

T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIP II DİABETES MELLİTUSLU DİSPEPTİK OLGULARDA GASTRODUODENAL
LEZYONLAR, *HELİKOBAKTER PYLORİ* SIKLIĞI VE
GENOTİP DAĞILIMI

TEZ YÖNETİCİSİ
DOÇ. DR. BÜLENT KANTARÇEKEN

DR. HARUN YERHAN
UZMANLIK TEZİ

KAHRAMANMARAŞ – 2008

KISALTMALAR:

- H. pylori* : *Helikobakter pylori*
- DM : Diabetes Mellitus
- PCR : Polimeraz zincir reaksiyonu
- VacA : Vakuolizan toksin A
- CagA : Sitotoksin ilişkili toksin A
- PPI : Proton pompa inhibitörü
- ÖGD : Özefagogastroduodenoskopi
- PBS : Phosphate Buffer Saline solüsyonu

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca; engin tecrübesi, sınırsız sevgi ve hoşgörüsüyle bende büyük emeği olan sayın hocam Doç. Dr. Bülent Kantarçeken'e,

Asistanlık süremi başından sonuna kadar büyük bir sabır ve anlayışla hep desteğini gördüğüm Doç. Dr. Ali Çetinkaya'ya,

Anabilim Dalı Başkanımız Doç. Dr. Mehmet Sayarlıoğlu'na,

Yine eğitimimde katkıları olan Doç. Dr. Ekrem Doğan ve Doç. Dr. Hayriye Sayarlıoğlu, hep güler yüzlü hocam Yrd. Doç. Dr. Mesut Özkaya'ya,

Yardıma ihtiyaç duyduğum zamanlarda hep yanımda olan sevgili arkadaşlarım Dr. Çağatay Çıtırık ve eşi, Dr. T. İsmail Sönmez'e, Dr. Arif Süner ve Dr. Sedat Köroğlu'na teşekkür ederim.

Bu araştırmanın yapılmasında büyük emeği geçen Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Fatih Köksal ve Dr. Erkan Yula'ya,

Yrd. Doç. Dr. Harun Çıralık'ın şahsında Patoloji Anabilim Dalına,

Bu dönem boyunca aynı ortamı paylaştığım tüm asistan arkadaşlarıma, kliniğimiz hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Endoskopi sırasında emeği geçen Adem Nar'a

Sadece bu dönemde değil tüm hayatım boyunca sevgi ve desteklerini esirgemeyen aileme,

Sevgisini ve desteğini hep yanımda bulduğum eşim Zeynep Nur Yerhan'a ve biricik oğluma sevgi, saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

KISALTMALAR

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

TABLO LİSTESİ

ŞEKİL LİSTESİ

ÖZET

SUMMARY

1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Helikobakter pylori</i>	3
2.1.1. Mikrobiyolojik Özellikleri	3
2.1.2. Epidemiyoloji	3
2.1.3. Patogenez	5
2.1.4. Genotipik özellikleri	5
2.1.4.1. Vakuolizan toksin A (vacA)	7
2.1.4.2. Sitotoksin ilişkili toksin A (cagA)	7
2.1.5. Tanı yöntemleri	8
2.1.5.1. İnvaziv testler	8
2.1.5.1.1. Hızlı üreaz testi	8
2.1.5.1.2. Histolojik inceleme	8
2.1.5.1.3. Kültür	9
2.1.5.1.4. Polimeraz zincir reaksiyonu ve moleküler tiplendirme	9
2.1.5.2. Non invaziv testler	9
2.1.5.2.1. Seroloji	9
2.1.5.2.2. Üre-Nefes testi	9

2.2. <i>Helikobakter pylori</i> ile ilişkili gastrik hastalıklar	10
2.2.1. Gastrit	10
2.2.2. Mide Ülseri	11
2.2.3. Duodenal Ülser	12
2.2.4. Non Ülser Dispepsi (fonksiyonel dispepsi)	12
2.2.5. Mide Kanseri	12
2.2.6. MALT Lenfoma	13
2.3. Diabetes Mellitus	15
2.4. Dispepsi	15
2.5. Diyabetes Mellitus ve Dispepsi	16
2.6. Dispepsi ve <i>Helikobakter pylori</i>	16
2.7. Diyabetes Mellitus ve <i>Helikobakter pylori</i>	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	18
3.1. PBS (Phosphate Buffer Saline) hazırlanması	18
3.2. Polimeraz zincir reaksiyonu uygulamaları	19
3.3. Biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu	19
3.4. Ekstraksiyon kitinin uygulanışı	19
3.5. Ekstrakte materyalde DNA miktarının spektrofotometre ile ölçülmesi	20
3.6. Amplifikasyon	20
3.6.1. <i>Helikobakter pylori</i> ureA geninin amplifikasyonu	20
3.6.2. <i>Helikobakter pylori</i> ureC (glmM) geninin amplifikasyonu	21
3.6.3. <i>Helikobakter pylori</i> cagA geninin amplifikasyonu	21
3.6.4. <i>Helikobakter pylori</i> vacA S1/S2 geninin amplifikasyonu	22
3.6.5. <i>Helikobakter pylori</i> vacA M1/M2 geninin amplifikasyonu	23
3.7. İstatistiki Değerlendirmeler	23

4. BULGULAR	24
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	35
6. KAYNAKLAR	39

TABLO LİSTESİ

Tablo-I : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda *Helikobakter pylori* sıklığı

Tablo-II : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerinin dağılımı

Tablo-III : Diabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerine göre endoskopik bulguların dağılımı

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1 : Farklı hastalıklarda *Helikobakter pylori* prevalansı

Şekil 2 : *Helikobakter pylori* ile ilişkili gastrik hastalıklar

Şekil 3 : *Helikobakter pylori*'nin gastrik kolonizasyonunun potansiyel sonuçları

Şekil 4 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda endoskopik bulguların dağılımı

Şekil 5 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda genotipik dağılım

Şekil 6 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerine göre genotipik dağılım

Şekil 7 : CagA ve vacA pozitif olan olgularda endoskopik bulgular

Şekil 8 : CagA ve vacA negatif olan hastalarda endoskopik bulgular

Şekil 9 : CagA negatif, vacA pozitif olan hastalarda endoskopik bulgular

Şekil 10 : Pangastrit + bulbit saptanan grupta Diyabetik ve Non-Diyabetik hastalarda cagA genotip dağılımı

Şekil 11 : Pangastrit + bulbit saptanan grupta vacA subtipleri

ÖZET

H. pylori, pek çok gastrik hastalığa neden olan kronik bir infeksiyon etkenidir. Diyabetik hastalarda *H. pylori* prevalansı hakkında çelişkili veriler vardır. Ancak, DM'lu hastalarda genotip çeşitliliği ve endoskopik bulgularla ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Çalışmamıza gastroskopi ile biyopsi alınan 81 hasta dahil edildi. Hastalar diyabetik olan ve olmayanlar olarak iki gruba ayrıldı. Bu hastalardan tespit edilen *H. pylori*'nin genotipik analizleri polimeraz zincir reaksiyonu ile, subtip analizleri de (sitotoksin ilişkili toksin A, vakuolizan toksin A) amplifikasyon yöntemi ile yapıldı.

DM'lu hastalarda *cagA* oranının DM olmayanlara göre artmış olduğu ancak bu farkın endoskopik bulgularla korele olmadığı gözlemlendi. *VacA* subtiplerinde ise; pangastrit + bulbit grubunda diyabetik hastalarda *VacA* M2 oranının artmış olduğu saptandı.

VacA M2'nin subtiplerinin epitel hasarı gösterici etkisinin düşük olması, çalışmaya alınan diyabetik hastalarda ülserin az görülmesini açıklayabilir. Hatta; *vacA* M2'nin mide adenokarsinomasında ve peptik ülserde de az görülmesi, diyabetik hastaların midesinde kolonize olan *H. pylori*'nin, karsinojenik etkisi zayıf olan suşlardan oluştuğunu, diyabetin bu hastaları mide patolojilerine karşı koruduğunu düşündürülebilir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar; *H. pylori* genotipik yapısının diyabeti olanlarda ve olmayanlarda farklı olabileceğini ve Diabetes Mellitus'da henüz tam aydınlatılmamış faktörlerin bu durumda etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: *H. pylori*, Diabetes Mellitus, *cagA*, *vacA*.

SUMMARY

H. pylori is a chronically infection agent which causes several gastric diseases. There are conflicting data about the prevalence of *H. pylori* in diabetics. But, there is no study about the genotypic variation and endoscopic findings.

Our study included 81 patients who were taken gastroscopic biopsy. Patients were divided into two groups as diabetics and non-diabetics. Genotypic analyses of *H. pylori* were performed with polymerase chain reaction and amplification method (*cagA*, *vacA*) was used for subtype analyses.

In diabetics, *cagA* ratio was increased compared with non-diabetics, but this difference was not correlated with endoscopic findings. For *VacA* subtypes; *VacA* M2 ratio increased in diabetics in pangastritis + bulbitis group.

The weak epithelial damage effect of *VacA* M2 subtypes may explain the fewer incidences of peptic ulcers in diabetics. Moreover; the fewer incidence of *VacA* M2 subtypes in gastric adenocarcinoma and peptic ulcer, suggests that the *H. pylori* species colonized in stomach of diabetics have weak carcinogenic effects and diabetes was protecting them against gastric pathologies.

In conclusion; the results of this study suggests that the genotypic structure of *H. pylori* may be different in diabetics and non-diabetics and some unclarified factors of diabetes mellitus are effective in this situation.

Keywords: *H. pylori*, Diabetes Mellitus, *cagA*, *vacA*.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Geçmişten günümüze kadar infeksiyon hastalıkları ve mikro-organizmalar, insan hayatını büyük ölçüde etkilemiştir. İnsanlar daha doğumdan itibaren mikroorganizmalarla hayat boyu sürececek bir birlikteliğe başlarlar. Bu birliktelik de bazen hastalık şeklinde ortaya çıkabilir.

İnsan vücuduna herhangi bir zarar vermeden organizma ile birlikte yaşayan mikroorganizma toplulukları vücudun normal florasını oluştururlar. Bu yerleşimde vücut bölgelerinin pH'sı, nemi, değişik salgıların bileşimi ve var olan bazı doğal inhibitör madde etkileri rol oynar.

Mide sıvısının asiditesi, genel olarak mikro-organizmaların yaşamasına elverişli değildir. Bu nedenle midenin kalıcı florası bulunmaz. *Helikobakter pylori* (*H. pylori*), mide suyunun düşük pH'ından mukus katmanının altına yerleşerek korunur ve gastrit, ülser gibi klinik tablolara sebebiyet verebilir.

H. pylori 1983'de Barry Marshall ve Robin Warren tarafından kültüre edildikten ve tanımlandıktan hemen sonra üst gastrointestinal hastalıklarla ilişkisi araştırılmaya başlanmıştır. *H. pylori* infeksiyonu, çoğunlukla çocukluk çağında kazanılan ve günümüzde en sık görülen kronik bakteriyel infeksiyonlardan biri olarak kabul edilmektedir. *H. pylori*'nin mide mukozasında ve metaplastik mide epitelinde kolonizasyonu ile peptik ülser, kronik aktif gastrit tip B, ülser olmayan dispepsi ve gastrik karsinom arasında güçlü bir ilişki olduğu daha önce yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (1,2). Düşük sosyoekonomik düzey infeksiyonun kazanılmasında majör risk faktörü olup, sosyoekonomik düzey düştükçe *H. pylori* prevalansı artmaktadır (3,4,5).

Aynı zamanda 1989 yılından itibaren *H. pylori*-kanser ilişkisini destekleyen çalışmalar giderek artmıştır. 1994'de International Agency for Research on Cancer (IARC) çalışma grubunun girişimi ile, 11 ülkenin deneyimli kanser uzmanlarının eldeki verileri değerlendirerek yaptıkları toplantı sonunda, *H. pylori*'nin insan midesi için karsinogen olduğuna karar verilmiştir (6,7,8).

Diabetes Mellitus (DM), birçok sistemi etkileyen kronik bir hastalıktır ve çeşitli gastrointestinal sistem hastalıklarına eşlik edebilir. Bu durum gastrointestinal patolojiden çok, DM'da artmış infeksiyon riski, otonom nöropati ve motilite bozukluğu ile ilgilidir (9,10). Gastrointestinal semptomlar, genel popülasyona göre DM'lu hastalarda daha sık görülür. *H. pylori* sıklığı ile DM arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar bildirilmesine karşın, ilişki

saptanamayan yada negatif ilişkili olduğunu gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (11-14). Fakat, literatürde DM'lu hastalarda *H. pylori*'nin genotipik özelliklerini araştıran çalışmaya rastlanmamıştır. Bu tez çalışmasında, Tip II DM'lu dispeptik hastalarda, *H. pylori* sıklığı, genotipik özellikleri ve endoskopik bulgularla ilişkisini araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Helikobakter pylori*

2.1.1. Mikrobiyolojik Özellikleri

1982 yılına kadar midenin, asitli ortamından dolayı steril olduğu kabul edilmekteydi. Bu yıllarda, Warren ve Marshall standart *Campylobacter* kültür ortamına, 34 antral biyopsi materyalini ekerek bakteriyi izole etmeyi başarmışlardır (15-17). 1989 yılında Goodwin ve arkadaşları bu mikroorganizmayı *Campylobacter* genusundan tamamen ayırmış ve helikal yapısı ve sıklıkla midenin pilor bölgesinden izole edildiği için *H. pylori* adını vermişlerdir (18).

H. pylori gram negatif, unipolar, kıvrımlı veya spiral, hareketli, künt ve yuvarlak uçlu, 4-6 unipolar kirpiğe sahip, mikroaerofilik, 0.5-1 mikrometre genişliğinde, 2.5-4 mikrometre boyunda bir bakteridir. Tek uçtan çıkan 4-7 adet flageli sayesinde hareket eder. Bakterinin dış membranı, örtü şeklinde devam ederek flagelleride kaplar (18). İdeal olarak 37 °C, %98 nemli ve %5-15 oksijen içeren karbondioksitli ortamda 4-7 günde ürer.

H. pylori midede özellikle antruma yerleşerek yaşar ve mukus içerisinde koloniler yapar. Üreaz enzimi ile üreyi amonyağa çevirip çevresinde bazik bir ortam oluşturmak suretiyle kendisini mide asitinin zararlı etkilerinden korur. Helikobakter genusu içinde sadece *H. pylori*'nin konakçısı insandır. *H. pylori* mukus tabakası içinde genellikle serbest olarak yaşamakla birlikte, adhezin aracılığı ile endotel hücrelerine yapışabilir ve hücre içine endositoz ile girebilir. *H. pylori*'nin kronik aktif gastrit, peptik ülser, mide karsinomu ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoması ile ilişkisi birçok araştırmada ortaya konmuştur (15,19,20).

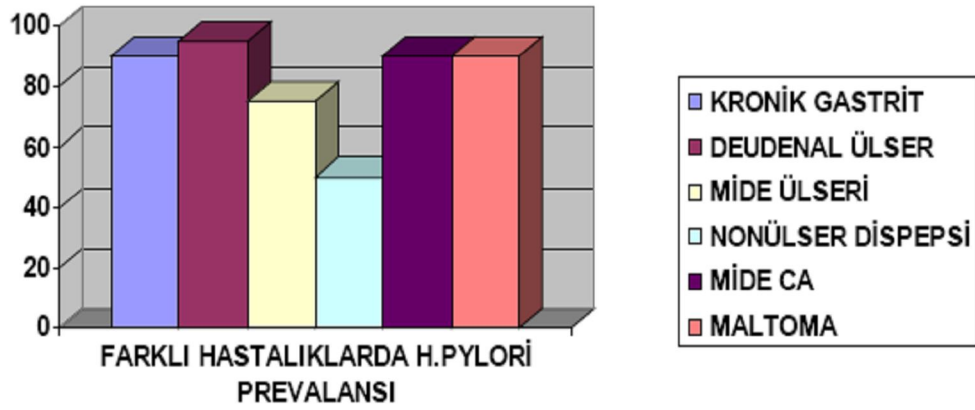
H. pylori'nin fenotipik düzeyde farklılık göstermemesine rağmen, genotiplerinde bazı farklılıklar vardır. Bunlar, gastrik patoloji ve ülser yapıcı etki ile de ilgilidir. Bu farklılıkları; *vacA*, *cagA* ve lipopolisakkaritler oluşturmaktadır (21).

2.1.2. Epidemiyoloji

H. pylori enfeksiyonu, dünyada oldukça yaygındır. Kötü hijyenik koşullar, düşük sosyoekonomik düzey ve kalabalık yaşam koşulları enfeksiyon oranını arttırmaktadır (3-5). *H.*

pylori, duodenal ülserli hastaların %95'inde, mide ülserli hastaların %70-80'inde, non-ülser dispepsili hastaların ise yaklaşık %50'sinde görülmektedir. *H. pylori* infeksiyonunu taşıyan bireylerde *H. pylori* negatif olanlara göre daha fazla peptik ülser gelişme riski vardır. Prospektif ve retrospektif çalışmalarda gastrik kanser ve gastrik lenfomada *H. pylori* %90 oranında bulunmuştur (19,20).

H. pylori infeksiyonu prevalansı, gelişmekte olan ülkelerde % 100'e kadar ulaşırken, gelişmiş ülkelerde sosyoekonomik düzeye bağlı olarak % 10 ile % 50 arasında değişmektedir (22,23). Türkiye'de 7-14 yaş arası çocuklarda yapılan çalışmalarda seroprevalans 1990 yılında %78.5, 2000 yılında %66,3 olarak bulunmuştur (24). Seroprevalansdaki bu düşüş çevresel koşulların düzelmesi ve sosyoekonomik düzeydeki artışa bağlanmaktadır. Aşağıdaki şekilde farklı hastalıklarda *H. pylori* prevalansı gösterilmektedir (Şekil 1).



Şekil 1 : Farklı hastalıklarda *H. pylori* prevalansı (25,26,27)

H. pylori, kadın ve erkeklerde aynı oranda gözlenmektedir. Gelişmekte olan ülkelerde çocuk nüfusunun çoğu infeksiyona yakalanmakta, spontan eradikasyon pek mümkün olmadığından hastalık prevalansı yaşla birlikte artış göstermektedir (28). Gelişmiş ülkelerde ise çocuk ve gençlerde infeksiyon oranı düşük, erişkinlerde yüksektir, prevalansı 60 yaş üzerindeki topluluklarda %50'ye kadar ulaşmaktadır. Bu ülkelerde rekürren infeksiyonlar nadir olup ileri yaşlarda akut infeksiyonun etkileri de azalmaktadır. Akut infeksiyonlar, çocuklarda genellikle pangastrit, nadiren de mide ülseri ve mide kanseri, erişkinde ise antral bölgede peptik ülser şeklinde gözlenir (21,28). Ülkemizde yapılan araştırmalarda hastalığın prevalansının % 46-78 oranında olduğu ve yaşla arttığı bildirilmiştir (28). *H. pylori* sıklığı, sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha fazla

bulunmuştur (29,30). Batılı ülkelerde 40 yaşın altındaki kişilerin % 20'si, 60 yaşın üzerindekiilerin % 50'si *H. pylori* ile enfektedir. 20 yaşın altında prevalans % 20'nin altındadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise prevalans % 80'e ulaşmaktadır. Gelişmekte olan ülkelerde çocukların yaklaşık % 50'si 5 yaşına kadar % 70-90'ı 10 yaşına kadar; 50 yaş civarı erişkinlerin % 90-100'ü *H. pylori* ile kolonize olurlar (15,22,23,29).

2.1.3. Patogenez

H. pylori'nin midede kolonizasyonunu sağlayan majör faktörler midenin mikroaerofilik yapısı, mukusta yaşama, spiral şekil, flajellalar ve üreaz aktivitesidir. Spiral şeklin yol açtığı motilite ve üreaz, bunlardan en önemlileridir. Mukus içinde serbest yaşayabildiği gibi, bazen mukozal epitelyal hücrelere yapışabilir. Nöroendokrin hücrelere ve nötrofillere de tropizm gösterebilir. Epitel hücre yüzeyi ve intraepitelyal alanda; kan grubu antijenlerine, lewis A ve lewis B antijenlerine, sinyalizasyon proteinlerine, bağ dokuda; laminin, vitronektin ve kollajene bağlanıp bu yapıların bütünlüğünü bozmaktadır (28).

H. pylori, gastrointestinal sistemde sadece gastrik epitel hücrelerini etkiler, intestinal epiteli etkilemez. Kolonizasyonunda gastrik enflamasyon oluşur. Lamina propria mononükleer hücrelerde artış gözlenir. *H. pylori*, doku invazyonu yapmaz. Bununla birlikte lezyonlar, bakterinin ekstrasellüler ürünlerine karşı oluşan doku reaksiyonuna bağlıdır (28).

H. pylori salgıladığı üreaz enzimiyle CO₂ ve NH₄ oluşturur. Bu ürünler bakteriyi mide asidinden korurken, mide epiteline toksik etkiler oluşturur. NH₄, hücreler arası tutunmayı azaltır ve *H. pylori*'nin sitotoksinlerinin etkisini artırır, nötrofillerin başlattığı mukozal hasarı potansiyalize eder. Ayrıca gastritin kronikleşmesini ve ülser oluşumunu provake eder (21). *H. pylori* enfeksiyonu, serum gastrin düzeyini yükseltir. Hayvan araştırmalarında, yüksek serum gastrin düzeyinin amonyağa bağlı olabileceği ortaya konmuştur (28).

2.1.4. Genotipik özellikleri

H. pylori'nin komple gen dizi sırası Tomb ve arkadaşları tarafından 1997 yılında açıklanmıştır (31). *H. pylori*'nin 26.695 nolu suşu G + C oranı % 39 mol olan, 1.667.867 baz çiftine sahip tek bir sirküler yapıda kromozom içermektedir. Toplam gen sayısı 1.590 olup her biri ortalama 1.091 baz çifti taşımaktadır. Kodlanan birçok genler arasında: 16S, 23S ve 5S ribozomal RNA

(rRNA) genleri, DNA replikasyonunda görev alan *gyrA*, homolog DNA rekombinasyonundan sorumlu *recA* ve hücre canlılığı için önemli *ftsH* genleri gibi önemli olanlar belirlenmiştir (15,32).

Birçok gen bölgesinin virulansla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bunlar arasında: dış membran proteinleri ve lipopolisakkarit moleküllerini kodlayan genler, vakuolizasyon sitotoksin geni (*vacA*), sitotoksin ilişkili gen (*cagA*), adhesin geni (*H. pylori* A), flagellin genleri (*flaA* ve *flaB*), üreaz gen kümesi (yapısal alt birimleri kodlayan *ureA* ve *ureB* geni, fonksiyonu bilinmeyen *ureC* ve *ureD* genleri ile üreaz aktivitesi için gerekli olan *ureE*, *ureF*, *ureG*, *ureH* ve *ureI* genleri) bulunmaktadır (15).

H. pylori suşlarının yaklaşık % 50'si, büyüklükleri 1.5-40 kb arasında değişen plazmid içerirler. Ancak bu plazmidlerin herhangi bir virulans faktörü taşıyıp taşımadıkları henüz belirlenememiştir (16). Bu plazmidler, yapılan pasajlarla kaybolabilmektedir. Yapılan çalışmalarda, antibiyotiklere dirençli suşların plazmid profillerinin diğer suşlardan farklı olmadığı saptanmıştır. *H. pylori*'de antibiyotik direnç genleri kromozomlarda lokalizedir. Gen haritasında çoklu genlerin değişken lokalizasyonları, *H. pylori* genomunda etkin bir yeniden düzenlemenin gerekli olduğunu göstermektedir.

H. pylori suşlarının %80'inde *cagA* geni ile kodlanan sitotoksin bulunmaktadır. Gen bölgelerinin kodladığı proteinler epitelde tirozin fosforilasyonunu indükleyerek inflamatuvar yanıtı başlatan tirozin kinazı aktive ederler. Bu gen sadece *vacA* geni varlığında bulunur. *H. pylori*'nin patojen olma niteliğini etkileyen diğer önemli faktör, *vacA* geni ile kodlanan vakuol yapıcı sitotoksindir. *vacA* geni tüm *H. pylori* suşlarında olmasına rağmen bakterilerin sadece %65'inde aktif sitotoksin proteini üretir. Enfekte kişilerde genellikle bu toksine karşı nötralizan antikorlar bulunur (28).

Dışkıda, mide sıvısında ve biyopsi örneklerinde Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *H. pylori* tesbit edilebilir. Duyarlılığı ve özgüllüğü % 95'in üzerindedir (33,34). İlk adım, Taq polimerazın potansiyel inhibitörlerinin uzaklaştırılması olabilir. Enroth ve Engstrand, adezin geninden türetilen primerler kullanarak, PCR uygulamadan önce, manyetik immunolojik ayırma tekniği uygulamışlardır (35). İlginç bir özellik, araştırmacıların kültürde üretilen örneğin yaşı arttıkça pozitif sonuç için gereken bakteri sayısının yükseldiğini bulmuş olmalarıdır. Bu bulgu, kokkoidal biçimlerin değişik antijenik özellikleri ve DNA içerikleri bulunabileceğini düşündürmektedir. Hedef DNA seçimi de reaksiyonun duyarlılığına katkıda bulunabilir. 16S rRNA geninin, her bakteri hücresinde birden çok sayıda kopyası bulunur.

2.1.4.1. Vakuolizan toksin A (vacA)

İnsan ve diğer memeli hayvanların başta mide olmak üzere tüm epitel hücrelerinde asidik vakuolizasyona neden olan bir toksindir. vacA toksini 90 kDa büyüklüğünde oligomerik yapıda bir protokstindir. *H. pylori* suşlarının tamamında toksini kodlayan vacA geni bulunmasına rağmen genomdaki farklılıklar nedeniyle ancak bazı suşlar toksin üretebilmektedir (16,36,37). Asit pH'da proteolize uğrayarak 34 kDa'luk N terminal ve 58 kDa'luk C terminal parçalarına ayrılıp aktif hale geçer. 58 kDa parça, hücreye bağlanmayı sağlarken, 34 kDa'luk bölüm hücrede vakuolizan ATPaz proton pompasını aktive ederek nukleus etrafında zayıf bazların birikimine ve vakuollerin oluşumuna yol açar. vacA geni suşları arasında, özellikle azot içeren uçtaki (N ucu) kısa olan sinyal dizisi ve orta bölgede farklılıklar göstermektedir. VacA sinyal dizilerine göre S1a, S1b, S1c ve S2 olmak üzere dört, orta dizi farklılıklarına göre M1 ve M2 olmak üzere iki subtipi bulunmaktadır. Orta bölge tipi toksin etkinliğinin başlıca belirleyicisidir. Ayrıca mide epitel hasarının düzeyiyle ilişkilidir. Sinyal dizi tipi ise midedeki inflamasyon düzeyiyle ve duodenum ülseri prevalansı ile ilişkilidir (36-39). ABD'de yapılan bazı çalışmalarda vacA'nın S1a aleline sahip *H. Pylori* suşlarının S1b ve S2 alellerine göre artmış toksin aktivitesi gösterdiği, bu nedenle gastrik iltihap ve peptik ülser ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde orta bölge M1 aleli, M2 aleline göre daha yüksek toksin seviyesi ve ağır epitel hasarı oluşturma potansiyeline sahiptir.

VacA pozitif suşlarının çoğu cagA toksini yönünden de pozitifdir. Böylece teorik olarak mide epitelinde oluşan hasarın vacA sitotoksinin aktivitesi sonucunda ortaya çıktığı ve gastroduodenal ve gastroözofageal patolojiden, gastrik karsinomalardan ve MALT lenfomadan bu toksinin sorumlu olduğu söylenebilir. Bu toksini salgılayan *H. pylori* suşlarının, bu aktiviteyi göstermeyenlere kıyasla daha sıklıkla peptik ülserli vakalardan izole edilmesi, bu proteinin virulansla ilgisini göstermektedir (16,37,39).

2.1.4.2. Sitotoksin ilişkili toksin A (cagA)

VacA üreten suşların hemen tamamında görülen ancak vakuol oluşumuna yol açmayan 128 kDa ağırlığında oldukça immunojen bir hidrofilik toksindir. VacA'ya yardımcı olduğu düşünülen bu toksin 20'den fazla ekstrasellüler proteinin üretildiği cagA patolojik gen adası için bir göstergedir. Bu ada picA (cagA ve cagD) ve picB gen bölgeleri bulunmaktadır. PicB'nin kodladığı proteinler

epitelyum hücrede tirozin fosforilasyonunu indükleyerek inflamatuvar yanıtı başlatan tirozin kinazı aktive ederler (36-39).

Bu geni taşıyan *H. pylori* suşları, bu geni taşımayanlara kıyasla peptik ülser ve mide karsinomu vakalarıyla daha sık ilişkili bulunmaktadır. Ülkemizde yapılan bir çalışmada benzer sonuçlar bildirilmiştir (40). CagA geni bakterideki cag patojenisite (patojenik gen) adasının bir belirteci olarak kullanılır. CagA geni, cag patojenite adası genleriyle birlikte yüksek oranda iltihabi reaksiyonlarla ilişkilidir. Gastrik mukozada IL-8, IL-6, IL-10, IL-12 ve TNF sekresyonunu uyarır (16,36,37,39).

2.1.5. Tanı yöntemleri

H. pylori'nin tanısı için kullanılan testleri başlıca iki grupta toplayabiliriz.

1-İnvaziv testler

2-Non invaziv testler

2.1.5.1. İnvaziv testler

2.1.5.1.1. Hızlı üreaz testi

Endoskopik biyopsi örneklerinde, bakterinin üreaz aktivitesinden yararlanılarak yapılan bir testtir. Ortamda bulunan ürenin, bakteri tarafından amonyağa çevrilmesi ile değişen ortam pH' sının renkli bir belirteç ile gösterilmesi esasına dayanır. Bugün kullanılan hızlı üreaz testi %85' in üzerinde duyarlılık ve %95' in üzerinde özgüllük değerlerine sahiptir (41).

2.1.5.1.2. Histolojik inceleme

H. pylori, mide mukozasında yaygın olarak yerleşmesine karşın yamalı bir dağılım gösterir. Bu nedenle endoskopik biyopsi örneklerinin alındığı alan ayrıca öneme sahiptir. Son dönemde yapılan bazı çalışmalarda biyopsilerin korpus ve antrumun ortaları ile bu iki alanın küçük ve büyük kurvatura yakın bölümlerinden alınması gerekliliği üzerinde durulmaktadır (42). Histopatolojik inceleme %90'ın üzerinde duyarlılık ve özgüllüğe sahiptir (41).

2.1.5.1.3. Kültür

Kültür, histopatoloji ile birlikte en iyi tanı yöntemlerinden biridir. *H. pylori* için uygun besiyerleri kanlı ağız, çikolatalı agar, Columbia besi yeri, Skirrov besi yeri ve Tayer-Martin besi yeridir. *H. pylori*'nin üremesi için en uygun ortam ılık, nemli, mikroaerofilik bir çevredir. Kültürün duyarlılığı %70-95, özgüllüğü ise %100 olarak bildirilmektedir (41).

2.1.5.1.4 Polimeraz zincir reaksiyonu ve moleküler tipleme

Bakteriye özgü 16S ribozomal RNA'nın amplifikasyonu temeline dayanır ve oldukça duyarlı ve özgüldür. Bu yöntemle, *cagA* ve *vacA* genleri, bu genlerin birliktelik gösterdiği hastalıklar ve antibiyotik direnci araştırılabilir. Gastrik olmayan sıvılarda ve dışkıda *H. pylori* DNA'sının saptanması ile noninvaziv olarak tanı konulabilir (21). Yanlış negatif sonucun olası sebepleri; spesimende bulunan bileşikler ile oluşturulan inhibisyon ve az sayıda bakteri bulunmasıdır. Single step PCR, nested PCR, biprobe FRET, real-time PCR gibi tiplerinin birbirinden farklı özellikleri vardır (43). Real-time PCR biyopsi materyallerinde *H. pylori* taranmasında ve aynı zamanda klaritromisin duyarlılığı araştırılmasında en doğru sonuçları veren yöntemdir. Diğer geleneksel PCR yöntemlerine göre kısa çalışma zamanı, yüksek özgüllük ve kontaminasyon riskinin düşüklüğü gibi avantajları vardır (44). PCR ile *H. pylori* tesbitinin duyarlılığı ve özgüllüğü % 95'in üzerindedir (33,34).

2.1.5.2. Non invaziv testler

2.1.5.2.1. Seroloji

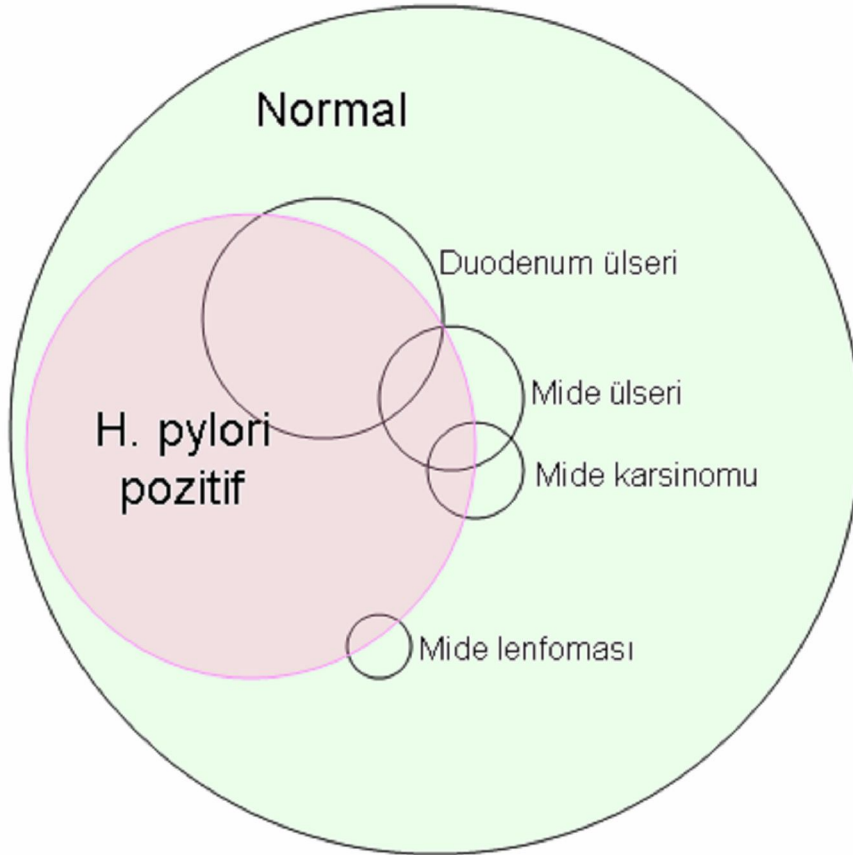
Kronik *H. pylori* infeksiyonu Ig G ve Ig A sekresyonu ile karakterize bir dizi lokal ve sistemik immün reaksiyona yol açar. İnfeksiyonun varlığını araştırmada daha çok Ig G tayini tercih edilir. Antikor düzeyini kantitatif olarak değerlendirmek için ELİSA, kalitatif değerlendirme için ise diğer immunoassay yöntemlerinden yararlanılır (45).

2.1.5.2.2. Üre-Nefes testi

Non invaziv, hızlı ve kolay bir testtir. Radyoaktif karbon ile işaretli üre, ağızdan verilir. Bir saat içinde nefesle atılan işaretlenmiş CO₂ tespit edilir. Spesifitesi % 95 ve sensitivitesi % 85 tir (41).

2.2. *H. pylori* ile ilişkili gastrik hastalıklar

Gastrik hastalıkların çoğu toplumun *H. pylori* ile enfekte olan %30' unda gözlenmektedir (Şekil 2). Özellikle malt lenfoma midede en sık görülen lenfoma türü olup *H. pylori* infeksiyonu ile ilişkisi oldukça kuvvetlidir ve infeksiyon eradike edildiğinde tam iyileşme sağlanmaktadır (18).



Şekil 2 : *H. pylori* ile ilişkili gastrik hastalıklar.

2.2.1. Gastrit

Gastrik veya duodenal ülserli hastalarda genellikle gastrit de bulunur. Gastrit, gastrik mukozanın kronik inflamasyonu olarak tanımlanır. Bu yüzden histopatolojik bir tanıdır. Akut gastrit; bazı zararlı maddelerce (NSAİ, alkol, safra vs.) gastrik mukozanın irritasyonunun sonucudur ve histolojik olarak ılımlıdır. Ancak *H. pylori*'nin akut enfeksiyonunda histolojik olarak belirgin bir inflamasyon vardır ve klinik olarak nadiren tanınabilir (46). Semptomlar, genellikle 3–14 gün sürer. Karın ağrısı, bulantı, kusma, ateş, ishal gibi semptomların varlığı nedeniyle çoğu hasta besin zehirlenmesi olarak değerlendirilir. Enfeksiyonu takip eden günlerde şiddetli akut nötrofilik gastrit gelişir, bakteri visköz mukus tabakayı delerek epitel hücrelerinin membranına yerleşir ve çoğalır. Barry J. Marshall gönüllü denek bulamayınca *H. pylori* kültürünü içerek kendi kendini infekte etmiş, beş gün kadar şikayeti olmamış fakat 5.günün sonunda bulantı ve kusma semptomları gelişmiş, ondört gün sonra hastalık kendiliğinden düzelmiştir. Bununla birlikte, 8. gün yapılan kültür ve histolojik incelemede ağır akut gastrit ve çok sayıda *H. pylori* saptanmıştır (21,28).

İmmün yanıt, hastaların çoğunda akut evrenin devamında *H. pylori*'yi ortadan kaldırmaya yeterli olmaz. Artık gastrit, kronik hale geçmiştir ve bu durum genellikle ömür boyu devam eder ve genellikle asemptomatiktir (21,28).

Kronik gastritin nedeni, hemen her zaman *H. pylori* enfeksiyonudur ve enfeksiyon tedavisi ile kaybolur (46). *H. pylori* gastriti öncelikle midenin antrum bölümünde yerleşir. Zamanla korpus bölümüne ilerler ve pangastrit yapar. *H. pylori* ile ilişkili kronik gastritin temel histopatolojik özellikleri; yüzey epitelyumunda dejenerasyon, glandüler atrofi, plazma hücreleri, monosit ve lenfositlerden oluşan inflamatuvar hücre infiltrasyonudur (21,47).

Kronik *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik asit sekresyonu üzerindeki sonuçları değişkendir. Enfeksiyon, bir uçta hipergastrinemi ve gastrik asit hipersekresyonundan, diğer uçta hipoklorhidri veya aklorhidriye kadar uzanan bir dizi değişikliğe neden olabilir. Antral gastritte en fazla etki somatostatin salgılayan D hücreleri üzerindedir, luminal asidin antral gastrin salınımı üzerindeki feedback inhibisyonu azalır. Oluşan hipergastrinemi, parietal hücrelerin aşırı uyarılmasına ve ılımlı asit hipersekresyonuna neden olur. Kronik *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda yemekle uyarılan gastrin salınımı da fazladır. Sonuç olarak, kronik antral gastrit, antral G hücrelerinin hiperfonksiyonuna, uygun olmayan hipergastrinemiye, asit hipersekresyonuna ve potansiyel duodenal ülser hastalığına neden olur. Pangastrit veya korpus gastritinde ise *H. pylori* enfeksiyonu

asit sekresyonu yapan bölgeleri etkileyerek sonunda hipo veya aklorhidri ve gastrik atrofi oluşturur (şekil 3) (46).

2.2.2. Mide Ülseri

Mide ülseri, duodenal ülsere göre *H. pylori*'ye daha az oranda bağlıdır (% 50–80) (28). *H. pylori* ile indüklenen gastrik ülseri olan hastalarda değişik derecelerde gastrik atrofi ve intestinal metaplazinin eşlik ettiği kronik gastrit tablosu vardır (şekil 3) (46).

2.2.3. Duodenal Ülser

Duodenal ülserli hastaların % 90' indan fazlasında *H. pylori* infeksiyonu vardır. *H. pylori* ile ilişkili olan duodenal ülser patogenezinde sırasıyla; *H. pylori*'nin uyarıcı etkisiyle G hücrelerinden gastrin sekresyonu artar ve hipergastrinemi gelişir. Midenin fundus bölümünden ve duodenumun Brunner bezlerinden salgılanan pepsin ve kandaki proenzimleri olan pepsinojen 1 ve pepsinojen 2 düzeyleri artar. Gastrin ve pepsinojen, mide asit sekresyonunu artırır. Mide asidi artınca duodenumda aşırı asit yükü oluşur. Bu durum duodenumda gastrik metaplazi odakları oluşturur. *H. pylori*, bu odaklara yerleşerek kolonize olur ve duodenit geliştirir. Duodenit geliştikten sonra genetik, çevresel faktörler ve konağın immün yanıtı gibi kolaylaştırıcı faktörlerle duodenal ülser gelişir. Araştırmalarda asit baskılayıcı tedavilere antibiyotik eklenmesinin ülser iyileşmesini hızlandırdığı ve *H. pylori* eradikasyonu sağlandığında daha az nüks görüldüğü bulunmuştur. Bu da *H. pylori*'nin duodenal ülser patogenezindeki rolünü desteklemektedir (şekil 3) (21,28,46).

2.2.4. Non Ülser Dispepsi (fonksiyonel dispepsi)

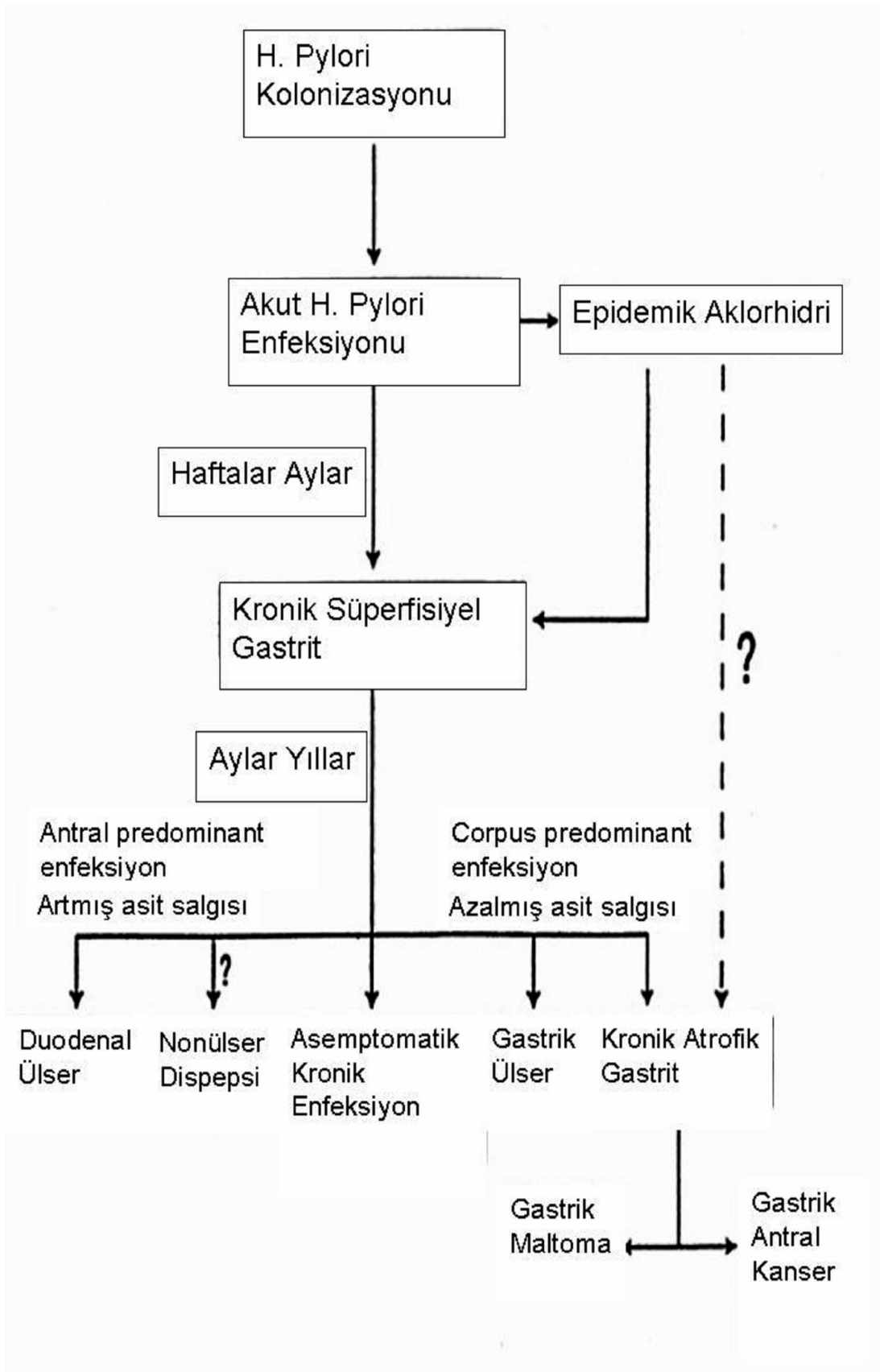
Üç hafta veya daha uzun süredir dispeptik semptomlar olmasına rağmen endoskopik, radyolojik veya biyokimyasal olarak herhangi bir patolojinin bulunmaması halidir. Abdominal ağrı, yemek sonrası dolgunluk, gaz, bulantı ve kusma, retrosternal yanma semptomlarından biri veya birkaçı birlikte görülebilir. *H. pylori* sıklığı yüksek oranda pozitif bulunmuştur (21). Sebebi tam olarak bilinmemektedir. Hastaların % 50' den fazlasının gastrik boşalma zamanı uzamıştır. Sıklıkla antiasit ilaçlara veya H₂ reseptör antagonistlerine yanıt verir (şekil 3) (46).

2.2.5. Mide Kanseri

Gastrik adenokarsinomun yüksek oranda gözleendiği bölgelerde *H. pylori* insidansının yüksek olduğu gözlenmiştir. Bazı araştırmacılar, özellikle çocuklukta kazanılmış enfeksiyona sekonder gelişen uzun süreli gastrik inflamasyonun, gastrik mukozayı çevresel karsinojenlerin etkilerine açık hale getirdiği fikrini savunmuşlardır (48). Kronik *H. pylori* enfeksiyonu midede asit salgılayan bölgeleri etkileyerek hipo veya aklorhidri ve gastrik atrofi oluşturur. Mukozal koruyucu faktörlerin kaybına bağlı olarak gastrik ülserasyon gelişir. Uzun süreli gastrik atrofi midede intestinal metaplazi ve mide kanserine yol açabilir (46) (şekil 3). *H. pylori* enfeksiyonunun mide epitel hücrelerinin proliferasyonunu belirgin olarak artırdığı, *H. pylori* eradikasyonu sonrasında ise bu proliferasyonun normale döndüğü gözlenmiştir. Mide kanseri oluşumunda *H. pylori* kadar çevresel iritan maddeler, nitritler ve beslenme yetersizliğinin de rolü vardır (21).

2.2.6. MALT Lenfoma

Mide lenfomalarının çoğu B lenfositlerinden kaynaklanır ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması olarak adlandırılır. *H. pylori* enfeksiyonunun bu tümör tipiyle yakın ilişkisi vardır. Enfeksiyonun neden olduğu kronik T hücresi stimülasyonu, B lenfosit kaynaklı tümörleri oluşturan sitokin üretimine neden olur. Retrospektif biyopsi araştırmalarında MALT lenfomasının % 90'ının *H. pylori* ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Klinik olarak mide ülserine benzer. Semptomlar dispepsiden kusma ve gastrointestinal kanamaya kadar değişebilir. Kilo kaybı ve abdominal kitle daha çok yüksek dereceli tiplerinde gözlenir. Son araştırmalarda, ileri olmayan evrelerde *H. pylori* eradikasyonunun tümör histolojisinde düzelme sağladığı gösterilmiştir (28,47,49) (şekil 3).



Şekil 3 : *H. pylori*'nin gastrik kolonizasyonunun potansiyel sonuçları (46).

2.3. Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus glukoz ve diğler enerji veren moleküllerin bozulmuş metabolizması ile akut ve kronik komplikasyonlar ile seyreden kronik bir hastalıktır (50-53). Diyabet ortak tetikleyici faktörün hiperglisemi olduğu değişik patojenik mekanizmalarla oluşan bir grup bozukluğın birleşiminden meydana gelmektedir. Dünya genelinde diyabet, 135 milyondan fazla insanı etkilemektedir, bu rakamın 2025 yılında 300 milyona ulaşması beklenmektedir. DM için halen geçerli ADA tanı kriterleri (54);

- 1) Klasik diyabet semptomları (poliüri, polidipsi ve açıklanamayan kilo kaybı) + rasgele ölçülen glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dl veya daha yüksek olması
- 2) Açlık plazma glukoz konsantrasyonunun 126 mg/dl veya daha yüksek olması
- 3) 75 gram oral glukoz tolerans testi'nde yükleme sonrası ikinci saat glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dl veya daha yüksek olması

2.4. Dispepsi

Dispepsi postprandial dolgunluk, şişkinlik veya bulantı ile karakterize olabilen persistan veya tekrarlayan subjektif üst abdominal rahatsızlık veya epigastrik ağrı şeklinde tarif edilebilir. Dispepsi, bir hastalık olmaktan ziyade semptomlar kompleksidir. Dispeptik semptomlar şunlardır; epigastrik ağrı, epigastrik rahatsızlık hissi, epigastrik yanma, epigastrik dolgunluk, ağırlık hissi, şişkinlik, çabuk doyma, epigastrik huzursuzluk-sıkıntı, bulantı, kusma, geğirme ve flatulans. Karşımıza dispepsi ile gelen hastalar organik ve fonksiyonel iki kategoriye ayrılır. Dispepsi tanısında bulamamak daha önemlidir, tanı organik olayları dışlamakla konur. Dispepsi her zaman yemekle ilişkili semptomlarla sınırlı değildir, çünkü peptik ülserli hastalar sıklıkla yemeklerle ilişkisiz ağrıdan yakınır. Dispeptik yakınmalarla ilk kez başvuran hastalarda yakınmaların nedenini ortaya koymak için yapılan incelemelerde bir patoloji (ülser vs.) ortaya konursa, organik dispepsi; lokal veya sistemik bir hastalık sorumlu olarak bulunamamış ise fonksiyonel dispepsi olarak kabul edilir. Endoskopinin yaygın kullanımı ile birlikte, çoğunda yeni başlangıçlı fonksiyonel dispepsisi (veya nonülser) olan bazı hastalarda yapısal kanıtlar bulunmuştur.

2.5. DM ve Dispepsi

DM'a çeşitli gastrointestinal sistem anormallikleri eşlik edebilir. Bu durum gastrointestinal patolojiden daha çok otonom nöropati ve bununla ilgili motilite bozukluğu ile ilgilidir (9,10).

Gastrointestinal semptomlar, DM'lu hastalarda sık görülebilir. Bu semptomlar minör dispeptik semptomlardan gastroparezi'ye kadar değişen spektrumda olabilir ve etyopatolojisi hala tam net değildir. Bazı çalışmalar, otonomik nöropati ve zayıf glisemik kontrolü sorumlu tutarken bazılarıda bu semptomları karmaşık sebeplere bağlamaktadır (55).

2.6. Dispepsi ve *H. pylori*

Dispepsili hastaların semptomları, peptik ülserli hastaların semptomlarından ayrılamaz. *H. pylori* gastriti, fonksiyonel dispepsili hastaların % 30-60'ında bulunur ancak genel popülasyonda tamamen asemptomatik kişilerde de sıktır, bundan dolayı *H. pylori* ve fonksiyonel dispepsi arasında ilişki kurulamamıştır. Fakat yine de küçük bir grup hastada önemli olabilir.

Fonksiyonel dispepside *H. pylori*'nin yeri ve etkisi hakkında kesin bir karar yoktur. Batı ülkelerinde yetişkinlerin 1/3'ü *H. pylori*'li olmasına rağmen asemptomatiktir. Genel olarak düşük sosyoekonomik durum ve ileri yaş, artmış prevalansla korelasyon göstermektedir. Özellikle üçüncü dünya ülkelerinde çok yüksek infeksiyon insidansı vardır. Prevalans, % 90'lara ulaşmaktadır. Öyle görülüyor ki *H. pylori*'si olan şahısların çoğu semptomsuzdur (56).

Sonuç olarak günümüzde etyolojisi ve patogenezi açıklanmamış bir hastalık olan fonksiyonel dispepsi ile biyolojisi ve insan gastrointestinal sistemindeki etkileri henüz tam olarak bilinmeyen bir organizma olan *H. pylori* arasındaki ilişkiler hakkındaki bilgiler birbiri ile çelişir niteliktedir. Fonksiyonel dispepsi'nin tedavi protokolünde *H. pylori* eradikasyonu en son alternatif olarak kabul görmektedir. Her fonksiyonel dispepsi'li hastada *H. pylori* eradikasyonu gereksizdir. Semptomları antiasit, H₂ reseptör antagonisti ile tedaviye rağmen devam eden hastalarda ve özellikle ülsere benzer dispepside *H. pylori* eradikasyonu yapılabilir. Çok sık görülen bir durum olan fonksiyonel dispepsi'li hastaların tümünde *H. pylori* aranması yararına göre pahalı bir yöntemdir. Fonksiyonel dispepside henüz semptomatik tedavi dışında tedavi alternatifi kısıtlıdır.

2.7. DM ve *H. pylori*

Diabetes Mellitus'lu hastaların infeksiyona yatkın olduğu eskiden beri bilinen bir husustur. DM'lu hastalarda, immün sistemin yetersizliğinden dolayı kronik infeksiyon daha sık ve şiddetlidir. *H. pylori*'nin dünya popülasyonunun kabaca % 50'sinin mide mukozasını etkilediği bilinmektedir. *H. pylori* genellikle çocukluk çağında edinilen ve yaşam boyu kronik infeksiyona yol açan bir etkidir (57-59). DM'da *H. pylori* sıklığının araştırıldığı ve serolojik antikorların varlığına dayalı çalışmalarda bu mikro-organizma, diyabetik hastalarda yüksek prevalansta gösterilmişse (14,60,61,62), son zamanlarda yapılan üç çalışmada DM ile *H. pylori* arasında doğrudan bir ilişki bulunamamıştır (55,59,63). DM'lu hastalarda yapılan sekiz prevalans çalışmasında ise, *H. pylori* prevalansının % 30-70 arasında değiştiği bildirilmiştir.

Sonuç olarak; *H. pylori* prevalansı ile DM arasında pozitif korelasyon olduğunu gösteren çalışmalar bildirilmesine karşın, ilişki saptanamayan ya da negatif ilişki olduğunu gösteren çalışmalarda bulunmaktadır (11-14).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza Aralık 2006 ile Mart 2008 tarihleri arasında Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Gastroenteroloji ve Endokrinoloji Kliniğine dispeptik yakınmalarla başvuran 128 hasta dahil edildi. Bu çalışmaya Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu tarafından onay alınarak başlandı ve her hastadan imzalı olur formu alındı. Hastalar, diyabetik ve non-diyabetik olarak iki gruba ayrıldı. Çalışmadan dışlanma kriterleri; son 6 ay içerisinde *H. pylori* eradikasyon tedavisi almış olmak, son 2 ay içerisinde proton pompa inhibitörü (PPI), H₂ reseptör antagonisti, antiasit, Non-steroid antiinflamatuvar ilaç, steroid vb. ilaç kullanımı öyküsü olmak, obez olmak (BMI>30), diyabete bağlı komplikasyonlar (diyabetik nefropati ve diyabetik nöropati gibi). Toplam 128 hasta içinden, 21 kişi de PPI vb. ilaç kullanımı nedeni ile, 8 kişi de eradikasyon tedavisi almış olduğu için, 13 kişi de diyabete bağlı komplikasyonlar geliştiği için, 5 kişi de obez olduğu için çalışmadan çıkarıldı. 14 erkek, 67 kadın toplam 81 hastaya %10'luk xylocain ile boğazın lokal anestezisinden sonra Pentax EPM-3300 marka videogastroskop ile Özefagogastroduodenoskopi (ÖGD) yapıldı ve işlem sırasında, antrumdan ve korpusdan histopatolojik inceleme için ikişer adet biyopsi alındı. Genotipik inceleme için de yine antrum ve korpusdan ikişer adet biyopsi örnekleri %20'lik dextroz içerisinde saklanarak -20 °C'de laboratuvara ulaştırıldı.

Genotipik inceleme için alınan örnekler işleninceye kadar, 1 ml Ph 7.4 PBS (Phosphate Buffer Saline) solüsyonu içeren ağız kapaklı steril ependorf tüplerine alınarak laboratuvarında -20 °C'de muhafaza edildi. Laboratuvarında biyopsi örnekleri antrum ve korpus kaynaklı olduğunu belirtecek şekilde numaralandırıldı ve kayıt altına alındı.

3.1. PBS (Phosphate Buffer Saline) hazırlanması

Biyopsi örneklerinin laboratuvara taşınması ve saklanması amacı ile kullanıldı.

NaCl	17 g/l
NaH ₂ PO ₄	0.44 g/l
K ₂ HPO ₄	2.4 g/l

Belirtilen maddeler tartılarak 1 litre distile su içinde çözüldükten sonra otoklavda 121 °C'de 15 dk. steril edildi. Steril ependorf tüplerine birer mililitre dağıtıldı.

3.2. PCR uygulamaları

Elde edilen mide biyopsi örneklerinden QIAamp doku kiti ile DNA ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraktlarda *H. pylori* genom varlığını tespit etmek için iki farklı primer çifti (ureC (glmM) ve ureA) kullanıldı ve bunların birbirine olan üstünlükleri değerlendirildi. Daha sonra *H. pylori* genomunu ihtiva eden örnekler virulansda sorumlu gen bölgelerinin (cagA, vacA S1/S2, vacA M1/M2) varlığını belirlemek için farklı spesifik primerler ile ileri çalışmaya alındı.

3.3. Biyopsi örneklerinden DNA ekstraksiyonu

H. pylori DNA'sının ekstraksiyonu için (QIAGEN QIAamp DNA Mini Kit 4) doku ekstraksiyon kiti kullanıldı.

3.4. Ekstraksiyon kitinin uygulanışı

Ekstraksiyon kitinin uygulanması aşağıdaki şekilde gerçekleştirildi:

1. Mideden alınan yaklaşık 25 mg doku örnekleri 1.5 ml'lik ependorf tüplerine alındı. Bunların üzerlerine 180 µl ATL buffer (doku lizis tamponu) ve 20 µl pK (proteinaz K) eklenip santrifüj edildi ve 56 °C'de bir gece bekletilerek tam olarak erimesi sağlandı.
2. İnkübasyondan sonra kısa süre ile santrifüj edilerek kapakta sıvı kalmaması sağlandı. Üzerine 200 µl AL buffer (guanidine hydrochloride + guanidine tuzları) eklenip 15 sn vorteks yapıldı ve 70 °C'de 10 dk bekletildi. Tekrar kısa süre ile santrifüj edildi.
3. Üzerine 200 µl etanol (% 96-100) eklenip 15 sn. santrifüj edildi.
4. Karışım 2 ml'lik toplama tüpü içindeki QIAamp spin kolonlara kenarlarını ıslatmadan boşaltıldı ve 6000 x G'de 1 dk. santrifüj edildi (HERAEUS Biofuge Primo R). Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.
5. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW1 buffer (yıkama solusyonu: guanidium isothiocyanate + ethanol) eklenip 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon yeni bir toplama tüpüne aktarıldı, içi sıvı dolu olan tüp atıldı.
6. Filtrenin üzerine kenarlarını ıslatmadan 500 µl AW2 buffer (yıkama solusyonu: yüksek konsantrasyonda tuz + ethanol + sodium azide) eklenip 20000 x G'de 3 dk santrifüj edildi (Gerek duyulduğunda bu aşama tekrar edildi).
7. Spin kolon yeni temiz bir 1.5 ml'lik ependorf tüpüne aktarıldı. Üzerine 200 µl AE buffer veya distile su eklendi ve oda ısısında 1 dk bekletilip, 6000 x G'de 1 dk santrifüj edildi. Spin kolon atıldı ve tüpteki sıvıda ekstrakte edilmiş DNA kaldı.

3.5. Ekstrakte materyalde DNA miktarının spektrofotometre ile ölçülmesi

Ekstrakte edilmiş DNA içeren ependorf tüpleri, spektrofotometrede (CHEBIOS s.r.l. Optimum-One UV-VIS Spectrophotometer) 260 nm dalga boyunda absorbansı ölçüldü. DNA derişimi ($\mu\text{l/ml}$)= $\text{OD}_{260} \times \text{Seyreltme faktörü} \times 50$ formülü ile hesaplandı ve yoğunluklarının amplifikasyonlar için yeterli olduğu ($>3 \mu\text{g/ml}$) tespit edildi. Daha sonra bu tüpler araştırılacak olan gen bölgelerinin amplifikasyonları tamamlanıncaya kadar -20°C 'de saklandı.

3.6. Amplifikasyon

Amplifikasyon aşamasının gerçekleştirilmesi için Termal Cyler (APPLIED BIOSYSTEMS 2720 Termal Cyler) kullanıldı.

3.6.1. *H. pylori* ureA geninin amplifikasyonu

UreA genini tespit etmek amacıyla bu gene spesifik 411 bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan HPU1 5'-GCC AAT GGT AAA TTA GTT CC-3' ve HPU2 5'-CTC CTT AAT TGT TTT TAC AT-3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril bidistile su ile $100 \text{ pmol}/\mu\text{l}$ olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Toplam reaksiyon hacmi $50 \mu\text{l}$ olacak şekilde PCR buffer (10X Mg free, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100) $5 \mu\text{l}$, MgCl_2 25mM) $5 \mu\text{l}$, dNTP karışımı (her biri 10 mM) $1 \mu\text{l}$, herbir primer çiftinden (stok $100 \text{ pmol}/\mu\text{l}$) $1 \mu\text{l}$, Taq DNA polimeraz (Vivantis $5 \text{ u}/\mu\text{l}$) $0.25 \mu\text{l}$, steril ultra pür su $26.75 \mu\text{l}$ eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak distile su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma ekstrakte edilen DNA örneğinden $10 \mu\text{l}$ eklendi ve amplifikasyon için termal cyler'a yerleştirildi.

Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı:

1. 94°C 'de 4 dak. - ilk denaturasyon
 2. 94°C 'de 1 dk. – denaturasyon
 - 56 $^\circ\text{C}$ 'de 1.5 dk. – bağlanma
 - 72 $^\circ\text{C}$ 'de 1 dk. – uzama
- } 35 döngü
3. 72°C 'de 7 dak. - son uzama ve $+4^\circ\text{C}$ 'de bekleme konumu.

Amplifikasyon ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek incelendi.

3.6.2. *H. pylori ureC (glmM)* geninin amplifikasyonu

UreC genini tespit etmek amacıyla bu gene spesifik 294 bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan glmM-F 5'- AAG CTT TTA GGG GTG TTA GGG GTT T -3' ve glmM-R 5'- AAG CTT ACT TTC TAA CAC TAA CGC -3' primerleri sentez ettirildi. (Ella Biotech GmbH, Deutschland) Liyofilize halde gelen primerler steril bidistile su ile 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Toplam reaksiyon hacmi 50 μl olacak şekilde PCR buffer (10 X Mg free, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100) 5 μl, MgCl₂ (25mM) 5 μl, dNTP karışımı (her biri 10 mM) 1 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0.5 μl, Taq DNA polimeraz (vivantis, 5 u/μl U) 0.25 μl, steril distile su 32.75 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak distile su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma ekstrakte edilen DNA örneğinden 5 μl eklendi ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi.

Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı:

1. 94 °C'de 4 dak. - ilk denaturasyon
 2. 94 °C'de 1 dk. - denaturasyon
 - 57 °C'de 1 dk. - bağlanma
 - 72 °C'de 1 dk. - uzama
- } 35 döngü
3. 72 °C'de 7 dk.- son uzama ve +4 °C'de bekleme konumu.

Amplifikasyon ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek incelendi.

3.6.3. *H. pylori cagA* geninin amplifikasyonu

CagA genini tespit etmek amacıyla bu gene spesifik 349 bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan CagA F 5'- GAT AAC AGG CAA GCT TTT GAG G -3' ve CagA R 5'- CTG CAA AAG ATT GTT TGG CAG A - 3' primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril bidistile su ile 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Toplam reaksiyon hacmi 50 μl olacak şekilde PCR buffer (10 X Mg free, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100) 5 μl, MgCl₂ (25mM) 5 μl, dNTP karışımı (her biri 10 mM) 1 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0.5 μl, Taq DNA polimeraz (Vivantis 5 u/μl U) 0.25 μl, steril distile su 27.7 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak distile su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma ekstrakte edilen DNA örneğinden 10 μl eklendi ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi.

Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı:

1. 94 °C'de 4 dk. - ilk denaturasyon
 2. 94 °C'de 1 dk. - denaturasyon
 - 57 °C'de 1 dk. - bağlanma
 - 72 °C'de 1 dk. - uzama
- } 35 döngü
3. 72 °C'de 7 dk.- son uzama ve +4 °C'de bekleme konumu.

Amplifikasyon ürünleri % 2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülerek incelendi.

3.6.4. *H. pylori vacA S1/S2* geninin amplifikasyonu

VacA S genini tespit etmek amacıyla bu gene spesifik 259 bp (S1) ve 286 (S2) bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan vacA-s F 5'-ATG GAA ATA CAA CAA ACA CAC ve vacA-s R 5'-CTG CTT GAA TGC GCC AAA C primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril bidistile su ile 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Toplam reaksiyon hacmi 50 μl olacak şekilde PCR buffer (10 X Mg free, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100) 5 μl, MgCl₂ (50mM) 2 μl, dNTP karışımı (her biri 10 mM) 1 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0.5 μl, Taq DNA polimeraz (vivantis 5 u/μl) 0.25 μl, steril distile su 35.75 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak distile su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma ekstrakte edilen DNA örneğinden 5 μl eklendi ve amplifikasyon için termal cyclus'a yerleştirildi.

Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı:

1. 94 °C'de 4 d k. - ilk denaturasyon
 2. 94 °C'de 1 dak. - denaturasyon
 - 57 °C'de 1 dak. - bağlanma
 - 72 °C'de 1 dak. - uzama
- } 35 döngü
3. 72 °C'de 7 dak.-son uzama ve +4 °C'de bekleme konumu.

Amplifiye olan S1 ve S2 gen bölgelerinin elektroforezde ayırımını artırmak için % 3'lük agaroz jel elektroforezi ile değerlendirildi.

3.6.5. *H. pylori* vacA M1/M2 geninin amplifikasyonu

VacA M genini tespit etmek amacıyla bu bölgeye spesifik 570 (M1) ve 645 (M2) bp uzunluğundaki gen fragmentini hedef alan vacA-m F 5'-CAA TCT GTC CAA TCA AGC GAG ve vacA-m R 5'-GCG TCA AAA TAA TTC CAA GG primerleri sentez ettirildi. Liyofilize halde gelen primerler steril bidistile su ile 100 pmol/μl olacak şekilde dilüe edilerek stok primerler hazırlandı. Toplam reaksiyon hacmi 50 μl olacak şekilde PCR buffer (10 X Mg free, 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 0,1% Triton X-100) 5 μl, MgCl₂ (50mM) 1 μl, dNTP karışımı (her biri 10 mM) 1 μl, herbir primer çiftinden (stok 100 pmol/μl) 0.5 μl, Taq DNA polimeraz (vivantis 5 u/μl) 0.25 μl, steril distile su 36.75 μl eklenerek amplifikasyon karışımı hazırlandı. Negatif örnek olarak distile su kullanıldı. Hazırlanan bu karışıma ekstrakte edilen DNA örneğinden 5 μl eklendi ve amplifikasyon için termal cycler'a yerleştirildi.

Amplifikasyon aşamaları şu şekilde programlandı:

1. 94 °C'de 4 dk. - ilk denaturasyon
 2. 94 °C'de 1 dk. - denaturasyon
 - 57 °C'de 1 dk. - bağlanma
 - 72 °C'de 1 dk. - uzama
- } 35 döngü
3. 72 °C'de 7 dk.-son uzama ve +4 °C'de bekleme konumu.

Amplifiye olan M1 ve M2 gen bölgelerinin elektroforezde ayırımını kolaylaştırmak için jel konsantrasyonu artırılarak % 3'e çıkarıldı ve elektroforez gerçekleştirildi.

3.7. İstatistiki Değerlendirmeler

Yaş ortalamalarının karşılaştırılmasında student-T testi uygulandı. Cinsiyet, endoskopik ve genotipik bulguların dağılımının karşılaştırılmasında ki-kare testi uygulandı. İstatistiki değerlendirmeler, SPSS 16.0 paket programı ile yapıldı. P değeri, 0.05'in altındaki değerler anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Hasta Karakteristiđi

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji ve Endokrinoloji kliniğine dispeptik yakınmalarla başvuran 128 hasta arasından yaşları 18 ile 75 arasında değişen 14 erkek (%18), 67 kadın (%82) toplam 81 hasta çalışmaya alındı. Tüm hastaların yaş ortalaması 46,51±12,51, erkek hastaların yaş ortalaması 51,28±14,13, kadınların yaş ortalaması 45,52±12,03 idi.

Çalışma grubundaki hastaların 46'sı Diabetes Mellitus'lu (%56) iken (DM grubu), 35'inde Diabetes Mellitus saptanmadı (Non-DM grubu) (%44). DM'lu hastaların 3'ü erkek (%6,5) 43'ü kadın (%93,5) iken, Non-DM'lu hastaların 11'i erkek (%31,5), 24'ü kadındı (%68,5).

4.2. *H. pylori* sıklığı

Çalışmaya alınan toplam 81 hastanın 76'sında histoloji ve/veya PCR ile *H. pylori* pozitifken (%93), 5 kişide *H. pylori* saptanmadı (%7)

i. Non-DM grubu :

35 hastanın 32'sinde *H. pylori* pozitifken (%91), 3 hastada *H. pylori* saptanmadı (%9).

ii. DM grubu :

46 hastadan 44'ünde *H. pylori* pozitifken (%96), 2 hastada *H. pylori* saptanmadı (%4). (Tablo-1).

DM ve Non-DM grupları arasında *H. pylori* pozitifliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,434).

Tablo-I : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda *H. pylori* sıklığı

	Non-DM	DM	Toplam
H. pylori pozitif	32/35 (% 91)	44/46 (% 96)	76/81 (% 93)
H. pylori negatif	3/35 (% 9)	2/46 (% 4)	5/81 (% 7)

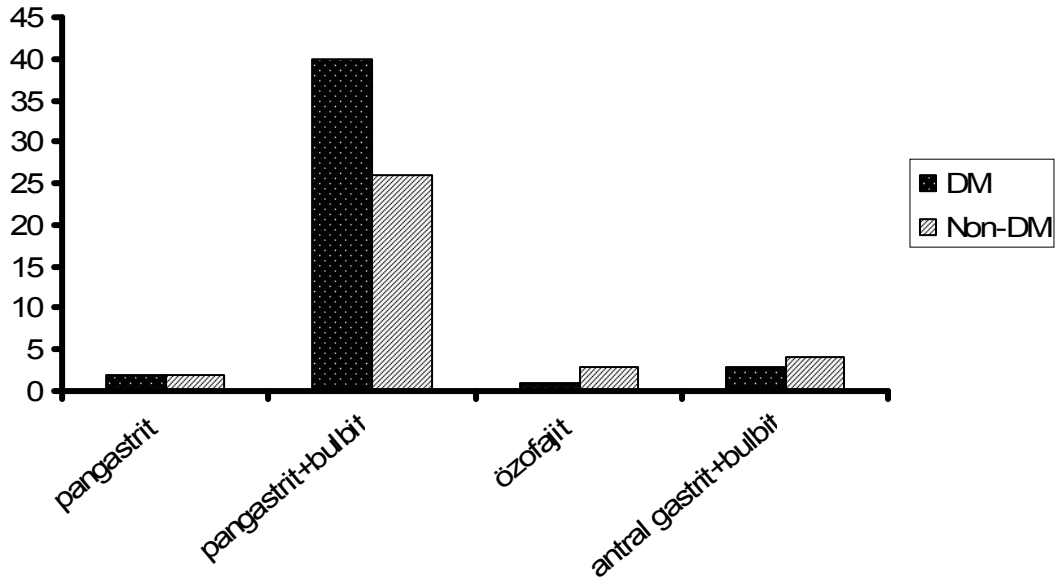
4.3. Endoskopik olarak saptanan gastroduodenal lezyonlar

Tüm Hasta grubunda, hastaların çoğunda birden fazla tanı bir aradaydı (Örneğin; pangastrit + bulbit + hiyatal herni + özofajit, gibi). Bu durumda istatistiksel olarak karmaşa oluşmaması için endoskopik tanılar lokalizasyon ve yaygınlığına göre 4 ana başlık üzerinden değerlendirildi. Bu tanılar pangastrit, pangastrit + bulbit, özofajit, antral gastrit + bulbit olarak belirlendi. Çalışma grubumuzda sadece birer duodenal ve gastrik ülser olması nedeniyle bu hastalar birlikte oldukları guruplara dahil edildi.

DM grubundaki 46 hastanın 2'sinde pangastrit (%4), 40'ında pangastrit + bulbit (%87), 1'inde özofajit (%2), 3'ünde de antral gastrit + bulbit saptandı (%6).

Non-DM grubundaki 35 hastadan ise 2'sinde pangastrit (%6), 26'sında pangastrit + bulbit (%74), 3'ünde özofajit (%9), 4'ünde de antral gastrit + bulbit saptandı (%11) (Şekil-4).

DM ve Non-DM'lu gruplar arasında endoskopik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,44$).



Şekil 4 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda endoskopik bulguların dağılımı

Endoskopik olarak pangastrit + bulbit tanısı alan toplam 66 hastanın 40'ında DM saptanırken, 26 hastada DM saptanmadı. Bu iki grup arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,08$)

4.4. Genotip dağılımı

Genotip dağılımı, alınan mide antrum ve/veya korpus biyopsilerinden PCR'da *H. pylori* pozitif saptanan hastalar üzerinden değerlendirildi. Bu hastalar *cagA* ve *vacA* pozitif veya negatif olmasına göre; ayrıca *vacA*'nın 4 ayrı subtipine (S1, S2, M1, M2) göre değerlendirildi.

Çalışmaya alınan tüm hasta grubunda 81 hastanın 43'ünde *cagA* pozitifken (%53), 38 hastada da negatif (%47) olarak saptandı. *VacA* ise 63 hastada pozitifken (%78), 18 hastada da negatif (%22) olarak saptandı.

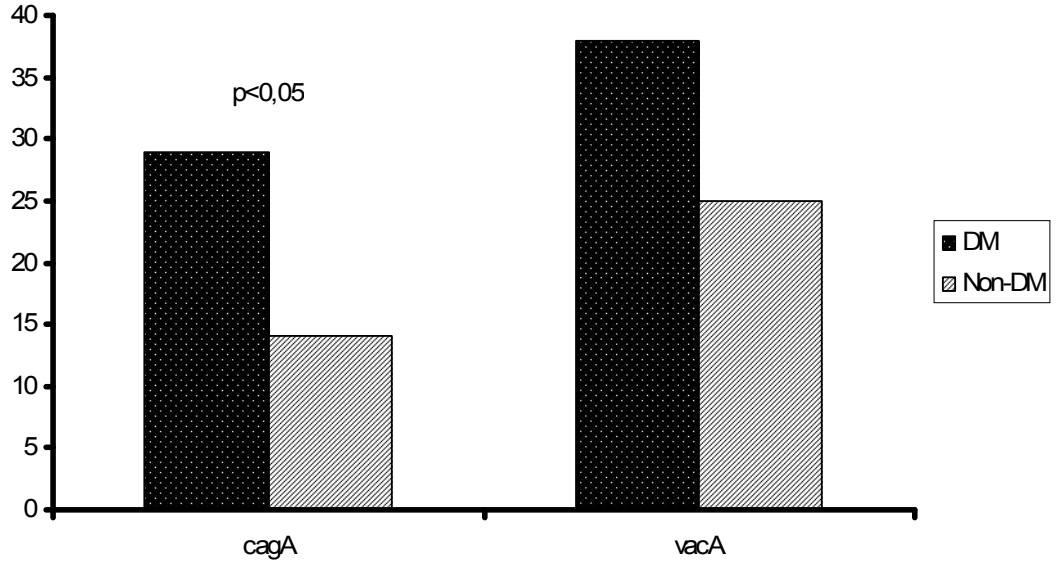
i. Non-DM grubu :

Non-DM grubundaki 35 hastadan alınan antrum ve/veya korpus biyopsilerinden 14 hastada *cagA* pozitif saptanırken (%40), 21 hastada negatif saptandı (%60). *VacA* ise 25 hastada pozitifken (%71), 10 hastada negatif saptandı (%29). Ayrıca *vacA* subtiplerine göre Non-DM grupta 14 hastada S1 (%40), 7 hastada da S2 pozitifken (%20), 14 hastada S subtipi saptanmadı (%40). M subtipine göre; 10 hastada M1 (%28), 10 hastada M2 (%28), 3 hastada hem M1 hem M2 pozitifken (%9), 12 hastada M subtipi saptanmadı (%35).

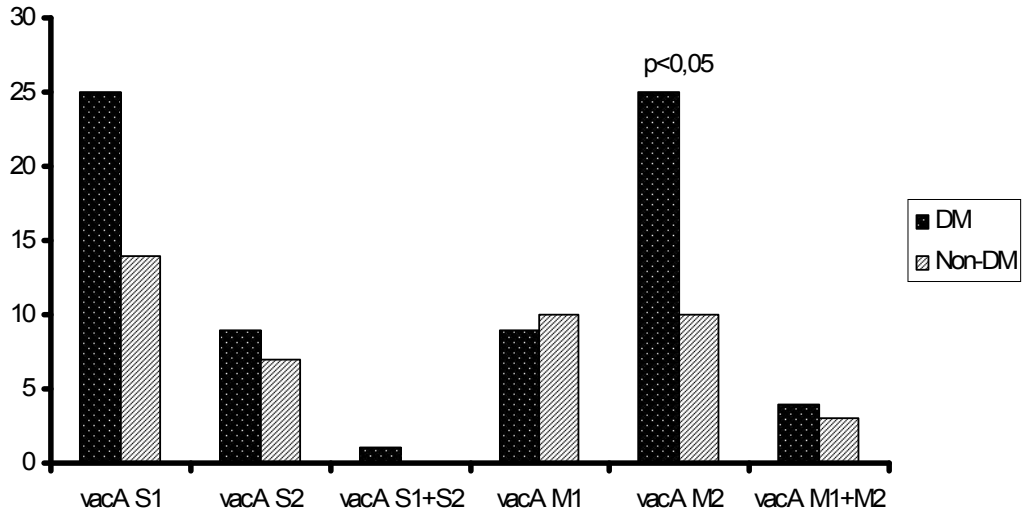
ii. DM grubu :

DM grubundaki 46 hastadan alınan antrum ve/veya korpus biyopsilerinden *cagA* 29 hastada pozitif saptanırken (%63), 17 hastada negatif saptandı (%37). *VacA* ise 38 hastada pozitifken (%83), 8 hastada negatif saptandı (%17). Ayrıca *vacA* subtiplerine göre DM'lu grupta 25 hastada S1 (%54), 9 hastada S2 pozitifken (%20), 1 hastada hem S1 hem S2 (%2) pozitif saptandı. 11 hastada da S subtipi saptanmadı (%24). M subtipine göre; 9 hastada M1 (%20), 25 hastada M2 (54), 4 hastada hem M1 hem M2 pozitifken (%9), 8 hastada M subtipi saptanmadı (%17).

DM grubunda *cagA* pozitifliği, Non-DM grubuna göre artmış olarak saptandı. Bu artış da istatistiki olarak anlamlıydı ($p=0,04$). *VacA* pozitifliği açısından ise DM ve Non-DM gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı (Şekil-5). Ancak, *vacA* subtiplerine göre değerlendirildiğinde; sadece *vacA* M2'nin DM grubunda istatistiki olarak anlamlı yüksek olduğu ($p=0,01$), diğer subtipler arasında istatistiki fark olmadığı saptandı (*VacA* M $p=0,11$; *VacA* S $p=0,35$) (Şekil-6).



Şekil 5 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda genotipik dağılım



Şekil 6 : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerine göre genotipik dağılım

4.5. Genotipik özelliklere göre endoskopik bulguların dağılımı

4.5.1. CagA ve vacA pozitif olan hastalarda endoskopik bulgular

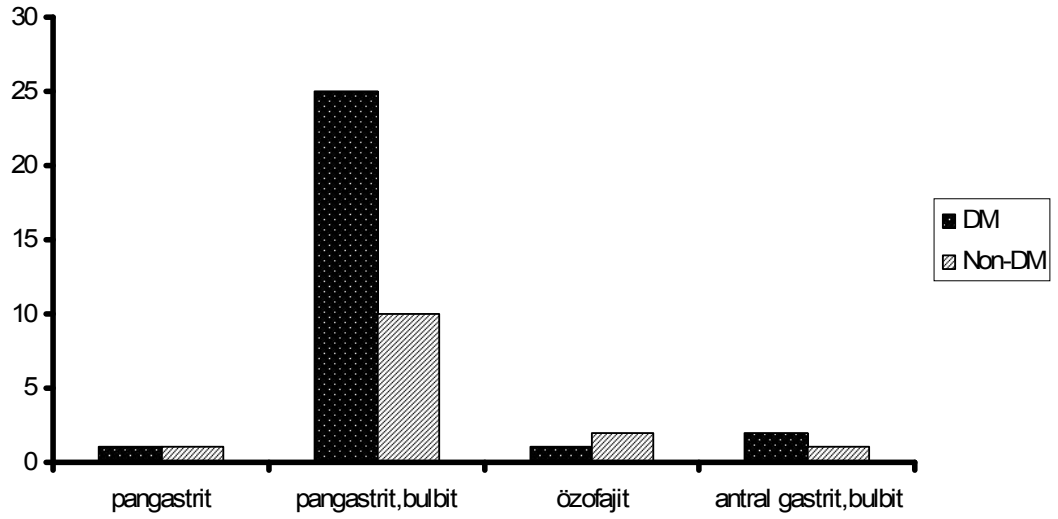
Çalışmaya alınan toplam 81 hasta içerisinde 43 hastada hem cagA hemde vacA birlikte pozitif saptandı. Bu 43 hastanın 29'unda Diabetes Mellitus mevcut iken (%67) 14 hastada Diabetes Mellitus saptanmadı (%33).

i. Non-DM grubu :

Non-DM gruptaki 14 hastanın 1'inde pangastrit (%7), 10'unda pangastrit ve bulbit (%71), 2 hastada özofajit (%15), 1 hastada antral gastrit ve bulbit saptandı (%7).

ii. DM grubu :

DM grubundaki 29 hastadan ise 1'inde pangastrit (%3), 25 hastada pangastrit ve bulbit (%87), 1 hastada özofajit (%3), 2 hastada antral gastrit ve bulbit saptandı (%7). Bu grupta DM ve Non-DM'lu hastalar arasında endoskopik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=0,54$) (Şekil-7).



Şekil 7 : CagA ve vacA pozitif olan olgularda endoskopik bulgular

4.5.2. CagA pozitif vacA negatif olan hastalarda endoskopik bulgular

Çalışmamıza alınan hastalar içinde cagA pozitifken vacA negatif olan hasta yoktu.

4.5.3. CagA ve vacA negatif olan hastalarda endoskopik bulgular

Çalışmaya alınan hastalarımızdan 18 hastada hem cagA hemde vacA negatif saptandı (%22). Bu 18 hastanın ise 8'inde DM varken (%44), 10 hastada DM saptanmadı (%56).

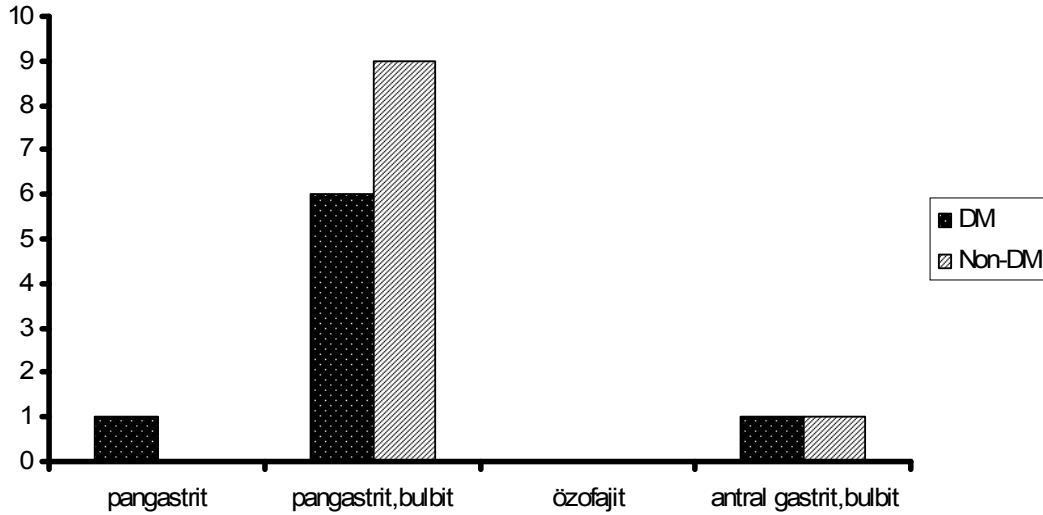
i. Non-DM grubu :

Bu grupta, 9 hastada pangastrit ve bulbit (%90), 1 hastada da antral gastrit ve bulbit saptanırken (%10), sadece pangastrit ve sadece özofajit tanısı alan hasta yoktu.

ii. DM grubu :

DM grubundaki 8 hastadan 1'inde pangastrit (%12), 6'sında pangastrit ve bulbit (%75), 1 hastada da antral gastrit ve bulbit saptanırken (%13), bu gruptada sadece özofajit tanısı alan hasta yoktu.

Endoskopik bulgular açısından, DM ve Non-DM'lu hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı (p=0,49) (Şekil-8).



Şekil 8 : CagA ve vacA negatif olan hastalarda endoskopik bulgular

4.5.4. CagA negatif, vacA pozitif olan hastalarda endoskopik bulgular

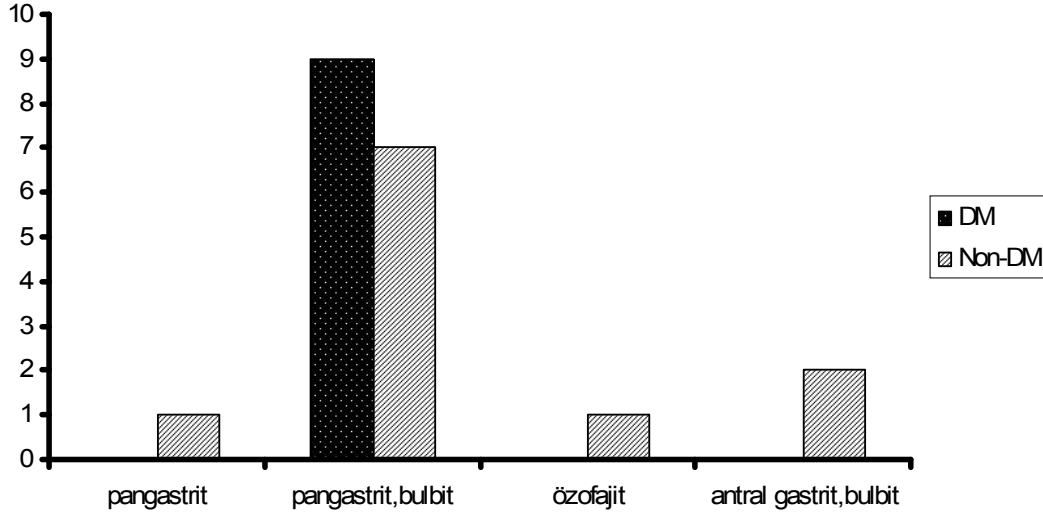
CagA negatif vacA pozitif 20 hasta vardı (%25). Bu 20 hastanın ise 9'unda DM mevcutken (%45), 11 hastada DM saptanmadı (%55).

i. Non-DM grubu :

Non-DM gruptaki 11 hastanın 1'inde pangastrit (%9), 7'sinde pangastrit ve bulbit (%64), 1 hastada özofajit (%9), 2 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%18).

ii. DM grubu :

DM grubundaki 9 hastanın tamamında pangastrit ve bulbit saptanırken (%100), sadece pangastrit, sadece özofajit, antral gastrit ve bulbit tespit edilmedi. DM ve Non-DM hastalar arasında endoskopik bulgular açısından istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç saptanmadı ($p=0,25$) (Şekil-9)



Şekil 9 : CagA negatif, vacA pozitif olan hastalarda endoskopik bulgular

4.5.5. VacA subtiplerine göre endoskopik bulgular

i. Non-DM grubu :

Çalışmamıza alınan toplam 35 Non-DM gruptaki hastalar arasından vacA, S subtipine göre; 14 hastada S1 subtipi (%40), 7 hastada ise S2 subtipi pozitifken (%20), 14 hastada S subtipi saptanmadı (%40). S1 pozitif olan 14 hastadan 2 hastada pangastrit (%14), 11 hastada pangastrit ve bulbit (%78), 1 hastada antral gastrit ve bulbit saptandı (%8). S2 pozitif olan 7 hasta içinden ise 3 hastada pangastrit ve bulbit (%42), 2 hastada özofajit (%29), 2 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%29).

Non-DM gruptaki hastalar içinden vacA, M subtipine göre değerlendirildiğinde ise; 10 hastada M1 (%28), 10 hastada M2 (%28), 3 hastada da hem M1 hemde M2 pozitifken (%8), 12 hastada vacA M subtipi saptanmadı (%36). M1 pozitif olan 10 hastadan ise 1 hastada pangastrit (%10), 9'unda da pangastrit ve bulbit saptandı (%90). M2 pozitif olan 10 hasta içinden ise 6 hastada pangastrit ve bulbit (%60), 1 hastada özofajit (%10), 3 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%30). Hem M1 hem M2 pozitif olan 3 hasta arasından 1 hastada pangastrit (%33), 2'sinde de özofajit saptandı (%67).

ii. DM grubu :

DM grubundaki 46 hasta arasından vacA, S subtipine göre; 25 hastada S1 subtipi (%54), 9 hastada ise S2 subtipi (%20), 1 hastada hem S1 hem S2 pozitifken (%2), 11 hastada S subtipi saptanmadı (%24). S1 pozitif olan 25 hastadan 1 hastada pangastrit (%4), 22 hastada pangastrit ve bulbit (%88), 1 hastada özofajit (%4), 1 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%4). S2 pozitif olan 9 hasta içinden ise 8 hastada pangastrit ve bulbit (%89), 1 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%11).

DM gruptaki hastalar içinden vacA, M subtipine göre ise hastalar; 9 hastada M1 (%20), 25 hastada M2 (%54), 4 hastada da hem M1 hemde M2 pozitifken (%9), 8 hastada vacA M subtipi saptanmadı (%17).

M1 pozitif olan 9 hastadan ise 8 hastada pangastrit ve bulbit (%89), 1 hastada antral gastrit ve bulbit saptandı (%11). M2 pozitif olan 25 hasta içinden ise 23 hastada pangastrit ve bulbit (%92), 1 hastada özofajit (%4), 1 hastada da antral gastrit ve bulbit saptandı (%4). Hem M1 hem M2 pozitif olan 4 hasta arasından 1 hastada pangastrit (%25), 3 hastada da pangastrit ve bulbit saptandı (%75) (Tablo-2) (Tablo-3).

Tablo-II : Diyabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerinin dağılımı

	Non-DM	DM	P değeri
S1	14/35 (% 40)	25/46 (% 54)	P>0,05
S2	7/35 (% 20)	9/46 (% 20)	P>0,05
S1+S2	-	1/46 (% 2)	P>0,05
M1	10/35 (% 28)	9/49 (% 20)	P>0,05
M2	10/35 (% 28)	25/46 (% 54)	P< 0.05
M1+M2	3/35 (% 8)	4/46 (% 9)	P>0,05

Tablo-3 : Diabetik olan ve olmayan hastalarda vacA subtiplerine göre endoskopik bulguların dağılımı

	Non DM				DM			
	Pangastrit	Pangastrit + bulbit	Özofajit	Antral gastrit + bulbit	Pangastrit	Pangastrit + bulbit	Özofajit	Antral gastrit + bulbit
S1	2 (%14)	11 (%78)	-	1 (%8)	1 (%4)	22 (%88)	1 (%4)	1 (%4)
S2	-	3 (%42)	2 (%29)	2 (%29)	-	8 (% 89)	-	1 (%11)
S1+S2	-	-	-	-	-	-	-	-
M1	1 (%10)	9 (%90)	-	-	-	8 (%89)	-	1 (%11)
M2	-	6 (% 60)	1 (%10)	3 (%30)	-	23 (%92)	1 (%4)	1 (%4)
M1+M2	1 (%33)	-	2 (%67)	-	1 (%25)	3 (%75)	-	-

4.6. Endoskopik bulgulara göre genotipik özellikler

Çalışmaya alınan toplam 81 hasta içinden endoskopik olarak sadece pangastrit tanısı alan 4 hasta saptandı. Bu hastaların ise 2'sinde cagA pozitifken, 2'sinde de negatifti. VacA ise 3 hastada pozitifken, 1 hastada pozitif saptanmadı.

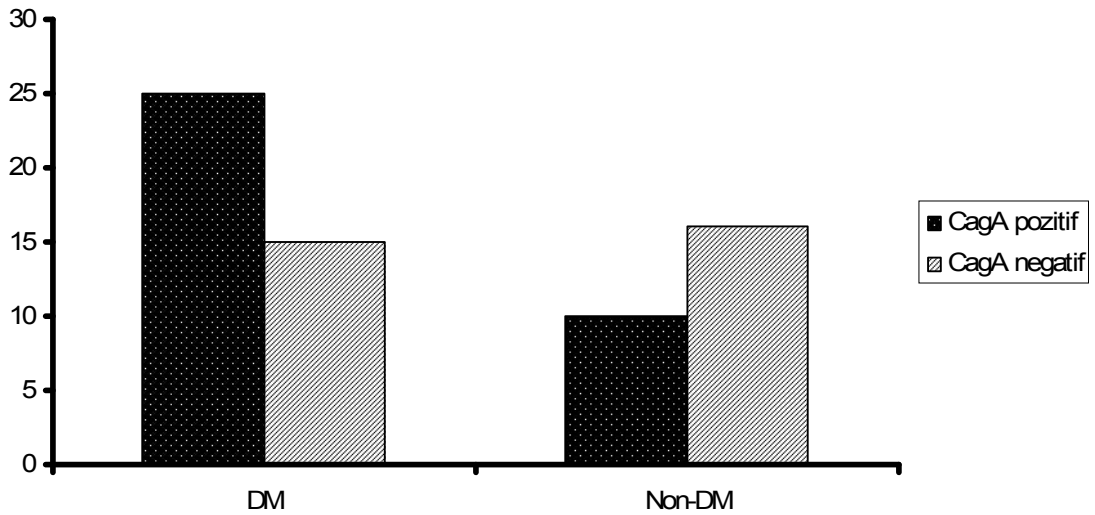
Pangastrit + bulbit saptanan grupta ise toplam 66 hasta vardı (%81) ve bu hastalarında 35'inde cagA pozitifken (%53), 31 hastada cagA negatif bulundu (%47). VacA ise 51 hastada pozitifken (%77), 15 hastada negatifti (%23).

Özofajit grubundaki 4 hastanın ise 3'ünde cagA pozitifken, 1 hastada cagA saptanmadı. VacA ise 4 hastada da pozitif saptandı.

Antral gastrit + bulbit grubundaki 7 hastadan ise 3'ünde cagA pozitifken, 4 hastada saptanmadı. VacA ise 5 hastada pozitifken, 2 hastada saptanmadı.

CagA ile endoskopik bulgular arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,78).

Pangastrit + bulbit grubundaki 66 hastanın 40'ında DM varken (%60), 26 hastada DM saptanmadı (%40). DM grubundaki 40 hastanın 25'inde cagA pozitifken (%63), 15 hastada cagA saptanmadı (%37). Non-DM grubundaki 26 hastanın ise 10'unda cagA pozitifken (%38), 16 hastada cagA saptanmadı (%62) (p=0,05) (Şekil-10).

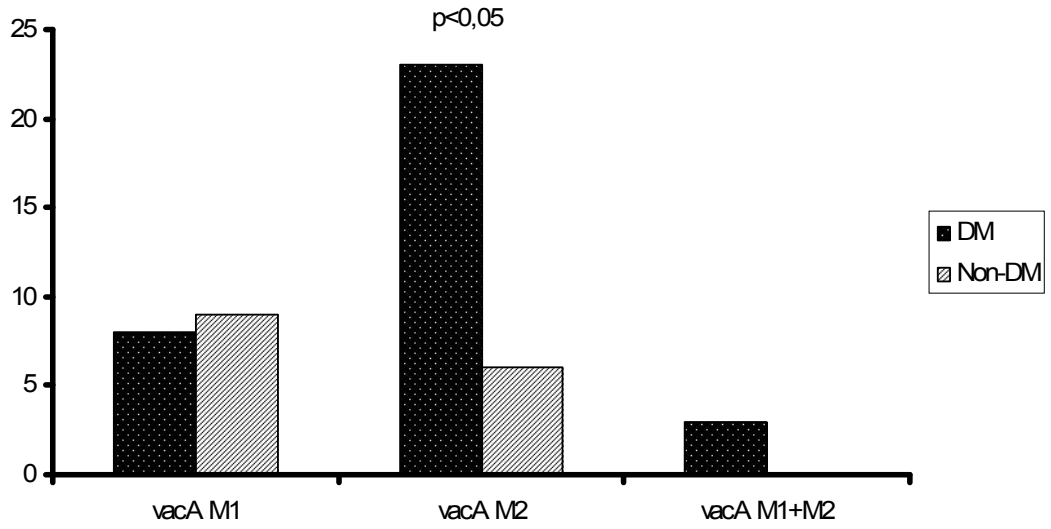


Şekil 10 : Pangastrit + bulbit saptanan grupta DM ve Non-DM hastalarda cagA genotip dağılımı

VacA subtipleri değerlendirildiğinde; vacA M, DM grubunda Non-DM grubuna göre endoskopik olarak pangastrit + bulbit saptanan hastalarda istatistiki olarak anlamlı artmış tespit edildi ($p<0,001$).

Pangastrit + bulbit saptanan DM grubundaki 40 hastanın 8'inde M1 (%20), 23'ünde M2 (%58), 3'ünde M1+M2 saptanırken (%8), 6 hastada vacA M subtipi negatifti (%14). Non-DM gruptaki 26 hastadan ise 9'unda M1 (%35), 6 hastada M2 saptanırken (%23), 11 hastada da vacA M subtipi tespit edilmedi (%42). Pangastrit + bulbit grubunda DM ve Non-DM grup arasındaki fark vacA M dağılımı açısından istatistiki olarak anlamlıydı ($p=0,007$)

Endoskopik olarak pangastrit + bulbit tanısı alan hastalar arasında VacA M2 pozitif olan toplam 29 hasta vardı. Bu 29 hastanın 23'ü diyabetli iken (%79), 6 hasta ise non-diyabetikti (%21). Bu gruplar arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p=0,002$). Diğer endoskopik bulgulara göre ise VacA subtipleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. (Şekil-11).



Şekil 11 : Pangastrit + bulbit saptanan grupta vacA subtipleri ($p=0,007$)

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

H. pylori infeksiyonu dünyada en sık görülen bakteriyel infeksiyondur ve bu mikroorganizma mideye yerleşerek mukus tabakası içerisinde koloniler yapar (29). Sahip olduğu çeşitli patojenik mekanizmalarla kronik aktif gastrit, peptik ülser, mide karsinomu ve mukoza ile ilişkili lenfoid dokunun (MALT) lenfoması gibi birçok hastalığıdaki rolü çok sayıda çalışma ile ortaya konmuştur (15,19,20). Her ne kadar dünya nüfusunun yarısından fazlasının *H. pylori* ile infekte olduğu gösterilmişse de değişik coğrafik, sosyo-ekonomik durumlar, ayrıca bakterinin ve konağın kendine ait özelliklerinden dolayı çok farklı sonuçlar bildirilmektedir. *H. pylori*'nin gastrik hastalıklarla ilişkisi ortaya konulduktan sonra, diğer sistem hastalıkları ile olan ilişki de son yılların önemli araştırma konularından biri haline gelmiştir. Birçok sistemi, özellikle de immün sistemi ve gastrointestinal sistemde etkileyebilen kronik bir hastalık olan diabetes mellitus bu yönelimde ilk sırayı alan hastalıklardan biri olmuştur. Değişik hasta gruplarında çeşitli prevalans oranları bildirilmekle beraber bakterinin genotipik özelliklerinin, Tip 2 DM'lu hastalarda karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmada DM gibi kronik seyreden ve sistemik birçok etkisi ortaya çıkan ve genel bir immün zayıflığa yol açan bir hastalıkta, bakterinin genotip dağılımında değişim olup olmadığı araştırılmıştır.

Bizim sonuçlarımıza göre, diyabetik ve diyabetik olmayan hastalar arasında *H. pylori* sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki gösterilemedi. Her ne kadar serolojik antikorların varlığına dayalı yapılan çalışmalarda *H. pylori* diyabetik hastalarda yüksek prevalansta gösterilmişse de (14,60,61,62), histolojik kanıt temeline dayanan bir çalışma da *H. pylori*'nin DM'lu hastalarda gelişen üst gastrointestinal sistem hastalıklarında daha az öneme sahip olduğunu göstermiştir (64). Son zamanlarda yapılan üç çalışmada ise DM ile *H. pylori* arasında doğrudan bir ilişki bulunamamıştır (55,59,63).

Bizim çalışmamızda ki, toplam 81 hastadan 76 kişide histoloji ve/veya PCR ile *H. pylori* pozitifken (%93), sadece 5 kişide *H. pylori* saptanmadı (%7). Gelişmiş ülkelerde yetişkinlerin yarısından çoğu, gelişmekte olan ülkelerde ise toplumun %90'dan fazlası bu bakteri ile infekte olmuştur (29). Genel olarak, ülkemizdeki yapılan araştırmalarda *H. pylori*'nin prevalansının %46–78 oranında olduğu ve yaşla arttığı bildirilmiştir (28). Türkiye'de 7-14 yaş arası çocuklarda yapılan çalışmalarda seroprevalans 1990 yılında % 78.5, 2000 yılında % 66.3 olarak bulunmuştur. Türkiye'deki prevalans çalışmalarına göre bizim çalışmamızda *H. pylori* sıklığını yüksek bulmamızın sebebi de; bakterinin epidemiyolojik dağılımının ve çalışmaya dahil etme ölçütlerinin farklılığı, çalışma grubumuzun dispeptik hastalardan seçilmesi, histolojik ve/veya PCR ile *H. pylori* tespiti rol oynamış olabileceği düşünüldü.

Çalışmaya alınan vakalarımızdan, gerek DM'lu grupta gerekse Non-DM'lu grupta ülserojenik (CagA +, VacA +) veya non-ülserojenik (CagA -, VacA -) kabul edilen genotipik özellikler yönünden endoskopik lezyonlar arasında anlamlı farklılık gözlenmedi. Hastalarımızın büyük kısmının endoskopik bulgular açısından tek tanı (Pangastrit + bulbit) almış olması, bu sonuçta etkili olmuş olabilir.

H. pylori'nin birçok gen bölgesinin virulansla ilişkili olduğu düşünülmektedir. *H. pylori* suşlarının %80'inde cagA geni ile kodlanan sitotoksin bulunmaktadır. Yamaoka ve ark.'larının 1999 yılında yayınlanan bir çalışmada dört ülkenin verileri değerlendirilmiş ve cagA genotipinin; gastrit, gastrik kanser ve duodenal ülserli hastalarda yüksek oranda görüldüğü bildirilmiştir (65). Ülkemizde yapılan bir çalışmada da benzer durum bildirilmiştir (40). Bizim çalışmamızda ise peptik ülser tanısının çok düşük olması, malignite tanısının olmaması ve hastalık tanılarının birden fazla ve homojen dağılımı bu tip bir değerlendirmeyi olanaklı kılmamıştır.

CagA genotipinin bakterinin virulansında önemli bir işaretçi olduğu bilinmektedir. Fakat bunun yanında klinik bulgular ile cagA ilişkisi arasında çelişkili sonuçlar bulunmaktadır. Bu konuda yapılan çok merkezli bir çalışmada duodenal ülser, gastrit ve gastrik kanser'li hastalarda cagA oranının belirgin olarak yüksek olduğu saptanmıştır (66). Diğer yandan uzak doğuda yapılan bir çalışmada da *H. pylori* infeksiyonunun klinik bulguların bir göstergesi olmayabileceği belirtilmiştir (66). Literatürde, cagA'nın DM'lu hastalarda görülme sıklığı ile ilgili bir veriye rastlanamamıştır. Bu çalışmada DM'lu hastalarda cagA oranının DM olmayanlara göre istatistiksel olarak anlamlı artmış olduğu saptanmıştır ($P<0.05$) (%63 vs %40). Fakat endoskopik bulgularla cagA pozitifliği yönünden diyabetik ve diyabetik olmayan hastalar arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ($P>0,05$).

VacA geni suşları arasında, özellikle azot içeren uçtaki (N ucu) kısa olan sinyal dizisi ve orta bölgede farklılıklar göstermektedir. VacA sinyal dizilerine göre S1 (S1a, S1b, S1c) ve S2 olmak üzere dört, orta dizi farklılıklarına göre M1 ve M2 olmak üzere iki subtipi bulunmaktadır. Orta bölge tipi toksin etkinliğinin başlıca belirleyicisidir. Ayrıca mide epitel hasarının düzeyiyle ilişkilidir. Sinyal dizi tipi ise midedeki inflamasyon düzeyiyle ve duodenum ülseri prevalansı ile ilişkilidir (36-39). ABD 'de yapılan bazı çalışmalarda Vac A'nın S1a aleline sahip *H. pylori* suşlarının S1b ve S2 alellerine göre artmış toksin aktivitesi gösterdiği, bu nedenle gastrik inflamasyon ve peptik ülser ile yakın ilişkili olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde orta bölge M1 aleli, M2 aleline göre daha yüksek toksisite ve ağır epitel hasar oluşturma potansiyeline sahiptir. Bu farklılığın işlevle bağlantılı olduğu, S1/M1 genotiplerinin in vitro

koşullarda daha fazla sitotoksin etkinliği ekspresyonu yaptığı ve peptik ülserle daha fazla ilişkili olduğu gösterilmekle beraber, S2/M2 genotiplerinin sitotoksik olmadığı bildirilmektedir. Böylece belirli genotiplerle hastalık durumları arasında ilişki bulunduğu ilk kez gösterilmiştir (37,67). Bizim çalışmamızdaki hastaların, endoskopik tanı olarak büyük çoğunluğunu pangastrit + bulbit oluşturmaktaydı. Diğer endoskopik tanı gruplarında vaka sayılarının az olması nedeniyle sağlıklı istatistiki değerlendirme yapılamayacağı için sadece pangastrit + bulbit grubunda karşılaştırma yapıldı ve bu gruptaki DM'lu hastalarda vacA pozitifliğinin anlamlı oranda yüksek olduğu görüldü.

DM'lu hastalarda vacA pozitifliğinin yüksek olması esas olarak subtiplerinden kaynaklanmaktaydı. VacA genotipindeki bu artışın da; vacA M'den, vacA M'deki farkın ise vacA M2'nin diyabet grubundaki belirgin fazlalığından kaynaklandığı görüldü. Literatüre bakıldığında; diyabetik hastalarda vacA subtiplerinin değerlendirildiği bir çalışmaya rastlanmadı. Yamaoka ve arkadaşları yaptıkları çalışmada endoskopide tesbit edilen ciddi lezyonlarda (gastrit, gastrik kanser ve duodenal ülser), vacA M2 subtipinin pozitiflik oranının düşük olduğunu göstermişlerdir (65). Yine Kanada'da yapılan bir çalışmada da gastroduodenal patoloji (duodenal ülser, gastrik ülser ve gastrik adenokarsinoma) saptanan hastalarda vacA M2 subtipini düşük oranda tespit etmişlerdir (68). Yapılan çalışmalarda da belirtildiği gibi, vacA M2'nin zayıf toksin etkisi ve epitel hasarı gösterici etkisinin düşük olması, çalışmaya alınan diyabetik hastalarda ülserin az görülmesini açıklayabilir. Hatta; vacA M2'nin mide adenokarsinomasında, peptik ülserde de az görülmesi (65,68), diyabetik hastaların midesinde kolonize olan *H. pylori*'nin, karsinojenik etkisi zayıf olan suşlardan oluştuğunu, diyabetin bu hastaları mide patolojilerine karşı koruduğunu düşündürebilir. Rousseau ve ark.'larının DM'la kanser ilişkisini araştırdıkları bir çalışmada, sadece karaciğer kanserinin diyabetli hastalarda arttığını, mideninde içinde bulunduğu birçok kanserde ise bu oranının değişmediğini bildirmekteyler (69). Yine Amerika Birleşik Devletleri'nden bildirilen bir çalışmada da özofagus ve mide adenokanserleri ile diyabet arasında bir ilişki gösterilememiştir (70). Bu çalışmada elde edilen sonuçlar; diyabetik hastalarda *H. pylori* genotipik yapısının farklı olabileceğini ve bu hastalıkta henüz tam aydınlatılmamış faktörlerin devreye girebileceğini düşündürmektedir. Görünen o ki, diabetes mellitus'ta *H. pylori*'nin özellikle virulansı az olan VacA M2 genotipine sahip suşlarının fazla görülmesi, predispozan durumlar (örneğin diyabetik gastroparezi) ve koruyucu faktörler (örneğin diyabetin indüklediği aklorhidri) arasında karmaşık bir dengeyi yansıtmaktadır. *H. pylori*'nin gastrik mukozada kolonizasyonunu etkileyen birçok faktör henüz tam bilinmemektedir (71). Belki de diyabette virulansı zayıf suşların fazla görülüyor olması, bu hastalıktaki immun supresyonun

yanında bilinmeyen bir mekanizmanın da bu yönden zayıf bakterilerin kolonizasyonunu arttırdığını düşündürebilir.

Diğer yandan; immun bozukluğu olan hastaların *H. pylori* için yüksek risk taşıyıp taşımadığı da açık değildir. Hatta AİDS'li hastalarda yapılmış olan çalışmalarda, bilinmeyen bir hücrel immun cevabın *H. pylori* kolonizasyonunu bozuyor olabileceği gösterilmiştir (72,73,74). Diyabetik hastaların önemli bir kısmında hidroklorik asit sekresyonunun azalmış olduğunu ve bununda *H. pylori* için zararlı olabileceğini bildiren çalışmalar mevcuttur (75,76,77).

Endoskopik olarak özofajit tespit edilen 4 hastanın 3'ünde cagA pozitif olarak saptandı. Her ne kadar bu sayı, yorum yapmak için yeterli olmasa da özofajitli hastaların 3/4'ünde cagA müsbetliğinin ileri çalışmalarla araştırılması gerekmektedir. Bu hastaların biri diyabetik diğerleri non-diyabetikti. Somi ve ark.'larının yakın bir zamanda yaptığı çalışmada da cagA pozitifliğinin reflü özofajitten koruduğuna dair sonuç elde edilmiştir (78). Bizim çalışmamızda diyabetik hastalarda cagA pozitifliğinin Non-diyabetik hastalara göre fazla bulunması diyabetik hastalarda özofajitin az görülmesini açıklar niteliktedir. Fakat özofajitli hastaların sayısının çok az olması bu konuda yorum yapmayı zorlaştırmaktadır.

Tüm endoskopik tanılar içinde CagA sıklığı ve pangastrit + bulbit tanısı alan hasta grubu içerisinde ise VacA'nın diğer subtipleri açısından anlamlı bir fark saptanmadı. Diğer endoskopik tanı gruplarında, istatistiksel olarak anlamlılık saptanmaması bu gruplardaki hasta sayısının az ve bulguların homojen dağılımından kaynaklanıyor olabilir.

Sonuç olarak; bizim çalışmamızın verilerinde, diyabetik ve diyabetik olmayan hastalar arasında *H. pylori* sıklığı açısından bir fark saptanmadı. Ancak bu iki grup arasında genotip dağılımları açısından bazı farklılıklar görüldü. Buda, diyabetik hastaların midesinde kolonize olan *H. pylori*'nin, karsinojenik etkisi zayıf olan suşlardan oluştuğunu, diyabetin bu hastaları mide patolojilerine karşı koruduğunu düşündürebilir. Literatürde; *H. pylori* genotip dağılımlarının, diyabetik ve diyabetik olmayan gruplar arasında karşılaştırıldığı bir çalışma olmadığından bu farklılıkların yorumlanması daha güç hale gelmektedir. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar, *H. pylori*'nin genotipik yapısının diyabeti olanlarda ve olmayanlarda farklı olabileceğini ve Diabetes Mellitus'da henüz tam aydınlatılmamış faktörlerin bu durumda etkili olabileceğini düşündürmektedir. Daha büyük hasta sayıları, istatistik yapılabilecek sayıda heterojen dağılmış endoskopik tanıları içeren ileri çalışmalarla bu ilişkiler daha net olarak ortaya konulabilecektir.

6. KAYNAKLAR

1. Bank S, Greenberg RE. The prevalence of *Helicobacter pylori* in nonulcer dyspepsia. Arch Intern Med 1990;150: 2053-57
2. Blincow E, Caruso V, Goodwin S, Hill R, Pearman J, Worthy P. *Campylobacter pyloridis* and gastritis in children. Lancet 1986; 1: 387-90
3. Duane T. Smoot. Microbiology and Epidemiology of *H.Pylori* İnfection. Drug Benefit Trends 1996; 8(B): 10-15.
4. Graham DY, Malaty HM, Evans DG et al. Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an Asymptomatic Population in the United States. Gastroenterology 1991;100: 1495-501.
5. Aksoy N, Değertekin H, Göral V, Turhanoğlu M. Sağlıklı ve hasta bireylerde *Helicobacter pylori* sıklığı. Turk J Gastrenterohepatol, 1993;4: 9-11.
6. Correa P, Ruiz B. *Camphylobacter pylori* and gastric cancer. In: B.J. Rathborne, R.V. Heatley *Camphylobacter pylori* and Gastroduodenal Disease, 1989 Blackwell Scientific Publications, Oxford London. pp.63-68.
7. Crabtree JE, Miller G, Sobola GM, Wyatt JI. Systemic and mucosal humurol responses to *Helicobacter pylori* in gastric cancer. Gut 1993;34: 1339-43.
8. Chyou P, Nomura A, Stemmerman GN et. al. *Helicobacter pylori* infection and Gastric Carcinoma among Japanese Americans in Hawaii II. New Eng Jour Med. 1991;325: 1136-332.
9. Becker JM: Motility Disorders of the Gastrointestinal Tract, Sung Clin North Ame. 1993; 73 (6).
10. Huang CY, Low PA, Walsch HC et. al. The sympatetic nervous system in diabetic neuropathy. A clinical and pathologic study brain 1975: 98: 341-356.
11. De Koster E, De Bruyne I, Langlet P, Deltenre M. Deltenre Evidence based medicine and extradigestive manifestatoins of *helicobacter pylori*, Acta Gastro-Enterologica Belqica Vol. 63, October-December 2000.
12. Simon L, Tornoczky J, Toth M et. al. The significance of *campylobacter pylori* infection in gastroenterologic and diabetic practice. Orvosi Hetilap. 1989; 130: 1325-9.
13. Oldenburg B, Diepersloot RJ, Hoekstra JB. High seroprevalance of *Helicobacter pylori* in diabetes mellitus patients. Dig Dis. Sci. 1996; 41: 458-61.

14. Gentile S, Turco S, Oliviero B et al. The role of autonomic neuropathy as a risk factor of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diab. Res Clin Pract* 1998; 42: 41-8.
15. Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. *Helicobacter pylori*. *Clinical microbiology Reviews* 1997; 720-741.
16. Bingöl R. *Helicobacter pylori* Mikrobiyolojisi. 9. Türk Klinik ve Mikrobiyoloji İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi, 3-8 Ekim 1999, Antalya; Kongre Kitabı, s. 51-55.
17. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet*, 1984: 1311-14.
18. Marshall B. *Helicobacter pylori* 20 years on. *Clin Med*. 2002 Mar-Apr; 2(2): 147-52.
19. Yamaguchi N, Kakizoe T. Synergistic interaction between *Helicobacter pylori* gastritis and diet in gastric cancer. *Lancet*, 2001: 88-94.
20. Parsonnet J, Friedman GD, Vandersteen DP et. al. *Helicobacter pylori* infection and the risk of gastric carcinoma. *N Engl J Med* 1991; 325: 1127-31.
21. Altındış M, Özdemir M. *Helicobacter pylori* ve tanısı. *Kocatepe Tıp Dergisi* 2003; 2: 1-12.
22. Everhart JE. Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America* 2000; 29: 559-79.
23. Logan RP, Walker MM. Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ* 2001; 323: 920-2.
24. Bozdayı G, Özden A, Özkan M et. al. Changes in the seroepidemiological pattern of *Helicobacter pylori* infection over the last 10 years in Turkey. *Turk J Gastroenterol* 2004; 15(3): 156-8.
25. Forman D. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 1995; 9: 71-6.
26. Wotherspoon AC, Ortiz-Hidalgo C, Falzon MR et. al. *Helicobacter pylori* associated gastritis and primary B cell gastric lymphoma. *Lancet* 1991; 338: 1175-76.
27. Kikuchi S, Wada O, Nakajimi T et. al. Serum anti *Helicobacter pylori* antibody and gastric carcinoma among young adults cancer. 1995;75: 2789-93.
28. Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenezi ve ilişkili hastalıkları. *Klinik Dergisi* 2004; 17(3): 146-50.

29. Megraud F. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am.* 1993;22(1): 73-88.
30. Fennertry MB. *Helicobacter pylori*. Review Article *Arch. Item Med.*1994;153: 721-27.
31. Galvani F, Rossi MR, Sartori S, Trevisani L. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in faeces: A Prospective Pilot Study *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1830-33.
32. Windsor HM, O'Rourke J. Bacteriology and taxonomy of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America* 2000; 29(3): 633-49.
33. Marshall BJ. *Helicobacter pylori*. *Am J gastroenterol.* 1994;89(8): 116-28.
34. Alarcon T, Brea ML, Megraud F. *Helicobacter pylori* infeksiyonunda tanı. *Current Opinion in Gastroenterology.* 1997; 13: 13-19.
35. Enroth H, Engstrand L. Immunomagnetic separation and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in water and stool specimens. *J Clin Microbiol.* 1995;33: 2162-65.
36. Atherton J, Covacci A. *Helicobacter pylori*'nin patojenik özellikleri. *Current Opinion in Gastroenterology.* 1997; 13: 20-24.
37. Go MF, Crowe SE. Virulence and pathogenicity of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of N. America,* 2000; 29: 649-71.
38. Köksal F, Topçu AW, Söyletir G, Doğanay M. *Helicobacter pylori*. İnfeksiyon hastalıkları ve klinik mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 2002; 1643-47.
39. Köksal F. *Helicobacter pylori* infeksiyonlarında patogenezi ve bağışık yanıt. 9.Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre kitabı, 3-8 Ekim 1999 Antalya. syf.46-50.
40. Bulent K, Murat A, Esin A et. al. Association of CagA and VacA presence with ulcer and non-ulcer dyspepsia in a Turkish population. *World J Gastroenterol.* 2003 Jul;9(7): 1580-3.
41. Chey WD, Murthy U, Toskes P et. al. The 13C-Urea Blood test accurately detects *Helicobacter pylori* infection: A United States, multicenter trial *Am J Gastroenterol* 94 (6): 1522-25, 1999.
42. Satoh K, Kimura K, Yusht T et. al. Distribution of inflammation and atrophy in the stomach of *Helicobacter pylori* (+) and patients with chronic gastritis. *Am J Gastroenterol* 91 (5): 963-69, 1996.

43. Krogfelt KA, Lehours P, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Helicobacter*. 2005; 10 Suppl 1: 5-13.
44. Makristathis A, Hirschl AM, Lehours P, Megraud F. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2004; 9 Suppl 1: 7-14.
45. Osawa H, Inoue F, Yoshido Y. Inverse relation of serum *Helicobacter pylori* antibody titres and extent of intestinal metaplasia. *J Clin Pathol* 49: 112-15, 1996.
46. Metz CD, Walsh HJ. Gastroduodenal ulcer disease and gastritis. *Kelley's Textbook of Internal Medicine*, 4th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 2000, ch 107, pp. 824-44.
47. Marshall B, Windsor H. The relation of *Helicobacter pylori* to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical presentation, treatment, and prevention. *Med Clin. North Am.* 2005 Mar; 89(2): 313-44.
48. Mulholland MW. Gastric neoplasms. *Greenfield's Surgery: Scientific Principles and Practice*, 4th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 2006, ch 48, pp. 723-63.
49. Del Valle J. Peptic Ulcer Disease and Related Disorders. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th edition, New York: Mc Graw Hill, 2005, ch 274, pp. 1746-807.
50. Foster W. Diabetes Mellitus. *Principles of Internal Medicine Harrison's Vol. 2 14th Edition* 1998, 334: 2060.
51. Koloğlu S. Diabetes Mellitus Patogenezi; Endokrinoloji ve Temel Klinik Medikal Network. 1996, 613: 367-68.
52. Bağrıaçık N. Diabetes Mellitus Tanım, Tarihçesi. İ.Ü Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları. 1997: 9.
53. Damcı T, Özer Z. *Aktüel Tıp Dergisi* Mart 97 Cilt 2 Sayı 1 s. 48-51.
54. The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. Report of Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997; 20:1183-97.
55. Xia HH, Talley N, Kam E, et. al. *Helicobacter pylori* infection is not associated with diabetes mellitus, nor with gastrointestinal symptoms in diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 2001, 96: 1039-46
56. Beattie S, Keane C, Leen E et. al. Eradicating *Helicobacter pylori* and symptoms of non-ulcer dyspepsia. *BMJ*, November 1991;303:1238-40.

57. Sivri B. *Helicobacter pylori* Ed.: Gürler İliçin. Kadir Biberoglu, Serhat Ünal, Sema Akalin, Gültekin Süleymanlar, 1996, Güneş Kitabevi Temel İç. Has. 2233-36.
58. Özen A, H. Pylori, Ed.: Özden A, Şahin B, Yılmaz U, Soykan İ, 2002, Türk Gastroenteroloji Vakfı, Gastroenteroloji, 113-126.
59. Morrison C, Mc Coll K, Woodward M. An investigation into factors associated with *Helicobacter pylori* infection. *Journal of Clinical Epidemiology* 53 (2000) 175-181.
60. Bottari M, Perdichizzi G, Pallio S et. al. Gastric infection by *Helicobacter pylori* and antral gastritis in hyperglycemic obese and in diabetic subjects. *New Microbiol* 19 2 (1996), pp. 149-154
61. Gasbarrini A, Ojetti V, Pitocco D et. al. *H. pylori* infection in patients affected by insulin-dependent diabetes mellitus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 10 6 (1998), pp. 469-72.
62. Oldensbury B, Diepersloot RJ, Hoekstra JB. High seroprevalence of *Helicobacter pylori* in diabetes mellitus patients. *Dig Dis Sci* 41 (1996), pp. 458-61.
63. Rosenstock S, Jorgensen T, Andersen L, Bonnevic O. Association of *Helicobacter pylori* infection with lifestyle, chronic diseases, body-indices and age at menarche in Danish adults. *Scand J Public Health* 28 1 (2000), pp. 32-40.
64. Bien AI, Galicka-Latala D, Malecki M et. al. The prevalence of *Helicobacter pylori* infection and types of gastritis in diabetic patients. The Krakow study. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 104 (1996), pp. 365-369.
65. Gutierrez O, Kodama T, Yamaoka Y et. al. Relationship between *Helicobacter pylori* *iceA*, *cagA*, and *vacA* Status and Clinical Outcome: Studies in Four Different Countries. *Journal of clinical Microbiology*, July 1999; 37: 2274-79.
66. Goh K, Rizal A, Rosmadı M, Tan HJ. Distribution of *Helicobacter pylori* *cagA*, *cagE* and *vacA* in different ethnic groups in Kuala Lumpur, Malaysia. *Journal of Gastroenterology and Hepatology* (2005) 20, 589-94.
67. Arakawa T, Fujiwara Y, Wyle F et. al. *Helicobacter pylori* toxin reduces EGF binding to its receptor and proliferative response of human gastric kato III cells to EGF stimulation. Important mechanism for *Helicobacter pylori* Interference with the ulcer healing. *Gastroenterology* 1995;108: A97.

68. Alan N, Carlo A, Fallone et. al. Association of *Helicobacter pylori* Genotype with Gastroesophageal Reflux Disease and Other Upper Gastrointestinal Diseases. The American Journal of Gastroenterology 2000; 95: 659-69.
69. Parent ME, Pollak MN, Rousseau MC, Siemiatycki J. Diabetes Mellitus and cancer risk in a population-based case-control study among men from Montreal, Canada. Int. J Cancer. 2006 Apr 15; 118(8): 2105-9.
70. Davis J, Inadomi JM, Marrero JA, Rubenstein JH. Relationship between diabetes mellitus and adenocarcinoma of the oesophagus and gastric cardia. Aliment Pharmacol Ther. 2005 Aug 1;22(3): 267-71
71. Anastasios R, Goritsas C, Papamihail C et. al. *Helicobacter pylori* infection in diabetic patients: prevalence and endoscopic findings. Eur J Intern Med. 2002 Sep;13(6): 376.
72. Francis ND, Logan RP, Walker MM et. al. *Campylobacter pylori* in the upper gastrointestinal tract of patients with HIV-1 infection. J Clin Pathol 43 (1990), pp. 60-62.
73. Battan R, Raviglione MC, Palagiano A et. al. *Helicobacter pylori* infection in patients with acquired immune deficiency syndrome. Am J Gastroenterol 85 (1990), pp. 1576-79.
74. Bonanno CA, Marano J, Smith F. *Helicobacter pylori* infection in patients with acquired immuno deficiency syndrome. Am J Gastroenterol 88 (1993), pp. 687-90.
75. Cogal RK and Spiro HM. Gastrointestinal manifestations of diabetes mellitus. Med Clin North Am 55 (1971), pp. 1031-44.
76. Clyne M, Drumm B, Labigne A. *Helicobacter pylori* requires an acidic environment to survive in the presence of urea. Infect Immun 63 (1995), pp. 1669-73.
77. Blaser MJ, Cover TL and Mc Gowann CC. *Helicobacter pylori* and gastric acid: biologic and therapeutic implications. Gastroenterology 110 (1996), pp. 926-38.
78. Fattahi E, Fouladi RF, Somi MH et. al. An inverse relation between CagA+ strains of *Helicobacter pylori* infection and risk of erosive GERD. Saudi Med J. 2008 Mar;29(3):393-6.