*, 115:268-74, 1998.
117. Allen, L.H.: Vitamin B12 metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 352:173-86, 1994.
 118. Fenton, W., Rosenberg, L.E.: Inherited disorders of cobalamin transport and metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. New York: McGraw-Hill, Inc; s. 3129-49, 1995.
 119. Wright, J.D., Bialostosky, K., Gunter, E.W., Carroll, M.D., Najjar, M.F., Bowman, B.A., Johnson, C.L.: Blood folate and vitamin B12: United States, 1988-94. *Vital Health Stat.*, 11:1-78, 1998.
 120. Rasmussen, S.A., Fernhoff, P.M., Scanlon, K.S.: Vitamin B₁₂ deficiency in children and adolescents. *J. Pediatr.*, 138:10-7, 2001.
 121. Casterline, J.E., Allen, L.H., Ruel, M.T.: Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J. Nutr.*, 127:1966-72, 1997.
 122. Allen, L.H., Rosado, J.L., Casterline, J.E., Martinez, H., Lopez, P., Munoz, E., Black, A.K.: Vitamin B-12 deficiency and malabsorption are highly prevalent in rural Mexican communities. *Am. J. Clin. Nutr.*, 62:1013-9, 1995.
 123. Whitehead, V.M., Rosenblatt, R.D., Cooper, B.A.: Megaloblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, editors. *Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood*. Philadelphia: WB Saunders Company; p. 385-422, 1998.
 124. Rosenblatt, D.S., Whitehead, V.M.: Cobalamin and folate deficiency: acquired and hereditary disorders in children. *Semin. Hematol.*, 36:19-34, 1999.
 125. Schjomsby, H.: Vitamin B12 absorption and malabsorption. *Gut*, 30:1686-91, 1989.

126. Food and Nutrition Board Institute of Medicine. Vitamin B12 dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B6, folate, vitamin B12, pantothenic acid, biotin, and choline. Washington (DC): National Academy Press; s. 8-1-9-33, 1998.
127. Monagle, P.T., Tauro, G.P.: Infantile megaloblastosis secondary to maternal vitamin B12 deficiency. Clin. Lab. Haematol., 19:23-5, 1997.
128. Von Schenck, U., Bender-Gotze, C., Koletzko, B.: Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B-12 deficiency in infancy. Arch. Dis. Child, 77:137-9, 1997.
129. Graham, S.M., Arvela, O.M., Wise, G.A.: Long-term neurologic consequences of nutritional vitamin B12 deficiency in infants. J. Pediatr., 121:710-4, 1992.
130. Specker, B.L., Black, A., Allen, L., Morrow, F.: Vitamin B-12: low milk concentrations are related to low serum concentrations in vegetarian women and to methylmalonic aciduria in their infants. Am. J. Clin. Nutr., 52:1073-6, 1990.
131. Baker, S.J., Jacob, E., Rajan, K.T., Swaminathan, S.P.: Vitamin-B12 deficiency in pregnancy and the puerperium. Br. Med. J. 1:1658-61, 1962.
132. Ashkenazi, S., Weitz, R., Varsano, I., Mimouni, M.: Vitamin B12 deficiency due to a strictly vegetarian diet in adolescence. Clin. Pediatr., 26:662-3, 1987.
133. Quak, S.H., Joseph, V.T., Wong, H.B.: Neonatal total gastrectomy. Clin. Pediatr., 23:507-8, 1984.
134. Bradford, G.S., Taylor, C.T.: Omeprazole and vitamin B12 deficiency. Ann. Pharmacother., 33:641-3, 1999.
135. Gueant, J.L., Champigneulle, B., Gaucher, P., Nicolas, J.P.: Malabsorption of vitamin B12 in pancreatic insufficiency of the adult and of the child. Pancreas, 5:559-67, 1990.

136. Brasitus, T.A.: Parasites and malabsorption. *Clin. Gastroenterol.*, 12:495-510, 1983.
137. Carmel, R., Perez-Perez, G.I., Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori* infection and food cobalamin malabsorption. *Dig. Dis. Sci.*, 39:309–14, 1994.
138. Lindgren, A., Burman, P., Kilander, A.F., Nilsson, O., Lindstedt, G.: Serum antibodies to H⁺,K⁺-ATPase, serum pepsinogen A and *Helicobacter pylori* in relation to gastric mucosa morphology in patients with low or low-normal concentrations of serum cobalamins. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 10:583–8, 1998.
139. Hjelt, K., Krasilnikoff, P.A.: The impact of gluten on haematological status, dietary intakes of haemopoietic nutrients and vitamin B12 and folic acid absorption in children with coeliac disease. *Acta Paediatr. Scand.*, 79:911-9, 1990.
140. Chintagumpala, M.M., Dreyer, Z.A., Steuber, C.P., Cooley, L.D.: Pancytopenia with chromosomal fragility: vitamin B12 deficiency. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 18:166-70, 1996.
141. Emery, E.S., Homans, A.C., Colletti, R.B.: Vitamin B12 deficiency: a cause of abnormal movements in infants. *Pediatrics*, 99:255-6, 1997.
142. Al Essa, M., Sakati, N.A., Dabbagh, O., Joshi, S., Al Jishi, E.A., Rashed, M.S., Powe, J.E., Ozand, P.T.: Inborn error of vitamin B12 metabolism: a treatable cause of childhood dementia/paralysis. *J. Child. Neurol.*, 13:239-43, 1998.
143. Middleman, A.B., Melchiono, M.W.: A routine CBC leads to a nonroutine diagnosis. *Adolesc. Med.*, 7:423-6, 1996.
144. Sabatino, D., Kosuri, S., Remollino, A., Shotter, B.: Cobalamin deficiency presenting with cutaneous hyperpigmentation: a report of two siblings. *Pediatr. Hematol. Oncol.*, 15:447-50, 1998.

145. Middleman, A.B., Emans, S.J., Cox, J.: Nutritional vitamin B12 deficiency and folate deficiency in an adolescent patient presenting with anemia, weight loss, and poor school performance. *J. Adolesc. Health*, 19:76-9, 1996.
146. Fine, E.J., Soria, E.D.: Myths about vitamin B12 deficiency. *South Med. J.*, 84:1475-81, 1991.
147. Snow, C.F.: Laboratory diagnosis of vitamin B12 and folate deficiency: a guide for the primary care physician. *Arch. Intern. Med.*, 159:1289-98, 1999.
148. Gibson, R.: Principles of nutritional assessment. New York: Oxford University Press; p. 460-86, 1990.
149. Lindenbaum, J., Healton, E.B., Savage, D.G., Brust, J.C., Garrett, T.J., Podell, E.R., Marcell, P.D., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Neuropsychiatric disorders caused by cobalamin deficiency in the absence of anemia or macrocytosis. *N. Engl. J. Med.*, 318:1720-8, 1988.
150. Zittoun, J., Zittoun, R.: Modern clinical testing strategies in cobalamin and folate deficiency. *Semin. Hematol.*, 36:35-46, 1999.
151. Savage, D.G., Lindenbaum, J., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am. J. Med.*, 96:239-46, 1994.
152. Bibi, H., Gelman-Kohan, Z., Baumgartner, E.R., Rosenblatt, D.S.: Transcobalamin II deficiency with methylmalonic aciduria in three sisters. *J. Inherit. Metab. Dis.*, 22:765-72, 1999.
153. Lawson, D.H., Murray, R.M., Parker, J.L., Hay, G.: Hypokalaemia in megaloblastic anaemias. *Lancet*, 2:588-90, 1970.
154. Serin, E., Gümrüdü, Y., Özer, B., Kayaselçuk, F., Yilmaz, U., Koçak, R.: Impact of *Helicobacter pylori* on the development of

vitamin B12 deficiency in the absence of gastric atrophy. *Helicobacter*, 7:337-341, 2002.

155. Pennypacker, L.C., Allen, R.H., Kelly, J.P., Matthews, L.M., Grigsby, J., Kaye, K., Lindenbaum, J., Stabler, S.P.: High prevalence of cobalamin deficiency in elderly outpatients. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 40:1197-1204, 1992.
156. Joosten, E., Van Den Berg, A., Reizler, R., Naurath, H.J., Lindenbaum, F., Stabler, S.P., Allen, R.H.: Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B-12 (cobalamin), folate and vitamin B-6 occur commonly in the elderly. *Am. J. Clin. Nutr.*, 58:468-476, 1993.
157. Stabler, S.P., Lindenbaum, J., Allen, R.H.: Vitamin B12 deficiency in the elderly:current dilemmas. *Am. J. Clin. Nutr.*, 66:741-9, 1997.
158. Stabler, S.P., Lindenbaum, J., Allen, R.H.: The use of homocysteine and other metabolites in the specific diagnosis of vitamin B12 deficiency. *J. Nutr.*, 126:1266-1272, 1996.
159. Karnes, W.E., Samloff, I.M., Siurala, M., Kekki, M., Sipponen, P., Kim, S.W., Walsh, J.H.: Positive serum antibody and negative tissue staining for *Helicobacter pylori* in subjects with atrophic body gastritis. *Gastroenterology*, 101:167-74, 1991.
160. Varis, O., Vale, J., Siurala, M.: Is *Helicobacter pylori* involved in the pathogenesis of the gastritis characteristic of pernicious anemia? *Scand. J. Gastroenterol.*, 28:705-8, 1993.
161. Haruma, K., Komoto, K., Kawaguchi, H., Okamoto, S., Yoshihara, M., Sumii, K., Kajiyama, G.: Pernicious anemia and *Helicobacter pylori* infection in Japan: Evaluation in a country with a high prevalence of infection. *Amer. J. Gast.*, 90:1107-10, 1995.