

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GASTROÖZOFAJİAL REFLÜ HASTALARINDA UZUN DÖNEM PROTON
POMPA İNHİBİTÖRÜ KULLANIMININ MİDEDE PREKANSERÖZ
DEĞİŞİKLİKLERİN GELİŞMESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Uz. Dr. İbrahim GÖREN

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet İŞLER

2007-İSPARTA

T.C.
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

GASTROÖZOFAJİAL REFLÜ HASTALARINDA UZUN DÖNEM PROTON
POMPA İNHİBİTÖRÜ KULLANIMININ MİDEDE PREKANSERÖZ
DEĞİŞİKLİKLERİN GELİŞMESİNE ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Uz. Dr. İbrahim GÖREN

GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI
UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Mehmet İŞLER

**Bu tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından 990-UZ-2005
proje numarası ile desteklenmiştir.**

ISPARTA-2007

TEŞEKKÜR

Gastroenteroloji uzmanlığı eğitimimin başlamasından bitimine kadar ve bu tezin tüm aşamalarında sınırsız destek veren tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet İŞLER başta olmak üzere, hocalarım Prof. Dr. Ülkü SARITAŞ, Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR, Doç. Dr. M. Cem KOÇKAR; maddi manevi destek veren İç Hastalıkları A.B.D. Başkanı Prof. Dr. M. Numan TAMER başta olmak üzere Prof. Dr. M. Tuğrul SEZER, redaksiyonda yardımcı olan Doç. Dr. Ş.Ercan TUNÇ ve bölümün tüm saygıdeğer hocaları, çalışmalarım sırasında beni "rutinden muaf tutan" mesai arkadaşım Yrd. Doç. Dr. Altuğ ŞENOL, histopatolojik incelemeleri tatillerinde de çalışma pahasına olağan üstü sabır ve hızla gerçekleştiren Patoloji A.B.D.'nin değerli öğretim üyeleri Yrd. Doç. Dr. Metin ÇİRİŞ, Yrd. Doç. Dr. Nermin KARAHAN ve Laboratuar Teknisyeni Vasfi BARAN, biyokimyasal çalışmalarını dizayn edip eşsiz performansla başarıya ulaştıran başta Biyokimya ve Klinik Biyokimya A.B.D. öğretim üyesi Prof. Dr. Fatih GÜLTEKİN olmak üzere asistan Dr. Hilmi DEMİRİN, Dr. Hicran HİÇYILMAZ, bölümün diğer hocalarına, Mikrobiyolojik ve İmmünolojik araştırmaları gerçekleştiren Prof. Dr. Buket CİCİOĞLU ARIDOĞAN, Yrd. Doç. Dr. Emel SESLİ ÇETİN ve asistan Dr. Tülay TETİK, Gastroenteroloji B.D. hemşireleri, yardımcı personeli ve her eserde olduğu gibi bu tezin de oluşmasına katkıda bulunan "gizli emektarlar" olan isimlerini sıralayamadığım asistan arkadaşlarım ve tüm personele, bu projeyi destekleyen Süleyman Demirel Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimine, manevi desteğim eşime ve sıkıntıların hissedilmesine fırsat vermeden "Biz Geldik..." diyerek mutluluk atmosferi oluşturan sevgili kızlarım Fatma BETÜL ve Sevde EBRAR'a derin sevgi ve şükranlarımı sunarım.

Dr. İbrahim GÖREN

KABUL VE ONAY

Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalı Başkanlığı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından uzmanlık
tezi olarak kabul edilmiştir.

Uzmanlık Tez Savunma Tarihi: 13/12/2007

- Tez Danışmanı : Prof. Dr. Mehmet İŞLER
S.D.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Gastroenteroloji Bilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. M. Numan TAMER
S.D.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Endokrinoloji ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. Üklü SARITAŞ
S.D.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Gastroenteroloji Bilim Dalı
- Üye : Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR
S.D.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Gastroenteroloji Bilim Dalı
- Üye : Doç. Dr. M. Cem KOÇKAR
S.D.Ü. Tıp Fakültesi İç Hastalıkları A.D.
Gastroenteroloji Bilim Dalı

ONAY: Bu uzmanlık tezi, Fakülte Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Fakülte Yönetim Kurulu Kararıyla kabul edilmiştir.

Dekan

Prof. Dr. Yıldırım SONGÜR

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KABUL ve ONAY	ii
İÇİNDEKİLER	iii
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. TEMEL BİLGİLER	3
2.1. <i>Helicobacter Pylori</i>	3
2.2. Gastrin ve Enterokromafin Benzeri Hücre Proliferasyonu	4
2.3. Asit Salgısının Baskılanması ve Midede Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Coğalması	6
2.4. Nitrozaminler	7
2.5. MDA	8
2.6. Ki-67 ve p53	8
2.7. COX-2	9
3. MATERYAL ve METOD	11
3.1. Olgular	11
3.2. Endoskopi	11
3.3. Doku ve Süpernatanın Hazırlanması	12
3.4. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Malzemeler	13
3.5. Biyokimyasal Araştırmalar	14
3.5.1. Mide Sıvısında pH Ölçümü	14
3.5.2. Mide Sıvısında Nitrat/Nitrit Ölçümü	14
3.5.3. Korpus ve Antrum Aukozasında MDA Ölçümü	14
3.6. Histopatoloji ve İmmünohistokimyasal Araştırmalar	15
3.6.1. Histopatolojik Araştırmalar	15
3.6.2. İmmünohistokimyasal Araştırmalar	15
3.6.2.1. COX-2 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	16
3.6.2.2. Ki-67 Labeling Index (Proliferasyon İndeksi)	16
3.6.2.3. p53 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi	16
3.6.2.4. ECL Hücre Hiperplazisinin Değerlendirilmesi	16
3.6.2.5. G Hücre Yoğunluğunun Değerlendirilmesi	16

3.7. Mikrobiyolojik ve Serolojik Araştırmalar	17
3.7.1. Mide Mukozası Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Kùltürü	17
3.7.2. Bakterilerin Nitrat Redüksiyonunun Araştırılması	17
3.7.3. Serumda Anti-CagA IgG ve Mide mukozasında Anti- <i>H.pylori</i> IgA Araştırılması	18
3.7.4. <i>H. pylori</i> İnfeksiyonu Tanısı	18
3.8. İstatistik Değerlendirme	18
4. BULGULAR	19
4.1. <i>H. pylori</i> İnfeksiyonu Dağılımı	19
4.2. Mukoza Histolojisi	19
4.3. CagA Seropozitifliği	22
4.4. Mide Mukozası Histomorfolojisi ve İlişkili Değişkenler	22
4.4.1. Antrum Mukozası Kronik İnfllamasyon şiddeti	22
4.4.2. Antrum Mukozası Nötrofilik Aktivasyon şiddeti	23
4.4.3. Korpus Mukozası Kronik İnfllamasyon şiddeti	23
4.4.4. Korpus Mukozası Nötrofilik Aktivasyon şiddeti	23
4.4.5. Atrofi ve İntestinal Metaplazi şiddetinin Korele Olduğu Değişkenler	23
4.5. Mide Mukozasında Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi	24
4.6. Nitrat Redùktaz Pozitif Bakteri Üremesi	24
4.7. Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesinin Mide Mukozası Histomorfolojisine Etkisi	25
4.8. Histolojik <i>H. pylori</i> Yoğunluğu ve Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi Karşılıklı Etkileşimi	25
4.9. Histolojik <i>H. pylori</i> Yoğunluğu ve Nitrat Redùktaz Pozitif Bakteri Üremesi Karşılıklı Etkileşimi	25
4.10. İnteragastrik pH	27
4.11. İnteragastrik pH ile İlişkili Değişkenler	27
4.11.1. İnteragastrik pH ve Midede non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi İlişkisi	27
4.11.2. Korpus Mukozasındaki <i>H. Pylori</i> Yoğunluğu ile pH İlişkisi	27
4.11.3. MDA Konsantrasyonu ve İnteragastrik pH	28
4.12. Mukozal Anti- <i>H. pylori</i> IgA	28
4.13. Mide Mukozası MDA Konsantrasyonu	28

4.14. Antrum Mukozasında G Hücresi Yoğunluğu	29
4.14.1. Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi ve G Hücresi Yoğunluğu	29
4.14.2. Antral G Hücresi Yoğunluğu ve İle İlişkili Diğer Değişkenler	29
4.15. Mide Epiteli Proliferasyon İndeksi (Pi, Ki-67 Labeling İndeksi)	30
4.15.1. Mide Mukozası Pİ ile <i>H. pylori</i> Yoğunluğu ve CagA İlişkisi	30
4.15.2. Pİ ve Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi İlişkisi	30
4.15.3. Pİ ve İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler (Tüm Popülasyonda)	31
4.15.3.1. Proton Pompa İnhibitörü Alan Grupta Pİ ve İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler	31
4.15.3.2. Proton Pompa İnhibitörü Almayan Grupta Pİ ve İlişkili Olduğu Değişkenler	31
4.15.4. Çoklu Regresyon Analizi	32
4.16. p53 Ekspresyonu	32
4.17. ECL Hücre Hiperplazisi	32
4.17.1. ECL Hücre Hiperplazisi ve <i>H. pylori</i> CagA İlişkisi	33
4.17.2. ECL Hücre Hiperplazisi ve Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi İlişkisi	33
4.17.2.1. Antrum Mukozasında	34
4.17.2.2. Korpus Mukozasında	34
4.17.3. ECL Hücre Hiperplazisinin İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler	34
4.17.3.1. Tüm Popülasyonda ECL Hücre Hiperplazisi ile İlişkili Değişkenler	34
4.17.3.2. Proton Pompa İnhibitörü Alan Hastalarda ECL Hücre Hiperplazisi Derecesinin İlişkili Olduğu Değişkenler	35
4.17.3.3. Proton Pompa İnhibitörü Almayan Hastalarda ECL Hücre Hiperplazisi Derecesinin İlişkili Olduğu Değişkenler	35
4.17.3.4. Çoklu Regresyon Analizi	36
4.18. COX-2 Ekspresyonu	36
4.18.1. COX-2 Ekspresyonu ile <i>H. pylori</i> CagA ve Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi İlişkisi	36
4.18.2. COX-2 Ekspresyonunun Korele Olduğu Değişkenler	37
4.18.3. Çoklu Regresyon Analizi	37
5. TARTIŞMA	38
5.1. İntragastrik pH	39

5.2. Non- <i>H. pylori</i> Bakteri Üremesi	40
5.3. Nitrat/Nitrit	43
5.4. Anti- <i>H. pylori</i> IgA	43
5.5. MDA	44
5.6. G Hücresi Yoğunluğu	44
5.7. Ki-67 ve p53 Ekspresyonu	46
5.8. ECL Hücre Hiperplazisi	47
5.9. COX-2	48
6. SONUÇ	50
7. ÖZET	51
8. SUMMARY	52
9. KAYNAKLAR	53

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Gastroözofajiyal reflü hastalığı'nda (GÖRH) proton pompa inhibitörü ilaçlar medikal tedavinin esasını oluşturmaktadırlar (1-3). Adenokarsinom kaynağı olabilecek Barrett epitelinin gelişmesine yol açabilmesi ve hayat kalitesini olumsuz etkilemesinden dolayı GÖRH'de idame proton pompa inhibitörü tedavisine gerek duyulmaktadır (2-5). Sonuç olarak, GÖRH hastaları proton pompa inhibitörü ilaçları aylarca, hatta yıllarca kullanmak zorunda kalmaktadırlar. Birleşik Krallıkta 1991-95 yılları arasında antiülser ilaçların reçetelenme sıklığı 10 kat artmıştır (6). Aynı ülkede bir başka çalışmada "tekrarlanan reçetelerde" proton pompa inhibitörlerinin %83,7 pay aldığı görülmüştür (7). Avustralya'da 1998'de tüm antiülser ilaçlar içinde omeprazol %25 reçetelenme sıklığı ile 3. sırada yer almıştır (8). Bu çalışmada %109 artış görülen tüm antiülser ilaç reçetelenmesi içinde H₂ reseptör blokerlerin payı %51 artarken proton pompa inhibitörlerinininki %1228 artmıştır. Komplikasyonsuz dispepsi ve "nonspesifik batin semptomları" gibi lisans dışı endikasyonlarda da proton pompa inhibitörü kullanımının %46'lık bir yer tuttuğu görülmüştür (6). Elli yaş üstü kişilerde "Tedavisi En Pahalı On Hastalık" sıralamasında GÖRH altıncı sırada bulunmuş, ayaktan tedavi sıralamasında ikinci olduğu saptanmıştır (9). Bir başka çalışmada, peptik ülser sıklığının azalmasına koşut olarak ülser için proton pompa inhibitörü kullanımının azaldığı, GÖRH nedeniyle proton pompa inhibitörlerinin reçetelenmesinin arttığı ve bu grubun ilk üçteki yerini korumayı devam ettirdiği bildirilmiştir (10). Proton pompa inhibitörü kullanan 97 kişilik bir hasta grubunda GÖRH %78'lik endikasyon oranı ile ilk sırada yer almıştır (11). Bu çalışmada hastaların proton pompa inhibitörünü diğer endikasyonlardakilere göre devamlı kullanmaya daha yatkın olduğu ve %70'inin tedavinin bitiminden sonra tekrar proton pompa inhibitörü kullanmaya başladığı görülmüştür.

GÖRH olgularının mide asidini baskılayan ilaçlara uzun süreli gereksiniminin, bazı sorunları da beraberinde getirebileceğine ilişkin kuşku vardır. Mide asidinin önemli fonksiyonlarından biri, vücuda üst gastrointestinal sistem yolu ile giren patojen mikroorganizmaları inaktif hale getirmektir (12). Mide asit salgısını antiasit ilaçlarla baskılamanın güvenilirliğine dair tartışmalar proton pompa inhibitörlerinin geliştirilmesinden daha eskidir ve H₂ reseptör blokerlerinin ortaya çıkışından beri

devam etmektedir (13). Ancak proton pompa inhibitörlerinin mide asidini H₂ reseptör blokerlerinden daha güçlü olarak ve tama yakın bloke etme potansiyelleri ve özellikle GÖRH'nda mide pH'sının 4 gibi kritik bir sınırın üzerinde tutulmasının tavsiye edilmesi bu tartışmaları artırmıştır.

Mide asit salgısının baskılanmasının prekanseröz süreçleri tetikleyebileceği ifade edilmiştir. Kronik proton pompa inhibitörü kullanımının, *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infeksiyonlu kişilerde kronik atrofik gastrit gelişme ihtimalini artırdığı öne sürülmüş; hipergastrinemiye neden olarak enterokromafin benzeri (*enterochromaffin-like*; ECL) hücrelerin proliferasyonu ile mide karsinoid tümörlerine sebep olabileceği bildirilmiştir (14). Öte yandan, mide asidinin azalmasının, mide sıvısında non-*Helicobacter pylori* bakteri çoğalmasına neden olarak, bu bakterilerin nitratları nitritlere indirgemek suretiyle karsinojen nitrozamin bileşiklerinin oluşumuna yol açabilecekleri, mide mukozasında devamlı immün uyarı ile sürekli inflamasyona sebep olarak, salınan mediyatörlerin karsinogenezi uyarabileceği speküle edilmiştir (12).

Bu çalışmada, *H. pylori* infeksiyonlu olgularda, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının prekanseröz mukozal değişikliklerin sıklığını artırıp artırmadığını ve bazı karsinogenetik süreç göstergelerini nasıl etkilediğini araştırmayı amaçladık.

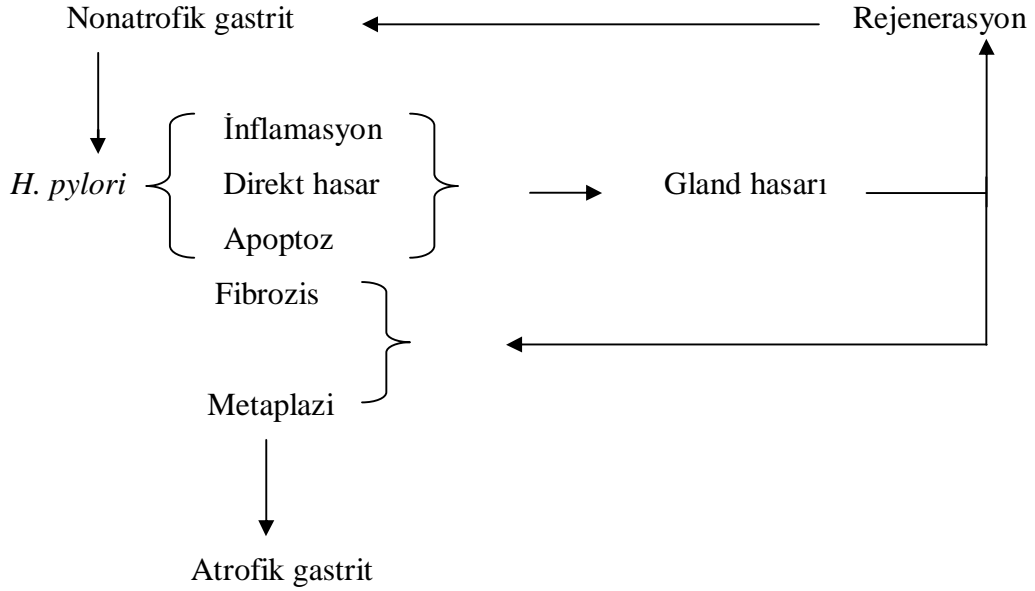
2. TEMEL BİLGİLER

2.1. *Helicobacter pylori*

Bugün dünya nüfusunun yarısı *H. pylori* ile infektidir ve bunların yarısında kronik gastrit vardır (15). Mide mukus tabakası altındaki epitele yerleşen bu gram negatif mikroorganizma, mide kanseri için I. sınıf karsinojen olarak tanımlanmıştır (16). Dar bir pH aralığında, çok özel mikroçevre seçiciliği gösteren bu bakteri, midede öncelikle antruma yerleşir ve korpus büyük oranda korunmuştur (12). Zamanla korpusta da yoğunlaşma eğilimi göstermektedir. Erken evrelerde antral gastrik inflamasyon baskındır ve bu kişiler duodenum ülserine yatkındırlar. İleri evrelerde korpus gastriti baskındır; bu kişilerde inflamasyon şiddetlidir ve multifokal atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazi gibi prekanseröz lezyonlar ortaya çıkabilir. *H. pylori* gastritinin şiddet ve morbiditesinde muhtemelen bakterinin genetik yapısına ek olarak konakçının genetik duyarlılığı ve immun cevabının da rolü vardır (17, 18). Sitotoksin ilişkili gen-A pozitif (CagA+) türün inflamasyona güçlü katkısının olduğu bilinmektedir (19). *H. pylori*'nin konakçı immünitesini uyararak salgılanmasına neden olduğu tümör nekroz faktör (TNF)- α , interlökin (İL)-1 β , İL-6, İL-8, İL-12, İL-23, interferon (İFN)- γ ve siklooksijenaz (COX)-2'nin mide mukozasındaki inflamasyonda rol aldıkları bildirilmiştir (20-22). İnflamasyon, yüzeysel –nonatrofik– kronik gastrit olarak sürebilir ya da atrofik gastrite ilerleyebilir. İnflamasyonun atrofik gastrite ilerlemesindeki mekanizma tam olarak bilinmemektedir (23). Bununla birlikte üzerinde durulan olasılıklar şunlardır: İnfeksiyonda hasar gören epitel yenilenebilir ve bu döngü tekrarlayabilir. Gland epiteli yenilenme kabiliyetini kaybedebilir; fibroblast birikimi ve ekstraselüler matriks yapımı ile lamina propriyada glandların yerini fibrozis alabilir. Böylece geri-dönüşümsüz hücre ve fonksiyon kaybı yani “atrofi” meydana gelebilir. Atrofik gastrit gelişmesinde halinde -muhtemelen glandların boyun bölgelerinde bulunan kök hücrelerden kaynaklanan- intestinal epiteli taklit eden neoplastik epitel, yani intestinal metaplazi oluşur. *H. pylori*'nin midede oluşturduğu histopatolojik değişiklikler Şekil 1.'de sunulmuştur. *H. pylori* ile infekte hastalarda yıllık %2-11.2 oranında gastrik atrofi gelişme insidansı bildirilmiştir (24). Kardiya dışı mide kanseri tanısı ile opere edilen 317 hastada, *H. pylori* seroprevalansının %82.2, anti-CagA IgG seroprevalansının %84.2 olduğu ve bu oranların

kontrollerdekenden anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır (25). Çok merkezli bir çalışmada *H. pylori* ile enfekte olanlarda mide kanseri gelişme riski 2.36 kat yüksek bulunmuştur (26). Bir başka çalışmada, *H. pylori* enfeksiyonunda mide kanseri riskinin 2.1 kat arttığı, ancak CagA+'lığı ile mide kanseri arasında anlamlı ilişki olmadığı saptanmıştır (27).

Çin'de mide kanseri prevalansının yüksek ve düşük olduğu iki bölgede yapılan bir çalışmada, kanser prevalansı yüksek olan bölgede anti-CagA IgG prevalansı anlamlı olarak yüksek bulunurken, anti-*H. pylori* IgG prevalansının her iki bölgede değişmediği gözlenmiştir (28).



Sekil 1. *H. pylori*'nin midede oluşturduğu histopatolojik değişiklikler

Bu çelişkili sonuçlar *H. pylori*'nin mide karsinogenezini başlatmakta muhtemelen yeterli tek faktör olmadığını ve diğer faktörlerin varlığında etkin olabileceğini göstermektedir (29).

2.2. Gastrin ve Enterokromafin Benzeri Hücre Proliferasyonu

Gastrin, başlıca mide antrumunda ve duodenum proksimalinde yerleşmiş bulunan gastrin (G) hücrelerinden ve kısmen de korpusta bazı glandlardaki

enteroendokrin hücrelerden salgılanır (30, 31). G hücreleri lümeneye kadar uzanan mikrovillus benzeri oluşumları nedeniyle '*open endocrin cell*' olarak isimlendirilirler (32, 33). Gastrin'in esas fonksiyonu paryetal hücrelerden asit salgılatmasıdır ve bu yönüyle histamine göre 1500 kat güçlüdür. Gastrin salgısı lüminal, parakrin, endokrin ve nöral uyarılarla düzenlenir. Alınan gıdalar içindeki küçük peptidler, aromatik aminoasitler (fenilalanin, triptofan), kalsiyum ve mide pH'sı gastrin için güçlü lüminal uyarılardır. Mide lümenindeki pH değişikliği gastrin salgısını 2 yolla etkileyebilir: Birincisi, alınan gıdalarla lüminal pH yükselerek 6'nın üzerine çıkabilir. Yüksek pH, G hücrelerini doğrudan uyararak gastrin salgısını ve gastrin de mide korpusunda yerleşmiş olan ECL hücrelerin aracılığı ile paryetal hücrelerden asit salgısını gerçekleştirir (lüminal etki). İkincisi, düşük pH'nın antrumdaki somatostatin (D) hücrelerini doğrudan uyararak salgılattığı somatostatin, parakrin etkisi ile G hücrelerini ve ECL hücrelerini bloke edebilir (negatif geri-besleme). Lümen pH'sı 3'ün altına düştüğü zaman gastrin salgısı azalır ve 2'nin altına düşerse hemen hiç gastrin salgısı olmaz. Vagal uyarılar gastrin serbestleştirici peptid (GRP) aracılığı ile gastrin salgısını artırır (32).

Gastrin ayrıca mukozada, özellikle oksintik bez epitel ve ECL hücrelerinde RNA ve DNA sentezini uyararak trofik etki gösterir. ECL hücreleri mide bezlerinde lamina propria içinde oksintik hücrelere komşu yerleşim gösterirler ve oksintik mukoza hücrelerinin %1'inden azını oluştururlar. Histidin dekarboksilaz enzimi ile histidinden histamin oluşturan ve depolayan bu hücreler gastrin, kolesistokin ve asetilkolin ile uyarılırlar (34). En önemli inhibitörleri somatostatindir. Mukozada sınırlı bölünebilme kabiliyeti olan diğer hücrelerin aksine ECL hücreleri adenomatöz yapılar oluşturabilecek bölünme kapasitesine sahiptirler. Gastrinoma ve kronik atrofik gastrit yanı sıra, uzun süre kullanılan proton pompa inhibitörlerinin de hipergastrinemi ile ECL hücre hiperplazisi ve karsinoid tümör geliştirebilecekleri ileri sürülmüştür (14). *H. pylori* infeksiyonunun, D hücre sayısını azaltarak hipergastrinemiye neden olmak suretiyle ECL hücrelerinin proliferasyonuna yol açabileceği de bildirilmiştir (35). Kim ve arkadaşları 26'sı *H. pylori* pozitif 32 hasta üzerinde yaptıkları bir çalışmada, serum gastrin düzeyinin *H. pylori* ile enfekte hastalarda yüksek olduğunu bulmuşlar; ancak bu hastaların mide biyopsilerinde G ve D hücre yoğunluğunun – CagA durumu dikkate alınmadığında- *H. pylori* infeksiyonu ile değişmediğini; buna karşın CagA+ *H. pylori* infeksiyonlularda D hücre yoğunluğunun nonenfekte

bireylerdekinden düşük olduğunu ve eradikasyon tedavisi ile yükseldiğini saptamışlardır (36).

Hipergastrinemiden CagA'nın sorumlu olduğuna ve D hücrelerinin rolüne işaret eden bu bulgular yanında, *H. pylorinin* doğrudan gastrin salgılatıcı rolünü ortaya koyan bir çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmada köpek antral G hücre kültürü değişik *H. pylori* suşları ile inkübe edildiğinde gastrin salınımının uyarıldığı gösterilmiştir (37). Öte yandan, *H. pylori* eradikasyonundan 3 ay sonra serum gastrin düzeylerinin düşmeye başladığı belirlenmiştir (38).

2.3. Asit Salgısının Baskılanması ve Midede Non-*H. Pylori* Bakteri Çoğalması

Mide asit salgısı bütün vertebralılarda bulunan, yüksek enerji gerektiren, filogenetik olarak çok eski bir fonksiyondur. Mide asidi, korpus bezlerindeki paryetal hücrelerden salgılanır; mide lümeni H⁺ konsantrasyonu kan ve dokulardakinin 3 milyon katına çıkabilir. Salgılanma fizyolojisinde rol alan başlıca mediyatörler gastrin, histamin ve asetilkolindir. Mide asidinin protein sindirimi için pepsinojeni aktifleştirerek pepsine dönüştürmesi dışında, vücuda oral yolla giren patojen mikroorganizmalara karşı savunma bariyeri olarak önemli fonksiyonu vardır. Savunma fonksiyonu, düşük pH düzeylerinde gerçekleşir (39). Dolayısı ile mide pH'sını yükseltecek her işlem, mikroorganizmaların bu engeli aşmalarına ve/veya midede çoğalmalarına uygun ortam oluşturabilir.

Atrofik gastrit, enteral beslenme, malnütrisyon veya mide asidini azaltacak medikal ya da cerrahi girişimler hipo- veya aklorhidrinin sebebi olabilir (40-43). Sağlıklı kişilerde mide pH'sı 4'ün altında tutulur. GÖRH tedavisinde ise mide pH'sının 4'ün üzerinde tutulması tavsiye edilir. Bu sınır mide asidinin bakterisid etkisi için kritik bir sınırdır (39). pH 4'ün üzerine çıktığı zaman mide lümeninde bakteri çoğalması başlar. Bu durum akut gastroenterit, toplum kaynaklı pnömoni veya nazokomiyal enfeksiyonlara sebep olabilir (44, 45). Omeprazol verilen hayvanların midelerinde mikroorganizma kolonizasyonunun anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır (46). İnsanlarda akut hipo- ve aklorhidri vakalarında mide lümeninde bakteri çoğalması görülmüştür (47, 48). Craig ve arkadaşları 51 gönüllü üzerinde yaptıkları

bir kontrollü çalışmada omeprazol tedavisinin mide sıvısında bakteri sayısını anlamlı olarak artırdığını rapor etmişlerdir (49).

Midede üreyen non-*H. pylori* bakteriler, metabolik etkileri ile nitratları nitritlere indirgeyerek karsinojenik etkilerinden kuşku edilen nitrozamin bileşiklerinin oluşmasına yol açabilir (50-52). Ayrıca, mide mukozasında inflamatuvar değişikliklere neden olur (53). Böylece, serbest oksijen radikallerinin açığa çıkmasına ve bir lipid peroksidasyon ürünü olan ve mutajenesi gösterilmiş bulunan malondialdehid (MDA) oluşumuna yol açarak mide karsinogenezinde rol alabilirler.

2.4. Nitrozaminler

Nitrozaminler sigara dumanında bulunan ve akciğerin sigaraya bağlı karsinogenezinde rol aldığından kuşku edilen tütün alkaloidleridir (54). Bu bileşikler sigara ile dışardan alınabileceği gibi insanlarda endojen olarak da meydana gelebilir. Hazır gıdalar, sebzeler ve et ürünleri nitrozamin substratı olabilecek nitrat içerebilirler (55, 56). Tükürük de nitrozamin substratı olan endojen nitrit kaynağıdır; dışardan alınan nitratların gastrointestinal sistemden absorbe olarak tükürükten salgılanması ile bir sirkülasyon oluşur. Hipoklorhidrik midede çoğalan bakteriler, nitrat redüktaz enzimi ile nitratları nitritlere dönüştürerek, nitrozamin bileşikleri oluşumuna yol açabilirler (55-58). İnsanlarda çeşitli nedenlerle gelişen hipoklorhidride mide lümeninde nitrit düzeyinin arttığı gözlenmiştir (47, 48, 59, 60). Mide kanseri prevalansının yüksek olduğu bölgelerde yaşayan insanların idrarlarında bir nitrozamin metaboliti olan nitrozoprolin'in arttığı görülmüştür (61). Nitrozamin bileşikleri karaciğer ve diğer dokularda metabolize olarak aktif radikallere dönüşür ve bu radikallerin DNA bazlarına kovalan bağlanması ile DNA-*adduct* denen artefaktlar oluşur (54, 62, 63). Bu bağlanma kritik bir DNA segmentinde metilasyona sebep olabilir (64). Eğer hücrede metillenmiş DNA segmenti tamir edilemez ve/veya hücre apoptoza gidemez ise, replikasyonda mutant bir gen gibi fonksiyon görerek karsinogenezin başlatıcısı olabilir (65, 66). Hayvanlarda nitrozamin bileşiklerinin akciğer, karaciğer ve nazal kavite tümörlerine sebep olduğu gösterilmiştir (66, 67). Nitrozamin bileşiklerinin O⁶-guanin ve O⁴-timin bazları düzeyinde *adduct* yaptığı ve karsinogenezi uyardığı sanılmaktadır (62).

2.5. MDA

MDA bir lipid peroksidasyon ürünüdür. Değişen ölçüm metodlarına bağlı olarak plazma düzeyleri 0,1-5 mcg/L arasında değişebilir (68). MDA, DNA bazları ile kovalan bağ yaparak DNA-*adduct* oluşumuna sebep olur (69). Bu DNA tamir edilemez ise karsinogenez için önemli mutasyon kaynağı olabilir (70). MDA hücre içinde oluşabilen bir aldehit olduğu için hücre kültürlerinde mutajenitesinin değerlendirilmesi önem taşımaktadır (71). Memeli hücrelerinde RNA polimerazı bloke ettiği görülmüştür (72). İnsan kolon epitel hücre kültürlerinde, koloni oluşturma yeteneğini (sitostatik etki) ve ultraviyole ışınları ile hasarlanmış hücrelerde tamir yeteneğini baskıladığı görülmüştür (71). İnsan hücresi ve bakterilere transfer edilen MDA'nın mutasyonlara sebep olduğu gösterilmiştir (73, 74). Meme kanseri hastalarının serumlarında (75) ve kanserli dokularında MDA konsantrasyonunun arttığı bildirilmiştir (76). Ayrıca, mide kanseri doku örneklerinde MDA düzeyinin yüksek olduğu bulunmuştur (77). *H. pylori* infeksiyonunun da mide mukozasında MDA düzeyini yükselttiği saptanmıştır (78, 79).

2.6. Ki-67 ve p53

Bütün kanser dokularının hücre hayat döngüsünde proliferasyon lehine ve/veya apoptoz aleyhine bir denge bozulması vardır (80). Ki-67 proliferasyon fazındaki hücrelerde eksprese olan bir nükleer antijendir (81). G1, S, G2 ve M fazında eksprese olmakta fakat dinlenme fazındaki normal hücrelerde eksprese olmamaktadır. Tümörlerin proliferatif aktivitesini araştırmak için kullanılabilen ileri sürülmüştür (82, 83).

Hücre kültürü çalışmalarında, Ki-67'ye karşı geliştirilmiş antikorların hücrelere mikroiğneleme sonucunda, hücrelerde DNA sentezinin durduğu, bölünmenin yavaşladığı ve Ki-67 ekspresyonunun saptanmadığı gözlenerek, Ki-67'nin hücre proliferasyonundaki önemi ortaya konmuştur, fakat fonksiyonu aydınlatılamamıştır (84). Kolorektal kanserlerde Ki-67 ekspresyonunun hayatta kalım süresi ile ilişkili doğrusal olduğu bildirilmektedir (85).

Apoptozun bir işaretçisi olan p53, 17. kromozom üzerinde yerleşmiş tümör süpressör genidir. Normal mide mukoza hücrelerinde p53 ekspresyonu olmamaktadır

(86). DNA hasarı gelişmiş bir hücrede DNA tamiri mümkün değilse hücrenin apoptozu için eksprese olur, yaklaşık 20 dakika yarı ömrü vardır ve *ubiquotin* aracılı proteoliz ile yıkılır. Elli yaş altında multipl sistem tümörlerine 25 kat yatkın olan Li-Fraumeni sendromlu kişilerde her iki p53 alleli de mutanttır (87). Antineoplastik ilaçlarla DNA sentezi durdurulan neoplastik hücrelerde Ki-67 ekspresyonuna p53 ekspresyonunun eşlik etmesi p53 aşırı ekspresyonu olan hücrelerde Ki-67'nin de araştırılması gerektiği sonucuna götürmüştür (84). Mide kanseri olgularında p53 mutasyonu bildirilmiştir (88, 89). Sung ve arkadaşları mide adenokarsinomalı 15 hastadan alınan operasyon spesimenlerinden 6'sının kanser dokusunda p53 mutasyonu tespit etmişlerdir (89). Bu çalışmada kanserli dokuya komşu mukozada görülen iki Tip I ve bir Tip III intestinal metaplazi odağında da p53 mutasyonu gözlemlenmiştir. Ancak kanserli doku ve intestinal metaplazi odaklarındaki p53 mutasyonunun aynı formda olmadığı saptanmıştır. Ranzani ve arkadaşları erken mide kanserli 71 ve ilerlemiş mide kanserli 18 hastada yaptıkları bir çalışmada, 24 hastanın fonksiyonel p53 mutasyonu taşıdığını bulmuşlardır. Bu çalışmada intestinal tip erken mide kanserlerinde p53 mutasyonu oranı %41 iken, difüz tipte %4 bulunmuştur. Erken ve ilerlemiş intestinal tip mide kanserinde p53 mutasyonu sıklığı değişmezken (%41 ve %50), ilerlemiş difüz tip mide kanserinde %4'den %33'e çıkmıştır. Ayrıca kansere komşu displazik odaklarda ve uzak intestinal metaplazi odaklarındaki neoplastik hücrelerde artmış normal (*wild*) p53 immünoaktivitesi gözlemlenmiştir (90).

Kanserler sıklıkla premalign lezyonlarla aynı genetik anomaliyi taşıyan, mutasyona uğramış hücrelerin klonal çoğalması olarak görülebilir (89). Bu nedenle, intestinal metaplazi odaklarında görülen p53 birikiminin, displazinin başlama noktası ve en azından intestinal tip mide kanserleri için genetik karsinogenezin başlangıcı olarak kabul edilebileceği ileri sürülmüştür (90).

2.7. COX-2

COX-2, poliansatüre yağ asitleri ve araşidonik asitten prostoglandin H₂, prostasiklin ve tromboksan sentezinde rol alan kilit enzimdir. COX-2 inflamasyonda rol alan lipopolisakkaridler, İL-1 β ve TNF gibi mediyatörlerin uyardığı MAPK, NF- κ B, ve nükleer faktör interlökin-6 (NF-İL-6) aracılığı ile eksprese olmaktadır (91, 92). Yapısal olan COX-1'nin aksine COX-2 inflamasyon ve tümörlerde uyarılan bir

enzimdir; *H. pylori* ile infekte mide dokusunda COX-1 ekspresyonu inflamasyona rağmen değişmezken, gland epitelinde artmış COX-2 ekspresyonu gözlenmiştir (93). Selektif COX-2 inhibitörü selekoksib'in farelerde polip oluşumunu önlediği ve regresyonunu sağladığı bildirilmiştir (94). Mutant 'antijen sunan hücre' taşıyan farelerde yapılan bir çalışmada sülindak'ın bir anti-inflamatuvar metaboliti olan sülindak sülfid'in enterositlerde apoptozu kontrollerin düzeyine çıkardığı gözlenmiştir (95). Polip geliştirilen farelerde, selekoksib veya sülindak verildiğinde polip dokusunda COX-1 ve COX-2 ekspresyonu ile DNA replikasyonunun kontrol grubundakinden daha az olduğu saptanmıştır (96). Özofagus skuamöz hücre displazisi ve kanser hücrelerinde, normal epitele göre anlamlı COX-2 ekspresyon artışı görülmüştür (97). İntestinal tip mide adenokanserlerinde ve displazisinde, neoplastik epitelde COX-2 ekspresyonu saptanmıştır (95). Mide kanserli hastaların primer yakınlarının normal mide dokusunda da COX-2 ekspresyonunun arttığı bildirilmiştir (99). Öte yandan uzun süreli aspirin kullanımının kolorektal kanser riskini %40-50 azaltabileceği bildirilmiştir (100).

COX-2 ekspresyonunun neoplastik transformasyon sürecinde, erken prekanseröz dönemde etkin olduğu (99), kanser dokusunda anjiojenetik faktörleri uyarak anjiojenezi sağlaması, proliferasyonu uyarması, apoptozu önlemesi, mutagenezi arttırması, immün cevabı tümör lehine düzenlemesi gibi fonksiyonları olduğu tahmin edilmektedir (101). Önceki bilgilerin aksine, normal mide dokusunda da COX-2 ekspresyonu olduğunu bildiren yeni çalışmalar vardır (102).

3. MATERYAL ve METOD

3.1. Olgular

Çalışmaya, GÖRH tanısı ile en az bir yıldan beri proton pompa inhibitörü kullanmakta olan 33 ve GÖRH tanısı ile endoskopi endikasyonu konan, fakat proton pompa inhibitörü veya H₂ bloker kullanmayan 32 olgu alındı. Proton pompa inhibitörü kullanmayan gruptaki bir hastada erken mide kanseri saptandığı, birinin biyopsi örneklerine ulaşamadığı ve en genç 3'ü, iki grup arasındaki yaş uyumunu bozduğu için çalışmadan çıkarıldı. Böylece proton pompa inhibitörü kullanmakta olan 33 ve kullanmayan 27 olgunun verileri değerlendirildi.

Dışlama kriterleri şunlardı: Son bir ay içinde antibiyotik, NSAİİ, probiyotikli ürün veya bizmut kullanmış olma; mide rezeksiyonu hikayesi, karaciğer ve böbrek hastalığı, kilo kaybı, progresif disfaji, tekrarlayan kusma, hematemez, melena, anemi, palpabl kitle ve lenfadenopati bulunması; 18 yaşın altında olma, çalışmaya katılmayı kabul etmeme.

Endoskopi sırasında, kanama ve mide tümörü saptanan olgular çalışmadan çıkarıldı.

Araştırma projesi SDÜ Tıp Fakültesi Etik Kurulunca kabul edildi, hastalar yazılı ve sözlü olarak bilgilendirildikten sonra onayları alındı.

3.2. Endoskopi

Endoskopi öncesi, serolojik incelemeler için, antekübital venden 5 cc kan örneği alındı; serumu ayrıldı ve inceleme zamanına kadar derin dondurucuda -80 °C'de saklandı.

Endoskopi, en az 8 saat gece açlığını takiben sabah 09.00, 12.00 arasında yapıldı. Endoskoplar, yıkanıp temizlendikten sonra 30 dakika glutaraldehid ile dezenfekte edildi ve işlem kanallarından steril su geçirildi. Mideye girildikten sonra, nitrat/nitrit araştırılması ve pH ölçümü için fundus ve korpustan steril kateter ile yaklaşık 10 ml mide sıvısı alındı. Mide antrumundan non-*H. pylori* bakteri kültürü için 2, hızlı üreaz testi, immünohistokimyasal ve histopatolojik incelemeler için 2'şer,

MDA ve anti-*H. pylori* IgA ölçümü için 4 biyopsi olmak üzere toplam 10 biyopsi örneği alındı. Mide korpusundan non-*H. pylori* bakteri kültürü için 2, immünohistokimyasal ve histopatolojik çalışmalar için 2, MDA ve anti-*H. pylori* IgA ölçümü için 4 olmak üzere toplam 8 biyopsi örneği alındı. Antral biyopsiler pilora 3 cm mesafeden, korpus biyopsileri antrum-korpus bileşkesinin 3 cm proksimalinden, büyük kurvatür tarafından alındı.

Nitrat/nitrit ölçümü yapılacak mide suyu ile PBS (FLUKA 79378, Germany) içine konan biyopsi örnekleri (MDA ve anti-*H. pylori* IgA çalışmaları için) çalışma zamanına kadar -80 °C'de derin dondurucuda tutuldu. Histopatolojik ve immünohistokimyasal çalışmalar için alınan biyopsi örnekleri %10 formol içinde Patoloji Laboratuvarına ulaştırıldı.

3.3. Doku Süpernatanın Hazırlanması

Önce pH'sı 7.4 olan Phosphate-Saline Buffer hazırlandı. Buna antioksidasyon amacıyla %20 oranında 500 ppm'lik BHT kondu. Dokular teflon homojenizörde bu tampon içinde ve buzlu ortamda homojenize edildi. Daha sonra 10.000 X g'de 30 dakika boyunca çevrilerek süpernatın hazırlandı. Dokuların immünojenik ve biyokimyasal araştırmaları için bu süpernatın kullanıldı.

3.4. Kullanılan Kimyasal Madde ve Malzemeler

1	PT buffer-1 50 ml 100 konsantre 5 litre labvision tam otomatik boyama cihazına uyumlu.	TA050-PM1X LABVISION
2	PT buffer-2 50 ml 100 konsantre 5 litre labvision tam otomatik boyama cihazına uyumlu	TA050-PM2X LABVISION
3	Alcien Blu pH 2.5 PAS 100	REF 5053 LOT 9463/GBL
4	Tris buffer PBS konsantre 10 L için	TA-999-TT LABVISION
5	%3 H2O2 İH için 125 mL	TA-125-HP LABVISION
6	Ki-67 (MIB-1) 7 mL kullanıma hazır. Parafin, rat ve human immünohistokimyasal uyumlu.	Clon MIB-1, 1:50, mouse monoklonal, Neomarkers
7	Kromojen A 7 mL kullanıma hazır. Parafin, rat ve human immünohistokimyasal uyumlu	Clon SP12 1:100 rabbit monoklonal, Neomarkers
8	p53 0.5 mL konsantre. Parafin, rat ve human immünohistokimyasal uyumlu	Clon SP5 1:50 rabbit monoklonal Neomarkers
9	HRP DAB Kromojen 125 ml	TA-125-HDX LABVISION
10	Polilizinli lam (72'lik)	MENZEL
11	COX-2 Parafin, rat ve human immünohistokimyasal uyumlu 1 MI	SC-1747 Goat polyclonal 1:100 Santa Cruz Biotechnology CA
12	HRP LP kit. Labvision tam otomatik boyama cihazı ile uyumlu	TP-125-HL LABVISION
13	Gastrin 0.5 mL konsantre parafin, rat ve human immünohistokimyasal uyumlu	Gastrin Rabbit polyclonal 1:100 Neomarkers
14	Nitrate Broth	FLUKA 72548 Germany
15	Griess kosvays's nitrate reagent	Fluka 03553 Sigma Germany
16	Zinc Dust	Riedel-de Haen, Sigma, Switzerland
17	Kanlı agar hazır besi yeri	Orbak Kimya Tıbbi Cihazlar Ltd.Şt. /ANKARA
18	EMB agar hazır besiyeri	Orbak Kimya Tıbbi Cihazlar Ltd.Şt. /ANKARA
19	Çikolata agar hazır besiyeri	Orbak Kimya Tıbbi Cihazlar Ltd.Şt. /ANKARA
20	Anaerob kültür için anaerob gaz generating kit (50'lik)	MERCK 113820 Germany
21	Tiyoglukat buyyon 500 gr	MERCK 108190 Germany
22	Anti- <i>H pylori</i> IgA ELİSA kit	IBL Hamburg
23	Anti- <i>H pylori</i> Cag IgG ELİSA kit	DIA.PRO, Milano, Italy
24	Nitrit / Nitrat kiti colorimetrik	Nitrit/Nitrat, Colorimetric Method, Roche Cat No=11746081001
25	Fosfat buffer salin 100 mL flakon (5 adet)	FLUKA 79378 Germany

3.5. Biyokimyasal Araştırmalar

3.5.1. Mide Sıvısında pH Ölçümü

Cam elektrot kullanarak dijital pH-metre cihazı ile ölçüldü.

3.5.2. Mide Sıvısında Nitrat/Nitrit Ölçümü

Mide sıvısında kolorimetrik metodla üretici firmanın önerileri doğrultusunda ölçüldü (Nitrit/Nitrat, Colorimetric Method, Roche Cat No=11746081001). Ölçüm ile bulunan değer, mide sıvısındaki nitrat ve nitrit'i içeren "total nitrit" değeri mg/L olarak belirlendi.

3.5.3. Korpus ve Antrum Mukozasında MDA Ölçümü

Hazırlanan süpernatandan 100 µL alınarak alikotlandı. 100 µL'lik süpernatana 20 µL 6 M NaOH ilave edilerek vorteksle karışması sağlandı. Bu karışım proteine bağlı MDA'nın alkalen hidrolizi amacıyla 60°C'de 30 dakika boyunca inkübe edildi. İnkübasyondan hemen sonra proteinlerin presipitasyonu için 50 µL %35 (v/v) perklorik asit ilave edildi. Tekrar vortekslenerek 2800 X g'de 10 dakika boyunca santrifüj edildi. Süpernatanlardan 100 µL alınarak 10 µL 5 mM DNPH ile türevlenerek vortekslendi. Karışımlar ışısız ortamda oda ısısında 30 dakika inkübe edildikten sonra HPLC sistemine hazır hale getirildi (Kromatografik koşullar: Kolon: 5µm, 125x4mm Nucleosil 100C18 RP column F Rate: 0.6 mL/min Temp: RT UV WL: 310 nm Cihaz: Thermo Finnigan with UV spectrophotometer (DAD) MP (Isocratic) : ACN / H₂O / Acetate (38 / 62 /0,2 -v/v/v) (103).

3.6. Histopatoloji ve İmmünohistokimyasal Araştırmalar

Antrum ve korpus biyopsi örnekleri %10'luk formalinde fikse edilerek, dehidratasyondan sonra parafine gömüldü ve 4 mikron kalınlığında kesitler alındı.

3.6.1. Histopatolojik Araştırmalar

Antrum ve korpus kesitleri hematoksilin-eozin ve Toluidin mavisi ile boyanarak Modifiye Sydney Sistemi'ne göre inflamasyon, aktivasyon, metaplazi ve atrofi; Periodik Asit Schiff + Alcian Blue ile boyanarak intestinal metaplazi ve Toluidin mavisi ile boyanarak *H. pylori* değerlendirmesi yapıldı.

3.6.2. İmmünohistokimyasal Araştırmalar

Preparatlara H₂O₂ damlatılarak 20 dakika inkübasyon yapıldı. *Tris-buffered saline* (TBS) ile 5 dakika yıkandı. Ultra V blok ile 5 dakika *blocking* yapıldı. İmmünohistokimyasal boyama, streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile Lab Vision Autostainer cihazında yapıldı. Slaytlar deparafinize edildi. Nonspesifik bağlanma Ultra-V serum ile önlenerek, *antijen retrieval* 0.01 M Sitrat Buffer (pH 6.0) ile 20 dakika 98 °C'de ısıtılarak ve oda ısısında 20 dakika tutularak sağlandı.

Primer antikor olarak: COX-2 (SC-1747 Goat polyclonal 1:100 Santa Cruz Biotechnology CA) 45 dakika, Ki-67 (MIB-1, 1:50 Neomarkers) 45 dakika, Kromogranin A (Clon SP12, rabbit monoklonal, Neomarkers, 1:100) 45 dakika, p53 (Clon SP5 rabbit monoklonal Neomarkers 1:50) 45 dakika, ve Gastrin (Rabbit polyclonal 1:100 Neomarkers) 45 dakika uygulandı. Zıt boya Mayer Hematoksileni ile yapıldı.

Histolojik ve immünohistokimyasal incelemeler; hastaların proton pompa inhibitörü kullanma, *H. pylori*, CagA durumu ve biyopsi lokalizasyonundan habersiz olan iki patolog tarafından (MÇ, NK) gerçekleştirildi. İmmünohistokimyasal analizlerde, bu patoloğların bireysel değerlendirmelerinin ortalamaları kullanılmıştır.

3.6.2.1. COX-2 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Her kesitte rastgele 5 büyük büyütme alanı seçildi. En az 1000 hücre sayıldı. Pozitif boyanmaların yüzdesi tespit edildi ve semikantitatif olarak 4 gruba ayrıldı: %0-4 arası negatif (0); %4-29 arası zayıf (1); 30-59 arası orta (2) ve %60'dan fazlası güçlü boyanma (3) olarak değerlendirildi (104).

3.6.2.2. Ki-67 Labeling İndex (Proliferasyon İndeksi)

Rastgele 10 (yaklaşık 400 hücrelik) alanda 40x objektif altında Ki-67 pozitif nükleer boyanma sayıldı. Proliferasyon İndeksi (PI), sayılan işaretli nükleus / total epitel hücre nükleusu oranı olarak ifade edildi (105).

3.6.2.3. p53 Ekspresyonunun Değerlendirilmesi

Rastgele 10 (yaklaşık 400 hücrelik) alanda 40x objektif altında p53 pozitif nükleer boyanma sayıldı. p53 ekspresyonu, sayılan işaretli nükleus / total epitel hücre nükleusu oranı olarak ifade edildi. p53 boyanması hücrelerin %10'undan fazla ise p53 pozitif kabul edildi (105).

3.6.2.4. ECL Hücre Hiperplazisinin Değerlendirmesi

Solcia Skalası'na göre kromogranin-A ekspresyonu yapan hücrelerin yerleşimi ve hiperplazisi değerlendirilerek yapıldı (106). Buna göre, 0: hiperplazi yok, 1: difüz hiperplazi (birkaç hücrenin kümelenmesi), 2: lineer hiperplazi (mukozanın milimetresinde en az 5 hücreden oluşan 2 sıra halinde), 3: mikronodüler hiperplazi (mukozanın lineer milimetresinde 5 veya daha fazla hücre, 1-2 küme halinde hiperplazi) olmak üzere 4 grupta değerlendirildi.

3.6.2.5. G Hücre Yoğunluğunun Değerlendirilmesi

Büyük büyütmede rastgele 10 alan sayıldı ve 10 alanda pozitif boyanan hücrelerin yüzdelerinin ortalaması G hücresi yoğunluğu olarak kabul edildi (107).

3.7. Mikrobiyolojik ve Serolojik Araştırmalar

3.7.1.Mide Mukozası Non-*H. pylori* Bakteri Kültürü

Mide biyopsi örnekleri alındıktan sonra doğrudan redükte edilmiş tiyoglukolatlı buyyona (MERCK 108190, Germany) konuldu ve kısa süre içerisinde laboratuvara ulaştırıldı. Örnekler, aerop bakteriler için kanlı agar, çikolata agar, eozin metilen blue (EMB) agar besiyerlerine inoküle edilip aerop koşullarda ve anaerobik bakterilerin izolasyonu için Schadler agar besiyerlerine ekim yapılıp etüvde, anaerop koşullarda ve 37 °C de inkübe edildi. remeler aerop mikroorganizmalar için 24 ve 48. saatlerde ve anaerop mikroorganizmalar için 48. saatin sonunda değerlendirildi.

İzole edilen mikroorganizmalar mikroskopik özelliklerine göre incelendi. Gram boyama, katalaz, oksidaz gibi ilk aşama testlerinin ardından Gram negatif basiller *triple sugar iron agar*, üre besiyeri, sitrat besiyeri ve *lysine iron agar*'da üreme özelliklerine, indol, metil kırmızısı, Voges-Proskauer testi sonuçlarına göre identifiye edilmeye çalışıldı. Ayrıca ID32GN (mini-API Biomerieux) kitleri ile idantifikasyon işlemleri sonuçlandırıldı. Gram pozitif boyanma özelliği gösteren mikroorganizmalar katalaz, koagülaz testlerinin yanında gerektiğinde esklin besiyerinde ve %6,5'luk NaCl'l besiyerinde üreme özelliklerine göre değerlendirildi. Stafilokok türlerinin idantifikasyonu ID32Staph (mini-API Biomerieux) kitleri ile sonuçlandırıldı. İzole edilen mayalar germ tüp testi ile değerlendirildi ve idantifikasyon işlemleri için ID32C (mini-API Biomerieux) kitleri kullanıldı.

3.7.2. Bakterilerin Nitrat Redüksiyonunun Araştırılması

İzole edilen mikroorganizmalarda nitrat redüksiyonu araştırılması için nitrat redüksiyon testi yapıldı. Bakteriler *nitrat broth*'a (Fluka, Sigma, Switzerland) ekilip inkübe edildikten sonra *Griess reagent* (Fluka, Sigma, Germany) damlatıldığında kırmızı renk değişikliğinin izlenmesi ile nitrat redüktaz pozitif olarak değerlendirildi. Renk değişikliği gözlenmeyen tüplere çinko tozu damlatılarak tekrar renk değişikliği olup olmadığına bakıldı. Çinko tozu (Riedel-de Haen, Sigma, Switzerland) damlatıldığında kırmızı renk değişikliği gözlenen bakteriler negatif olarak

değerlendirildi. İlk basamakta renk değişikliği olmayan ve çinko tozu eklendiğinde de renk değişikliği görülmeyen bakteriler için nitrat redüksiyonu pozitif kabul edildi.

3.7.3. Serumda Anti-CagA IgG ve Mide Mukozasında Anti-*H. pylori* IgA Araştırılması

Hastaların serumlarında *H. pylori* CagA antijenine karşı oluşmuş IgG sınıfı antikolar (anti-CagA IgG), *enzim linked immunosorbent assay* (ELISA) (DIA.PRO, Milano, Italy) yöntemi ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda araştırıldı. Mide mukozasında anti-*H. pylori* IgA düzeyleri biyopsi örneğinden hazırlanan süpernatantlarda Anti-*H. pylori* IgA ELISA kitleri (IBL, Hamburg) ile üretici firmanın önerileri doğrultusunda çalışılarak araştırıldı.

3.7.4. *H. pylori* İnfeksiyonu Tanısı

Üreaz testi, histoloji ve serolojik anti-CagA IgG'dan en az ikisinin pozitif olması durumunda *H. pylori* infeksiyonu pozitif kabul edildi.

3.8. İstatistik Değerlendirme

Sürekli değişkenlerin normal dağılımı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Gruplar arası farklılaşmanın önemi Kruskal-Wallis, iki grup arası farklılaşmanın önemi Mann-Whitney *U* testi ile değerlendirildi. Kategorik verilerin dağılımındaki farklılaşmalar X^2 veya kesin Fisher testleriyle araştırıldı; gerektiğinde Yates düzeltmesi kullanıldı. Parametreler arasındaki lineer ilişki Spearman korelasyon analizi ile incelendi. Çoklu lineer regresyon analizi ile bağımlı değişkenler arası ilişkilerin bağımsızlık ve gücü test edildi. Hastaların yaşı, ortalama \pm standard sapma, diğer değişkenler aksi belirtilmedikçe ortalama \pm ortalamanın standard hatası şeklinde ifade edildi. Tüm *P* değerleri çift-kuyruklu hesaplandı ve önemlilik düzeyi $P < 0.05$ kabul edildi. Değerlendirmeler SPSS (version 11.0) ile yapıldı.

4. BULGULAR

Çalışmada yaşları 18-77 arasında (ort. 46.6 ± 13.9) 60 olgu değerlendirildi. Proton pompa inhibitörü kullanmakta olan 33 ve kontrol grubu olarak alınan 27 hastanın yaş ve cinsiyet dağılımları istatistik önemde farklı değildi (Tablo 1). Proton pompa inhibitörü kullanan hastalar, ortalama 50.3 aydan beri proton pompa inhibitörü kullanıyorlardı (12-120 ay). Hastalardan 20'si omeprazol 20 mg/gün, 12'si lansoprazol 30 mg/gün ve biri pantoprazol 40 mg/gün kullanmakta idi.

4.1. *H. pylori* İnfeksiyonu Dağılımı

Histolojik olarak saptanan *H. pylori* sonuçları ile hızlı üreaz testi sonuçları uyumlu idi. Proton pompa inhibitörü kullanan hastaların 30'unda, kullanmayanların tümünde *H. pylori* infeksiyonu vardı. Proton pompa inhibitörü kullanan ve *H. pylori* infeksiyonu olmayan 3 olgunun sonuçları kendi popülasyonunu yansıtmak için yeterli olmadığından, çalışmanın analizleri, özel olarak belirtilmedikçe, *H. pylori* pozitif hastalarda yapılmıştır.

Tablo 1. Olguların proton pompa inhibitörü kullanımı ve *H. pylori* infeksiyonu açısından dağılımı.

	PPI* kullananlar		PPI kullanmayanlar
	<i>H. pylori</i> +	<i>H. pylori</i> -	<i>H. pylori</i> +
N	30	3	27
Yaş	48.5±10,1	60.7±8.0	43.0±16.6
Cinsiyet	14 K / 16 E	1 K / 2 E	17 K / 10 E

*PPI: Proton pompa inhibitörü

4.2. Mukoza Histolojisi

Proton pompa inhibitörü kullananlar arasında *H. pylori* negatif olan 3 hastadan ikisinin antrum ve korpus mukozasında grade 1 kronik inflamasyon vardı. Bu gruptaki hastaların hiçbirinin mide mukozasında nötrofilik aktivasyon görülmedi; bir tanesinin

antrumunda grade 1 intestinal metaplazi saptandı. Proton pompa inhibitörü kullanan *H. pylori* pozitif hastalarda atrofi görülmedi. Proton pompa inhibitörü almayanların 3'ünün (%11) antrum, 1'inin (%4) korpus mukozasında atrofi vardı.

Proton pompa inhibitörü kullanan hastalardan 2'sinin (%7), kullanmayan hastaların 6'sının (%22) antrumunda intestinal metaplazi vardı. Farklılaşmalar istatistik olarak anlamlı değildi.

Proton pompa inhibitörü kullanan ve kullanmayan *H. pylori* infeksiyonlu olguların mide mukoza histomorfolojisi Tablo 2 ve 3'te sunulmuştur. Proton pompa inhibitörü almayan hastaların antrum mukozasında kronik inflamasyon ve nötrofilik aktivasyon ile korpus mukozasında nötrofilik aktivasyon şiddeti proton pompa inhibitörü alanlara göre anlamlı olarak daha yüksekti (Tablo 4). Histolojik *H. pylori* yoğunluğu da proton pompa inhibitörü kullanmayanlarda önemli olarak daha yüksekti.

Tablo 2. Mide antrum mukozası histomorfolojisi.

	PPİ kullananlar	PPİ kullanmayanlar
Kronik inflamasyon	30 (%100)	27 (%100)
Grade 1, 2, 3*	21, 9, 0	10, 16, 1
Nötrofilik aktivasyon	5 (%17)	15 (%56)
Grade 1, 2, 3	4, 1, 0	8, 7, 0
Atrofi	0 (%0)	3 (%11)
Grade 1, 2, 3	0, 0, 0	2, 1, 0
İntestinal metaplazi	2 (%7)	6 (%22)
Grade 1, 2, 3	2, 0, 0	3, 3, 0
<i>H. pylori</i>	30 (%100)	27 (%100)
	25, 4, 1	22, 2, 3

* Farklı şiddetteki kronik inflamasyon, nötrofilik aktivasyon, atrofi ve intestinal metaplazili olguların sayıları; örneğin 21, 9, 0; 21 hastanın grade 1, 9 hastanın grade 2, 0 hastanın grade 3 düzeyinde inflamasyonlu olduğunu göstermektedir.

Tablo 3. Mide korpus mukozası histomorfolojisi.

	PPI kullananlar	PPI kullanmayanlar
Kronik inflamasyon	26 (%87)	26 (%96)
Grade 1, 2, 3*	19, 6, 1	15, 10, 1
Nötrofilik aktivasyon	2 (%7)	11 (%41)
Grade 1, 2, 3	2, 0, 0	8, 3, 0
Atrofi	0 (%0)	1 (%4)
Grade 1, 2, 3	0, 0, 0	0, 1, 0
İntestinal metaplazi	0 (%0)	0 (%0)
Grade 1, 2, 3	0, 0, 0	0, 0, 0
<i>H. pylori</i>	22 (%73)	24 (%90)
	19, 3, 0	15, 6, 3

* Farklı şiddetteki kronik inflamasyon, nötrofilik aktivasyon, atrofi ve intestinal metaplazili olguların sayıları; örneğin 19, 6, 1; 19 hastanın grade 1, 6 hastanın grade 2, 1 hastanın grade 3 düzeyinde inflamasyonlu olduğunu göstermektedir.

Tablo 4. Mide histoloji sonuçlarının ortalama değerleri.

		PPI kullananlar (n=30)	PPI kullanmayanlar (n=27)	P
İnflamasyon	Antrum	1.3±0.9	1.7±0.1	0.011
	Korpus	1.3±0.1	1.4±0.1	>0.05
Nötrofilik Aktivasyon	Antrum	0.2±0.9	0.8±0.2	0.002
	Korpus	0.07±0.05	0.5±0.1	0.002
Atrofi	Antrum	-	0.15±0.09	-
	Korpus	-	0.07±0.07	-
İntestinal metaplazi	Antrum	0.07±0.05	0.3±0.1	>0.05
	Korpus	-	-	-
<i>H. pylori</i> yoğunluğu	Antrum	1.2±0.9	1.3±0.1	>0.05
	Korpus	0.8±0.1	1.3±0.2	0.018

4.3. CagA Seropozitifliği

Proton pompa inhibitörü grubunda CagA+'lığı prevalansı daha düşüktü, ancak farklılaşma istatistik olarak önemli bulunmadı (11 hasta [%37] & 15 hasta [%56], X^2 testi, $P>0.05$). Proton pompa inhibitörü alınmasına bakılmaksızın hastalar CagA+ ve CagA- olarak ayrıldığında, CagA+ olanlarda antrum ve korpusta kronik inflamasyon, korpusta nötrofilik aktivasyon şiddeti önemli olarak yüksekti (Tablo 5.).

Tablo 5. CagA durumunun mide histolojisine etkisi.

		CagA+ (n=26)	CagA- (n=31)	P
Kronik inflamasyon	Antrum	1.62±0.10	1.35±0.10	0.043
	Korpus	1.58±0.13	1.00±0.10	0.001
Nötrofilik aktivasyon	Antrum	0.69±0.16	0.32±0.11	>0.05
	Korpus	0.50±0.12	0.10±0.07	0.002
Atrofi	Antrum	0.12±0.08	0.03±0.03	>0.05
	Korpus	0.00±0.00	0.06±0.06	>0.05
İntestinal metaplazi	Antrum	0.19±0.11	0.19±0.09	>0.05
	Korpus	0.00±0.00	0.00±0.00	>0.05

4.4. Mide Mukozası Histomorfolojisi ve İlişkili Değişkenler

4.4.1. Antrum Mukozası Kronik İnflamasyon Şiddeti

Proton pompa inhibitörü alan ve almayan olgular birlikte değerlendirildiğinde, antrum mukozası kronik inflamasyon şiddeti ile yaş, negatif korele idi ($n=57$, $r= -0.307$, $p=0.020$). Antrum ve korpus mukozası kronik inflamasyon şiddetleri lineer korelasyon gösteriyordu ($n=57$, $r=0.587$, $p<0.001$).

Antrum kronik inflamasyon ve nötrofilik aktivasyon skorları arasında da anlamlı korelasyon bulundu ($n=57$, $r=0.601$, $p<0.001$). Antrum kronik inflamasyon şiddeti ile anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu da anlamlı olarak ilişkilidi ($n=57$, $r=0.401$, $P=0.002$).

4.4.2. Antrum Mukozası Nötrofilik Aktivasyon Şiddeti

Antrum ve korpus mukozası nötrofilik aktivasyon şiddetleri korele idi (n=57, r=0.539, P<0.001). Antrum mukozası nötrofilik aktivasyon şiddeti, antrum mukozası *H. pylori* yoğunluğu ile önemli lineer korelasyon gösteriyordu (n=57, r=0.357, p=0.006). Antrum mukozası gastrin hücre yoğunluğu ile nötrofilik aktivasyon şiddeti arasında da önemli doğrusal ilişki vardı (n=56, r=0.268, p=0.046).

4.4.3. Korpus Mukozası Kronik İnflamasyon Şiddeti

Korpus mukozası kronik inflamasyon şiddeti ile korpus *H. pylori* yoğunluğu arasında anlamlı doğrusal ilişki gözlemlendi (n=57, r=0.342, p=0.009). Korpus mukozası kronik inflamasyon ve nötrofilik aktivasyon şiddetleri de korele idi (n=57, r=0.587, p<0.001).

4.4.4. Korpus Mukozası Nötrofilik Aktivasyon Şiddeti

Korpus mukozası nötrofilik aktivasyon şiddeti, korpus *H. pylori* yoğunluğu ile anlamlı doğrusal ilişki gösteriyordu (n=57, r=0.317, p=0.016).

4.4.5. Atrofi ve İntestinal Metaplazi Şiddetinin Korele Olduğu Değişkenler

Antrum mukozasında atrofi ile intestinal metaplazi (n=57, r=0.610, p<0.001) ve antrumda intestinal metaplazi ve korpusta atrofi (n=57, r=0.363, p=0.005) şiddetleri arasında anlamlı ilişki vardı. Antral mukoza intestinal metaplazi şiddeti ve anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu arasında negatif lineer korelasyon gözlemlendi (n=57, r= -0.408, P=0.002).

4.5. Mide Mukozasında Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi

Proton pompa inhibitörü alanlarda daha sık oranda non-*H. pylori* bakteri üredi. Proton pompa inhibitörü kullananlardan 21'inin (%70), kullanmayanlardan 13'ünün (%48) mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri ürediği saptandı. Ancak, farklılaşma istatistik olarak önemli bulunmadı (X^2 testi, $P=0.093$). Üreyen bakteri türü sayısına göre, olgu dağılımı Tablo 6'de sunulmuştur. Öte yandan, *H. pylori* negatif olan ve proton pompa inhibitörü alan 3 hastanın tümünün mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri üremesi olduğu dikkati çekti. Proton pompa inhibitörü kullanım süresi ile non-*H. pylori* bakteri üremesi arasında istatistik anlamlı ilişki saptanmadı.

Tablo 6. Üreyen bakteri türü sayısına göre olgu dağılımı.

Non- <i>H. pylori</i> bakteri türü sayısı	PPI kullananlar (n=30)	PPI kullanmayanlar (n=27)
1 tür bakteri	12* (%40)	12 (%44)
2 tür bakteri	8 (%27)	1 (%4)
3 tür bakteri	1 (%3)	
Toplam	21 (%70)	13 (%48)

* Olgu sayısı

4.6. Nitrat Redüktaz Pozitif Bakteri Üremesi

Proton pompa inhibitörü alan olgularda önemli derecede daha sık oranda nitrat redüktaz+ bakteri üremesi saptandı. Proton pompa inhibitörü alanların 18'inde (% 60), imayanların 5'inde (%19) nitrat redüktaz+ bakteri üredi (X^2 testi, $P=0.001$). Nitrat redüktaz+ bakteri üreyen olguların ortalama yaşı, üremeyenlerden anlamlı olarak daha yüksekti. Nitrat redüktaz+ bakteri üreyen 23 olgunun yaşı (ort±SEM) 50.6 ± 2.9 , nitrat redüktaz+ bakteri üremeyen 34 olgunun yaşı 42.7 ± 2.2 idi ($p=0.047$). Bu arada, proton pompa inhibitörü alan *H. pylori* negatif 3 hastanın tümünde nitrat redüktaz+ bakteri saptandı. Proton pompa inhibitörü kullanım süresi ve nitrat redüktaz+ bakteri üremesi arasında istatistik anlamlı ilişki gözlenmedi.

4.7. Non-*H. pylori* Bakteri Üremesinin Mide Mukozası Histomorfolojisine Etkisi

Mide mukozasında üreyen bakteriler Tablo 7 ve 8'de sunulmuştur. Non-*H. pylori* bakteri üreyen ve üremeyen hastaların mide histomorfolojisi (antrum ve korpus mukozasında kronik inflamasyon, nötrofilik aktivasyon, intestinal metaplazi ve atrofi) karşılaştırıldığında önemli farklılaşma bulunmadı. Nitrat redüktaz+ bakteri üremesi olup olmaması da antrum ve korpus mukozasında kronik inflamasyon, nötrofilik aktivasyon, intestinal metaplazi ve atrofi skorlarında anlamlı farklılaşmaya neden olmamıştı.

4.8. Histolojik *H. Pylori* Yoğunluğu ve Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi Karşılıklı Etkileşimi

Mide korpusunda *H. pylori* varlığı ve yoğunluğunun, non-*H. pylori* bakteri üremesi ile ters ilişkili olduğuna dair gözlemler saptandı. Histolojik olarak mide korpusunda *H. pylori* saptanan 46 olgunun 24'ünde (%52) non-*H. pylori* bakteri ürerken, korpusunda *H. pylori* saptanmayan 11 olgunun 10'unda (%91) non-*H. pylori* bakteri üremesi gözlemlendi (Fisher-exact test, $p=0.037$). Benzer olarak, mide korpusunda *H. pylori* yoğunluğu, bakteriyel üreme olanlarda daha düşüktü (0.88 ± 0.13 & 1.35 ± 0.15 , $p=0.018$). Ayrıca, korpus mukozası *H. pylori* yoğunluğu ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasında önemli bir negatif doğrusal ilişki gözlemlendi ($n=34$, $r=-0.466$, $P=0.005$). CagA+ hastalarda non-*H. pylori* bakteri üreme oranı daha yüksekti, fakat önemli derecede değildi. CagA+ 26 olgunun 18'inde (%69), CagA- 31 olgunun 16'sında (%52) non-*H. pylori* bakteri üredi ($P>0.05$).

4.9. Histolojik *H. pylori* Yoğunluğu ve Nitrat Redüktaz Pozitif Bakteri Üremesi Karşılıklı Etkileşimi

Histolojik olarak mide korpusunda *H. pylori* saptanmayan 11 olgunun 8'inde (%73) nitrat redüktaz+ bakteriyel üreme gözlenirken, korpusta *H. pylori* saptanan 46 olgunun sadece 15'inde (%33) bakteriyel üreme vardı (Fisher-exact test, $p=0.020$).

Tablo 7. PPI alan hastalarda üreyen Non-*H. pylori* bakteriler

Hasta No	Üreyen Non- <i>H. pylori</i> bakteriler		
1	<i>Klepsiella pneumonia</i> *	<i>Cl. tyrobutiricum</i>	
2	Proteus spp.*		
5	Lactobasil*		
7	KNS ^u *		
8	Streptokok spp.*	KNS ^u	
9	Streptokok spp.*		
11	Candida spp.*		
13	Enterokok		
14	KNS ^u *	Clostridium spp.	Enterokok*
15	Streptokok spp.	KNS ^u *	
16	Enterokok	Clostridium spp.	
18	<i>Cl. tyrobutiricum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	
19	Streptokok spp.*		
20	Streptokok spp.*	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	
23	KNS ^u *		
24	<i>E. coli</i> *	<i>Cl. tyrobutiricum</i> *	
26	Streptokok spp.*		
27	Streptokok spp.*	<i>Clostridium spp.</i>	
28	Streptokok spp.*		
29	Streptokok spp.*	<i>S. aureus</i> *	
30	Streptokok spp.		
31	Streptokok spp.*	Candida spp.*	
32	Streptokok spp.		
33	Streptokok spp.*		

^u Koagülaz negatif stafilokok; *nitrat redüktaz + bakteri.

Tablo 8. PPI almayan hastalarda üreyen Non-*H. pylori* bakteriler

Hasta No	Üreyen Non- <i>H. pylori</i> bakteriler	
1	Streptokok spp.	
7	Streptokok spp.	
9	Streptokok spp.*	
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	
15	Streptokok spp.	
16	Enterokok	
18	Streptokok spp.*	
19	Streptokok spp.	
21	Enterokok.	
22	Streptokok spp.	
24	Streptokok spp.*	
25	<i>S. aureus</i>	
27	Streptokok spp.*	<i>Candida spp.*</i>

* Nitrat redüktaz+ bakteri

Histolojik *H. pylori* yoğunluğu açısından değerlendirildiğinde de, benzer şekilde, nitrat redüktaz+ üreme olmayanlarda *H. pylori* yoğunluğu önemli olarak

yüksekti (0.83 ± 0.16 & 1.24 ± 0.12 , $p=0.026$). CagA+ 26 olgunun 13'ünde (%50), CagA- 31 olgunun 10'unda (%32) nitrat redüktaz+ üreme vardı ($P>0.05$).

4.10. İntragastrik pH

Proton pompa inhibitörü alan grupta ortalama pH, almayanlardakinden daha yüksek bulunmasına karşın, farklılaşma istatistik olarak önemli değildi (3.86 ± 0.48 & 3.51 ± 0.53). Proton pompa inhibitörü alanların %43'ünde, almayanların %33'ünde $pH>4$ bulundu. Farklılaşma istatistik olarak önemli değildi. Bu arada proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif olan 3 olgunun 2'sinde intragastrik pH ölçülmüştü ve ortalaması 6.35 ± 0.53 idi.

4.11. İntragastrik pH ile İlişkili Değişkenler

4.11.1. İntragastrik pH ve Midede Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi İlişkisi

Proton pompa inhibitörü alınmasına bakılmaksızın tüm popülasyonda non-*H. pylori* bakteri üremesi olan ve olmayan hastaların pH düzeyleri incelendiğinde; non-*H. pylori* bakteriyel üreme olan olguların intragastrik pH'sı 4.72 ± 0.49 , üreme olmayanların 2.35 ± 0.36 idi ($p=0.001$). Proton pompa inhibitörü alınmasına göre değerlendirildiğinde, bakteri üremesi ile pH ilişkisi Tablo 9'da sunulmuştur.

Öte yandan, tüm popülasyonda, pH ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasında önemli lineer korelasyon vardı ($n=56$, $r=0.503$, $p<0.001$). Mide pH'sı ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasındaki anlamlı korelasyon, alt gruplarda da gözlemlendi (Proton pompa inhibitörü alan grupta $n=30$, $r=0.485$, $p=0.007$, proton pompa inhibitörü almayan grupta $n=26$, $r=0.569$, $p=0.002$).

4.11.2. Korpus Mukozasındaki *H. pylori* Yoğunluğu ile pH İlişkisi

Histolojik korpus mukozası *H. pylori* yoğunluğu ile intragastrik pH düzeyi arasında önemli negatif doğrusal ilişki saptandı ($n=56$, $r= -0.301$, $P=0.024$).

Tablo 9. Non-*H. pylori* bakteri üreme durumuna göre intragastrik pH.

	PPI alanlar		PPI almayanlar	
	Non- <i>H. pylori</i> bakteri üremesi var	Non- <i>H. pylori</i> bakteri üremesi yok	Non- <i>H. pylori</i> bakteri üremesi var	Non- <i>H. pylori</i> bakteri üremesi yok
pH	4.26±0.60 (n=21)	2.93±0.74 (n=9)	5.34±0.77 (n=12)	1.96±0.39* (n=14)

*PPI almayan grupta: non-*H. pylori* bakteri üremesi var olan gruba göre, P=0.002.

4.11.3. MDA Konsantrasyonu ve İntragastrik pH

Antral mukoza MDA konsantrasyonu ve intragastrik pH arasında da önemli negatif doğrusal ilişki saptandı (n=47, r= -0.379, P= 0.009).

4.12. Mukozal Anti-*H. pylori* IgA

Antrum mukozası anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu, proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplar arasında anlamlı olarak farklı değildi (3.8±0.7 U/ml & 3.7±0.7 U/ml). Antrum mukozası kronik inflamasyon şiddeti ile anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu arasında önemli doğrusal korelasyon vardı (n=57, r=0.401, P=0.002). Ayrıca, antrum mukozası intestinal metaplazi şiddeti ile anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu arasında negatif lineer korelasyon saptandı (n=57, r= -0.408, P=0.002).

4.13. Mide Mukozası MDA Konsantrasyonu

Proton pompa inhibitörü alan grupta 4 hastanın antrum, 2 hastanın korpus, almayan grupta 5 hastanın antrum ve 3 hastanın korpus MDA düzeyi ekstrem düzeyde olduğu için değerlendirme dışı tutuldu. Diğer hastalarda antrum mukozasında MDA konsantrasyonu proton pompa inhibitörü alanlarda 0.283±0.030 nmol/g-protein saptanırken, almayanlarda 0.326±0.050 nmol/g-protein bulundu. Korpus mukozasında proton pompa inhibitörü alan grupta 0.292±0.044 nmol/g-protein, almayanlarda 0.304±0.036 nmol/g-protein idi. Gruplar arasında istatistik önemde fark yoktu. Antral mukoza MDA konsantrasyonu ile pH düzeyi arasında önemli negatif doğrusal ilişki olduğu tespit edildi (n=47, r= -0.379, P= 0.009). Proton pompa inhibitörü kullanım

süresi ile antrum ve korpus mukozası MDA konsantrasyonları arasında istatistik anlamlı korelasyon yoktu.

4.14. Antrum Mukozasında G Hücresi Yoğunluğu

Proton pompa inhibitörü grubundan bir hastanın kesiti immünohistokimyasal inceleme için yeterli bulunmadığından değerlendirme dışında tutuldu. G hücresi yoğunluğu proton pompa inhibitörü alan ve almayan hastalar arasında farklı değildi (Proton pompa inhibitörü alan grupta 27.81 ± 4.34 iken, almayan grupta 30.83 ± 3.72 ; $P > 0.05$). Antrum ve korpus mukozası histolojik *H. pylori* yoğunlukları ile G hücresi yoğunluğu arasında önemli korelasyon saptanmadı. Ancak, proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif olan 3 hastanın antrum mukozası G hücre yoğunluğu, ana inceleme popülasyonumuzdakinden düşüktü (17.33 ± 8.88). Tüm popülasyonda CagA+'lığının, antral mukoza G hücresi yoğunluğunu artırdığı görüldü: G hücresi yoğunluğu CagA+ olanlarda 38.10 ± 5.00 (n=25) iken, negatif hastalarda 22.14 ± 2.67 idi ve farklılaşma istatistik olarak anlamlıydı ($P = 0.020$).

4.14.1. Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi ve G Hücresi Yoğunluğu

Non-*H. pylori* bakteri ve nitrat-redüktaz+ bakteri üremesi olan ve olmayan gruplar arasında antral mukoza G hücresi yoğunluğu anlamlı olarak farklı değildi.

4.14.2. Antral G Hücresi Yoğunluğu ile İlişkili Diğer Değişkenler

Antrum mukozası nötrofilik aktivasyon derecesi ile G hücresi yoğunluğu arasında anlamlı lineer ilişki saptandı (n=56, $r = 0.268$, $P = 0.046$). Antrum G hücresi yoğunluğu ile antrum ve korpus mukozası COX-2 ekspresyonu dereceleri arasında önemli pozitif lineer ilişki vardı (sırasıyla, n=56, $r = 0.290$, $P = 0.030$; n=56, $r = 0.412$, $P = 0.002$). Proton pompa inhibitörü kullanım süresi ile G hücresi yoğunluğu arasında istatistik anlamlı korelasyon yoktu.

4.15. Mide Epiteli Proliferasyon İndeksi (Pİ, Ki-67 Labeling İndeksi)

Pİ, hem antrum hem de korpus epitelinde proton pompa inhibitörü alan ve almayanlar arasında istatistik önemde farklı bulunmadı, fakat proton pompa inhibitörü grubunda daha düşük düzeyde idi; özellikle korpus epiteli Pİ, anlamlılık sınırına yakın düzeyde daha düşüktü ($p=0.063$) (Tablo 10). Proton pompa inhibitörü kullanım süresi ve Pİ arasında da istatistik anlamlı korelasyon yoktu.

4.15.1. Mide Mukozası Pİ ile *H. pylori* Yoğunluğu ve CagA İlişkisi

Tüm *H. pylori* enfeksiyonlu popülasyonda, antrum mukozası Pİ ile histolojik olarak saptanan korpus *H. pylori* yoğunluğu arasında önemli pozitif lineer ilişki vardı ($n=57$, $r=0.319$, $p=0.016$). Proton pompa inhibitörü alan hastalarda anlamlı bir ilişki saptanmadı, fakat almayan hastalarda antrum Pİ ile korpus *H. pylori* yoğunluğu arasında önemli doğrusal ilişki görüldü ($n=27$, $r=0.391$, $P=0.044$). Öte yandan, proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif bulunan 3 olgunun mide epiteli Pİ'inin, *H. pylori* enfeksiyonlu proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplardakinden belirgin olarak düşük olduğu saptandı (antrumda, $\%15.0\pm5.0$ ve korpusta $\%5.0\pm0.0$).

Olgu sayısı çok düşük olmasına karşın, bu *H. pylori* negatif 3 hastanın Pİ'inin, *H. pylori* pozitif proton pompa inhibitörü almayan grubun Pİ'inden istatistik önemde düşük olduğu saptandı (Antrumda, $P=0.041$, korpusta $P=0.015$). Antral mukoza Pİ, CagA+ hastalarda $\%29.83\pm3.64$, CagA- hastalarda $\%30.11\pm2.94$; korpus mukozası Pİ, CagA+ hastalarda $\%24.23\pm3.91$, CagA- olanlarda $\%15.21\pm2.47$ bulundu. Gruplar arasında istatistik önemde farklılık yoktu.

4.15.2. Pİ ve Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi İlişkisi

Tüm non-*H. pylori* bakteri üreyen ve üremeyen hastaların antrum ve korpus mukozası Pİ'leri farklı değildi. Ancak, nitrat redüktaz+ bakteri üremesi olanlarda antrum Pİ daha düşük düzeyde idi (nitrat redüktaz+ bakteri üremesi olanlarda $\%23.9\pm2.7$, üremesi olmayanlarda $\%34.1\pm3.2$, $p=0.045$).

Tablo 10. Proton pompa inhibitörü kullanan ve kullanmayan hastalarda mide mukozası Pİ.

		PPİ alanlar	PPİ almayanlar
Proliferasyon indeksi (Pİ, %)	Antrum	27.6±3.3	32.7±3.2
	Korpus	16.2±3.0	22.8±3.5

4.15.3. Pİ ve İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler (Tüm Popülasyonda)

Antrum ve korpus mukozaları Pİ'leri arasında anlamlı lineer korelasyon vardı (n=57, r=0.430, P=0.001). Antrum ve korpus mukozası Pİ'leri, yaş ile önemli negatif lineer korelasyon gösteriyordu (sırasıyla, n=57, r= -0.375, p=0.004; n=57, r= -0.372, r=0.004). Antrum mukozası Pİ ile korpus ECL hücre hiperplazisi arasında anlamlı lineer korelasyon vardı (n=57, r=0.340, P=0.010). Korpus mukozası Pİ ve korpus ECL hücre hiperplazisi de önemli derecede korele idi (n=57, r=0.305, r=0.021).

4.15.3.1. Proton Pompa İnhibitörü Alan Grupta Pİ ve İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler

Antrum ve korpus Pİ'leri arasında lineer korelasyon saptandı (n=30, r=0.408, P=0.025). Antrum ve korpus mukozası Pİ'leri ile yaş negatif korele idi (n=30, r= -0.364, P=0.048; n=30, r= -0.398, P=0.029).

4.15.3.2. Proton Pompa İnhibitörü Almayan Grupta Pİ ve İlişkili Olduğu Değişkenler

Antrum ve korpus Pİ'leri arasında önemli lineer korelasyon vardı (n=27, r=0.477, P=0.012). Antrum Pİ ile yaş negatif korelasyon gösteriyordu, fakat istatistik önemlilik sınırda kalmıştı (n=27, r= -0.367, P=0.059). Korpus Pİ ile yaş arasında anlamlı negatif lineer korelasyon vardı (n=27, r= -0.418, P=0.030). Korpus Pİ ile korpus COX-2 ekspresyonu arasında da önemli lineer korelasyon gözlemlendi (n=27, r=0.424, p=0.027).

4.15.4. Çoklu Regresyon Analizi

Pİ'ni predikte eden önemli bağımsız değişken(ler)i saptamak amacıyla çoklu regresyon analizi yapıldı. Bağımsız değişkenler olarak, Pİ ile istatistik önemde ilişkili bulunan yaş, histolojik korpus *H. pylori* yoğunluğu, non-*H. pylori* bakteri üremesi (1: üreme var, 0:yok) ve ayrıca protein pompa inhibitörü kullanımı (1: protein pompa inhibitörü kullanıyor, 0: kullanmıyor) alındı (Pİ ile anlamlı ilişkili saptanan ECL hücre hiperplazisi ve COX-2 ekspresyonu, Pİ'ni belirleyen primer faktör olarak düşünülmediği için analize alınmadılar). Antral mukoza Pİ regresyon denklemi 'önemli' bulundu (R square=0.213, P=0.013). Çoklu regresyon analizinde antral mukoza Pİ için, korpus mukozası *H. pylori* yoğunluğu önemli prediktör olarak saptandı (P=0.031). Yaş, ikincil dereceden, fakat istatistik olarak önemli olmayan bir prediktördü (P=0.078). Proton pompa inhibitörü kullanımı (P=0.615) ve nitrat redüktaz+ bakteri üremesi (P=0.206) önemli bağımsız değişken değillerdi. Regresyon denklemi şöyle idi:

$$Pİ = 37.382 + 2.442 (\text{proton pompa inhibitörü kullanımı}) - 0.291 (\text{Yaş}) + 6.710 (\text{Korpus } H. \text{ pylori yoğunluğu}) - 6.277 (\text{Nitrat redüktaz+ bakteri üremesi})$$

Aynı bağımsız değişkenler kullanıldığında korpus mukozası Pİ regresyon dekleminin istatistik olarak önemli olmadığı tespit edildi.

4.16. p53 Ekspresyonu

Proton pompa inhibitörü alan gruptaki hastaların 2'sinin antrum kesitlerinde p53 boyanması görüldü, fakat bu hastalarda p53 *labeling* indeks %10'nun altında idi; bu gruptaki hastaların hiçbirinin korpus kesitlerinde p53 boyanması saptanmadı. Proton pompa inhibitörü almayan hastalardan 3'ünün antrum kesitlerinde boyanma vardı, fakat p53 *labeling* indeks %10'nun altında idi; bu gruptaki hastalardan birinin (%3.7) korpus kesitlerinde boyanma saptandı ve p53 *labeling* indeks >%10 idi.

4.17. ECL Hücre Hiperplazisi

Proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplar arasında, antrum ve korpusta ECL hücre hiperplazisi saptanma oranı benzerdi (Tablo 11).

Tablo 11. Hastalarda ECL hücre hiperplazi dereceleri.

	PPİ kullananlar (n=30)	PPİ kullanmayanlar (n=27)	P
Antrum ECL hücre hiperplazisi	15 (%50)	11 (%41)	>0.05
Derece 1, 2, 3*	9, 3, 3	4, 5, 2	
Korpus ECL hücre hiperplazisi	9 (%30)	10 (%37)	>0.05
Derece 1, 2, 3	4, 4, 1	4, 4, 2	

*Farklı derecedeki ECL hücre hiperplazili olgu sayıları; örneğin 9, 3, 3; 9 hastanın derece 1, 3 hastanın derece 2, 3 hastanın derece 3 düzeyinde ECL hücre hiperplazili olduğunu göstermektedir.

Gruplar arasında, ECL hücre hiperplazisi derecesi açısından da istatistik önemde fark bulunmadı. Proton pompa inhibitörü alanlarda ECL hücre hiperplazisi derecesi antrumda 0.80 ± 0.18 , korpusta 0.50 ± 0.16 ; proton pompa inhibitörü almayanlarda, antrumda 0.74 ± 0.20 , korpusta 0.67 ± 0.19 idi. Proton pompa inhibitörü alan grupta, antrum mukozası *H. pylori* yoğunluğu ile korpus ECL hücre hiperplazisi arasında pozitif lineer korelasyon vardı (n=30, $r=0.463$, $P=0.010$). Bu arada proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif bulunan 3 hastanın korpuslarında ECL hücre hiperplazisi olmadığı, bir hastanın antrum mukozasında derece 1 hiperplazi olduğu görüldü.

4.17.1. ECL Hücre Hiperplazisi, *H. pylori* CagA İlişkisi

H. pylori CagA+ olan 26 olgunun 11'inde (%42), CagA- olan 31 olgunun 15'inde (%48) antrumda ECL hücre hiperplazisi vardı. CagA+ olan 26 olgunun 8'inde (%31), CagA- olan 31 olgunun 11'inde (%35) korpusta ECL hücre hiperplazisi vardı. Gruplar arası farklılaşmalar anlamlı bulunmadı. ECL hücre hiperplazisi derecesi açısından da gruplar benzerdi (Tablo 12).

4.17.2. ECL Hücre Hiperplazisi ve Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi İlişkisi

Non-*H. pylori* bakteri üreyen hastalarda (ve nitrat redüktaz+ alt grubu üreyenlerde) ECL hücre hiperplazisi oranı, üremeyen gruba göre daha yüksekti.

Tablo 12. *H. pylori* CagA'nın ECL hücre hiperplazisine etkisi.

		CagA+ (n=26)	CagA- (n=31)	P
ECL hücre hiperplazisi derecesi	Antrum	0.73±0.19	0.81±0.19	>0.05
	Korpus	0.54±0.18	0.61±0.17	>0.05

4.17.2.1. Antrum Mukozasında

Proton pompa inhibitörü alımı gözetilmeksizin *H. pylori* infeksiyonlu ana grupta, non-*H. pylori* bakteri üremesi olan 34 olgunun 18'inde (%53), üreme olmayan 23 olgunun 8'inde (%35); nitrat-redüktaz+ bakteri üreyen 23 olgunun 12'sinde (%52), üremeyen 34 olgunun 14'ünde (%41) ECL hücre hiperplazisi saptandı. Fakat gruplar arasındaki farklılaşma istatistik önemliliğe ulaşmıyordu. Proton pompa inhibitörü almayan grupta, antrum ECL hücre hiperplazisi ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasında anlamlı ilişki saptandı (n=27, r=0.405, P= 0.036). Yine, antrum ECL hücre hiperplazisi derecesi ile intragastrik pH arasında önemli pozitif lineer korelasyon vardı (n=26, r=0.405, P=0.040).

4.17.2.2. Korpus Mukozasında

Non-*H. pylori* bakteri üreyen 34 olgunun 13'ünde (%38), üreme olmayan 23 olgunun 6'sında (%26); nitrat redüktaz+ bakteri üreyen 23 olgunun 9'unda (%39), üremeyen 34 olgunun 10'unda (%29) ECL hücre hiperplazisi saptandı. Fark istatistiksel olarak anlamsızdı.

4.17.3. ECL Hücre Hiperplazisinin İlişkili Olduğu Diğer Değişkenler

4.17.3.1. Tüm Popülasyonda ECL Hücre Hiperplazisi ile İlişkili Olduğu Değişkenler

Antrum ve korpus mukozası ECL hücre hiperplazisi dereceleri kendi aralarında korele idi (n=57, r=0.305, P=0.021). Korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi yaş ile negatif korele idi (n=57, r= -0.303, P=0.022). Korpus ECL hücre

hiperplazisi derecesi, antrum ve korpus Pİ'i ile pozitif lineer korelasyon gösteriyordu (sırasıyla, $n=57$, $r=0.340$, $P=0.010$; $n=57$, $r=0.305$, $P=0.021$). Korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi ile antrum COX-2 ekspresyonu arasında pozitif lineer korelasyon vardı ($n=57$, $r=0.291$, $p=0.028$).

4.17.3.2. Proton Pompa İnhibitörü Alan Grupta, ECL Hücre Hiperplazisi Derecesinin İlişkili Olduğu Değişkenler

ECL hücre hiperplazisi derecesi ile proton pompa inhibitörü kullanma süresi arasında ilişki yoktu. Antrum ve korpus ECL hücre hiperplazisi dereceleri arasındaki korelasyon katsayısı görece yüksekti, ancak ilişki istatistik olarak önemli değildi ($n=30$, $r=0.317$, $P=0.088$). Korpus Pİ ile korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi arasındaki korelasyon katsayısı yüksekti, ancak istatistiksel önemi yoktu ($n=30$, $r=0.316$, $P=0.089$). Antrum ECL hücre hiperplazisi ile korpus kronik inflamasyon şiddeti arasında pozitif lineer korelasyon vardı ($n=30$, $r=0.387$, $P=0.035$). Ayrıca, antrum mukozası Pİ ile korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi arasında anlamlı korelasyon saptandı ($n=30$, $r=0.408$, $P=0.025$). Proton pompa inhibitörü kullanım süresi ile ECL hücre hiperplazisi arasında istatistik anlamlı korelasyon yoktu.

4.17.3.3. Proton Pompa İnhibitörü Almayan Hastalarda ECL Hücre Hiperplazisi Derecesinin İlişkili Olduğu Değişkenler

Antrum ve korpus ECL hücre hiperplazi dereceleri arasındaki korelasyon katsayısı yüksekti, ama önemli bulunmadı ($n=27$, $r=0.304$, $p>0.05$). Korpus Pİ ile korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi arasında ılımlı korelasyon görüldü, ama istatistik olarak önemli değildi ($n=27$, $r=0.327$, $P=0.096$). Korpus ECL hücre hiperplazisi derecesi ile antrum mukozasında COX-2 ekspresyonu arasında pozitif lineer korelasyon saptandı ($n=27$, $r=0.436$, $r=0.023$).

4.17.3.4. Çoklu Regresyon Analizi

ECL hücre hiperplazisi varlığı ve derecesini tayin eden değişken(ler)i saptamak amacıyla çoklu regresyon analizi yapıldı. Bağımsız değişken olarak (antrum ve korpusta ayrı ayrı olarak) ECL hücre hiperplazisi varlığı / derecesi ile anlamlı ilişkili bulunan değişkenler gözden geçirildi ve yaş, intragastrik pH, antrumda *H. pylori* yoğunluğu, korpus kronik inflamasyon derecesi, üreyen non-*H. pylori* bakteri sayısı bağımsız değişken olarak alındı. ECL hücre hiperplazisi ile ilişkili bulunan antrum Pİ ve COX-2 ekspresyonu, ECL hücre hiperplazisinin prediktörü kabul edilmediğinden analize katılmadılar. Çoklu regresyon analizi sonucunda, antrum ve korpus ECL hücre hiperplazisi için belirtilen bağımsız değişkenlerin tek başlarına önemli prediktör olmadığı saptandı.

4.18. COX-2 Ekspresyonu

Antral mukozada, proton pompa inhibitörü grubunda 27 (%90), proton pompa inhibitörü almayan grupta 26 (%96) hastada COX-2 ekspresyonu saptandı ($p>0.05$). Korpus mukozasında, proton pompa inhibitörü alan grupta 29 (%97), almayan grupta 25 (%93) hastada COX-2 ekspresyonu vardı ($p>0.05$). COX-2 ekspresyon dereceleri proton pompa inhibitörü grubunda kısmen daha düşüktü. COX-2 ekspresyon derecesi, antrum mukozasında proton pompa inhibitörü alanlarda 2.20 ± 0.18 bulunurken, almayanlarda 2.63 ± 0.14 olarak saptandı. Farklılaşma istatistik olarak anlamlı değildi, ancak önemlilik sınırına yakındı ($P=0.057$). Proton pompa inhibitörü alan ve almayan hastalarda, korpus mukozasında da COX-2 ekspresyon dereceleri istatistik olarak farklı bulunmadı (sırasıyla, 2.40 ± 0.15 & 2.59 ± 0.17). Ayrıca proton pompa inhibitörü kullanım süresi ve COX-2 ekspresyonu arasında da istatistik anlamlı ilişki yoktu.

4.18.1. COX-2 Ekspresyonu ile *H. pylori* CagA ve Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi İlişkisi

CagA+ olan hastalarda COX-2 ekspresyonu derecesi daha yüksekti, fakat gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo 13). Non-*H. pylori* bakteri (ve alt

grup olarak nitrat redüktaz+ bakteri) üremesi olan ve olmayan hastalar arasında da COX-2 ekspresyonu önemli derecede farklı değildi.

Tablo 13. COX-2 ekspresyonu derecesine *H. pylori* CagA'nın etkisi.

		CagA+ (n=26)	CagA- (n=31)	P
COX-2 ekspresyonu	Antrum	2.50±0.16	2.32±0.18	>0.05
	Korpus	2.65±0.14	2.35±0.17	>0.05

4.18.2. COX-2 Ekspresyonunun Korele Olduğu Değişkenler

Tüm popülasyonun antrum ve korpus mukozaları COX-2 ekspresyon dereceleri arasında anlamlı lineer korelasyon vardı (n=57, r=0.280, P=0.035). Antrum ve korpus mukozaları COX-2 ekspresyonu dereceleri, antrum G hücresi yoğunluğu ile önemli pozitif lineer ilişki gösteriyordu (sırasıyla, n=56, r=0.290, P=0.030; n=56, r=0.412, P=0.002). Antrum mukozasında COX-2 ekspresyonu ile korpus mukozasında ECL hücre hiperplazisi derecesi arasında önemli pozitif lineer korelasyon saptandı (n=57, r=0.412, P=0.002).

4.18.3. Çoklu Regresyon Analizi

Bağımsız değişkenler olarak proton pompa inhibitörü kullanımı ve antral G hücresi yoğunluğunun COX-2 ekspresyonu derecesini (*H. pylori* infeksiyonlu hastalarda) predikte eden önemli değişkenler olup olmadığını araştırmak için yapılan çoklu regresyon analizinde, söz konusu iki değişkenin de tek başlarına önemli prediktör olmadığı saptandı.

5. TARTIŞMA

Proton pompa inhibitörleri bugün başta *H. pylori* eradikasyonu olmak üzere dispepsi ve asitle ilgili hastalıklarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Proton pompa inhibitörlerinin *H. pylori*'ye bağlı gastrik inflamasyonu artırdığını, atrofi ve intestinal metaplaziye ilerleyişi kolaylaştırdığını bildiren yayınlar (108, 109) yanında, olumlu etkilerini açığa çıkaran çalışmalar da bulunmaktadır. Bir çalışmada *H. pylori* ile infekte ve proton pompa inhibitörü kullanan 243 hastanın 5 yıl izlemi sonunda, gastrik inflamasyon skorları ve *H. pylori* pozitiflik oranında azalma gözlenmiştir (110). Bir başka çalışmada da benzer olarak, 9 yıl omeprazol tedavisi alan *H. pylori* pozitif GÖRH hastalarında mide mukozasında hafif ve orta dereceli inflamasyonun azaldığı, ciddi inflamasyonun %92'den %21'e, *H. pylori* pozitifliğinin %74'den %55'e düştüğü ve inaktif inflamasyonlu vakaların %17'den %56'ya yükseldiği gösterilmiştir (111).

Bizim bulgularımız da, kronik proton pompa inhibitörü alan *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda mide mukozası inflamasyon şiddeti, *H. pylori* yoğunluğu ve CagA+'lığı oranının daha düşük olduğunu ortaya koymuştur. Bu durum, proton pompa inhibitörlerinin *H. pylori* üzerine 'antibiyotik' etkisine bağlı olabilir (112). Randomize bir çalışmada, yalnızca proton pompa inhibitörü alan gruptaki 33 hastanın 10'unda *H. pylori* eradikasyonunun sağlandığı gösterilmiştir (113).

Proton pompa inhibitörü kullanan *H. pylori* pozitif kişilerde yıllık %2.5 atrofi insidansı bildirilmektedir (111). *H. pylori* infeksiyonu olan kişilerde uzun dönem proton pompa inhibitörü kullanımının atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gelişimine eğilimi artırdığına ilişkin bilgiler (13, 108, 109) olmasına karşın, bunu teyit etmeyen gözlemler de bulunmaktadır. Bir çalışmada proton pompa inhibitörü alan *H. pylori* ile infekte hastalarda atrofi ve intestinal metaplazi skorlarının çok az arttığı, hatta antrumda azalma eğilimi gösterdiği bildirilmiştir (110). Bizim *H. pylori* ile infekte proton pompa inhibitörü kullanan hasta grubumuzda, proton pompa inhibitörü almayanların aksine atrofi bulunmaması ve intestinal metaplazi sıklığının daha az olması proton pompa inhibitörlerinin olumlu etkinliğine bağlanabilir. Bulgularımız ve diğer çalışmaların sonuçları (110, 111), *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda proton pompa inhibitörü kullanımının prekanseröz değişikliklerin gelişmesini uyardığını değil, önlediğini göstermektedir.

H. pylori infeksiyonlu tüm hasta popülasyonumuzda -proton pompa inhibitörü kullanımı dikkate alınmaksızın-, CagA+ olanların antrum ve korpus mukozasında kronik inflamasyon, korpus mukozasında nötrofilik aktivasyon şiddetinin önemli olarak yüksek olduğunu saptadık. CagA+'lığının daha şiddetli gastrite neden olduğu ve peptik ülser oluşma eğilimini artırdığı bilinmekteydi. Örneğin, Bath ve arkadaşları 89 hastayı içeren çalışmalarında CagA+ olgularda korpus ve antrum inflamasyon skorlarının daha yüksek olduğunu saptamışlardır (19). Başka bir çalışmada da gastrit skoru artışı ile CagA+'lığı ilişkili bulunmuştur (114).

Proton pompa inhibitörü alan ve almayan olgularımızı birlikte değerlendirdiğimizde histolojik gastrit skorları şiddetinin yaşlanma ile ters ilişki gösterdiğini saptadık. Bir çalışmada 65 yaş altındaki peptik ülserli hastalarda, daha yaşlı olanlara göre, *H. pylori* ve CagA+'lığının daha sık olduğu bulunmuştur (115). Başka bir çalışmada proton pompa inhibitörü tedavisi ile *H. pylori* yoğunluğunun korpus mukozasında artarken antrumda azaldığı saptanmış (116), proton pompa inhibitörü almayan 60 yaş üzerindeki hastalarda da benzer durum bildirilmiştir (117). Bu bulgular yaşlanma ile özellikle antrumda inflamasyon skorlarının azaldığını göstermektedir.

Antrum *H. pylori* yoğunluğu ile intestinal metaplazi skorları arasında saptadığımız ters ilişki, intestinal metaplazinin *H. pylori* için uygun bir yaşam ortamı olmamasıyla açıklanabilir; çünkü, metaplazik epitel, *H. pylori* çoğalması için uygun olmayan bir mikroçevre oluşturmaktadır (118).

5.1. İntragastrik pH

Proton pompa inhibitörü alan hasta grubumuzda mide sıvısı ortalama pH'sı, almayanlardakinden kısmen daha yüksekti, fakat iki grup arasında istatistik olarak anlamlı bir farklılaşma saptamadık. Ayrıca proton pompa inhibitörü alanların % 43'ünde, almayanların %33'ünde intragastrik pH 4'ün üzerindeydi ve farklılaşma önemsizdi. Proton pompa inhibitörü kullanan hastalarda intragastrik pH'nın neden daha fazla yüksek düzeyde bulunmadığını açıklayan birkaç gerekçe vardır. Hastalarımızın intragastrik sıvısı, en son proton pompa inhibitörü dozunu aldıktan en az 24 saat sonra elde edilmiştir. Öte yandan, hastalarımızın kullandığı proton pompa inhibitörü dozu, standard tedavide kullanılanın yarısı kadardı. Ayrıca, GÖRH

olgularında proton pompa inhibitörü tam dozda alınsa bile özellikle geceleri ortaya çıkan “baskılanamayan asit salınımı” (*acid breakthrough*) ve intragastrik pH düşmesi olduğu bilinmektedir. Bir araştırmada günde 2 kez 20 mg omeprazol veya 30 mg lansoprazol verilen GÖRH hastalarında 24 saat intragastrik pH izlemi yapılmış; hastaların gündüz %35-50, gece %20-45 ve gün boyu toplamında %14.8-24.2’inde en az 1 saat süre ile intragastrik pH’nın 4 veya 3’ün altında seyrettiği bulunmuştur (119). Diğer taraftan, proton pompa inhibitörü kesilmesinden sonra asit reboundu olmaktadır (120). Bu bulgular, atrofik gastrit ve cerrahi hipoklorhidridekinin aksine olarak proton pompa inhibitörü kullanımında geri-besleme mekanizmasının korunduğuna işaret etmektedir. Bu nedenlerle, uzun süre proton pompa inhibitörü kullanımı, atrofik gastritte olduğu gibi intragastrik pH’yı sürekli yüksek tutan bir durum doğurmamaktadır.

5.2. Non-*H. pylori* Bakteri Üremesi

Normal midede Laktobasil türleri yanı sıra, Veilonella türleri gibi aside dirençli bakteriler ile Klebsiella ve *E. coli* türleri gibi aside duyarlı bakterilerin de dormant halde bulunduğu gözlenmiştir (121). İlaç kullanımı, cerrahi, atrofik gastrit veya akut gastrik inflamasyonun neden olduğu hipoklorhidride midede non-*H. pylori* bakteri çoğalması olduğu bildirilmiştir (41, 47, 122, 123). Bu bakteriler mide sıvısında ya da mukozada bulunabilir.

Mide sıvısının miktar, içerik ve pH’sı sıklıkla değişikliğe uğrayabilir ve non-*H. pylori* bakteri sayısında da kısa süreli dalgalanmalara yol açabilir. Mide lümeninde yalnızca metabolik olarak aktif bakterilerin mukozada kolonize olabileceği öne sürülmüştür (12). Bu çalışmada, laktobasil ve bifidobakter gibi, ‘probiyotik’ özellikte olan bakterilerin varlığını araştırmak için özel besi yerleri kullanmadık ve standard kültür ortamlarında üreyen bakterilerin varlığını araştırdık. Proton pompa inhibitörü alan hastalarımızın %70’inde, proton pompa inhibitörü kullanmayanların %48’inde non-*H. pylori* bakteri ürediğini saptadık. Ayrıca, proton pompa inhibitörü alan olgularda önemli derecede daha sık oranda nitrat redüktaz+ bakteri bulunduğunu gözledik. Proton pompa inhibitörü alımına bakılmaksızın non-*H. pylori* bakteriyel üreme saptanan olgularımızın intragastrik pH’sının, bakteriyel üreme olmayanlarınkinden anlamlı derecede yüksek olduğunu gözledik. Bununla birlikte,

proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplarda, bakteriyel üreme olanların intragastrik pH'ları benzer düzeyde bulundu. Bu bulgular, midede non-*H. pylori* bakteri üremesinin mide asidite düzeyi ile ilişkili olduğunu göstermektedir. PEG yapılan hastalarda, mide pH'sının aspiratlardan izole edilen bakteri kompozisyonu ile doğrusal ilişki gösterdiği bildirilmiştir (124). Snepar ve arkadaşları, 20 mg/gün omeprazol alan kişilerde ilk 2 haftada midede non-*H. pylori* bakteri sayısının kontrollere göre 40 kat arttığını ancak 4. haftadan sonra sabit kaldığını saptamışlardır (125) ve bu durum, non-*H. pylori* bakteri çoğalmasının da bir düzeye kadar olabileceğine işaret etmektedir.

Non-*H. pylori* bakterilerin hayvanlarda *H. pylori*'nin uyardığına benzeyen gastrik inflamasyona sebep olabildiklerini (53), insanlarda non-*H. pylori* bakterilerin İL-1 β , İL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin serum düzeyinde artışa sebep olduklarını (22) bildiren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bizim bulgularımız, mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri ve alt grup olarak nitrat redüktaz+ bakteri bulunmasının mide histomorfolojisine, yani gastrit skorlarına etkisinin olmadığını göstermiştir. Dolayısıyla mide mukozasında saptadığımız bakterilerin inflamasyona pozitif veya negatif yönde etkisinin olmadığını söyleyebiliriz. Ancak, yukarıda da belirtildiği gibi, midede bulunma olasılığı bulunan laktobasil ve bifidobakter suşları için özel besi yeri kullanılmamış olması çalışmamızın eksik tarafıdır.

Uzun süre proton pompa inhibitörü kullanan hastaların mide korpus mukozalarındaki *H. pylori* yoğunluğunun, antrumdakinden yüksek olmasına rağmen, non-*H. pylori* bakteri yoğunluğunun iki lokalizasyonda da benzer olduğu bildirilmiştir (126). Nowat ve arkadaşları, omeprazol tedavisi alan *H. pylori* pozitif kişilerin mide sıvısındaki non-*H. pylori* bakteri sayısının negatif kişilerdekinden 100 kat fazla olduğunu saptamışlar ve *H. pylori*'nin mide lümeninde non-*H. pylori* bakteri çoğalmasını güçlendiren bir faktör olduğunu öne sürmüşlerdir (49). Bunun tersine, biz histolojik olarak mide korpusunda *H. pylori* saptanan olgularda daha az oranda non-*H. pylori* bakteriyel üreme gözledik. Benzer olarak, bakteriyel üreme olanlarda mide korpusundaki *H. pylori* yoğunluğu skorunu daha düşük bulduk. Ayrıca, korpus mukozasındaki *H. pylori* yoğunluğu ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasında önemli bir negatif doğrusal ilişkinin var olduğunu da gözledik. Nitrat redüktaz+ bakteri üremesi açısından değerlendirildiğinde de, korpus mukozasında *H. pylori* varlığı ve yoğunluğu ile nitrat redüktaz+ bakteri üremesi arasında ters ilişki

bulduğunu saptadık. Bu gözlem, non-*H. pylori* bakterilerin, *H. pylori* üzerine inhibitör etkisi ile açıklanabilir. Krausse ve arkadaşları, kronik gastrit, gastrik ülser, kronik duodenit veya duodenal ülserli 25 hastadan izole ettikleri 30 *H. pylori* suşu üzerine, aralarında üst solunum yolu florasına ait bakteriler de bulunan 29 kommensal bakterinin farklı derecelerde inhibitör etki ettiklerini bir in vitro çalışmada göstermişler ve bu inhibisyonun CagA+'lığı ile değişmediğini bildirmişlerdir (127). Ayrıca, aynı çalışmada, *H. pylori* ile karşılaşan α -hemolitik streptokokların hemoliz yapmadıklarını da gözlemişlerdir, ki bu *H. pylori*'nin de non-*H. pylori* bakterilerin fonksiyonunu modüle edebildiğini gösteren bir bulgudur.

Literatürde genellikle mide lümen sıvısındaki non-*H. pylori* bakteri varlığı araştırılmıştır; bizim bulabildiğimiz kadarıyla, mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri kolonizasyonunu inceleyen sadece bir çalışma bulunmaktadır (22). Bu çalışmada, biyopsi örneklerinde non-*H. pylori* bakteri yoğunluğu histolojik olarak semikantitatif skorlama ile değerlendirilmiştir. Mide mukozasındaki non-*H. pylori* bakteri varlığının daha kalıcı olması açısından mide sıvısında saptananlara göre daha bilgi verici olduğu söylenmiştir (125, 126). Bu nedenle bizim gözlemlediğimiz ve Krause ve arkadaşlarının çalışmasını destekleyen non-*H. pylori* bakteriler ve *H. pylori* arasındaki antagonistik ilişkinin önemli olduğunu düşünüyoruz.

Batı toplumlarında *H. pylori* prevalansı, Türkiye'dekinden daha az olmasına karşın, peptik ülser ve mide kanseri prevalansı daha fazladır (128-132). Mide mukozasında *H. pylori* yoğunluğu ile non-*H. pylori* bakteri üremesi arasındaki negatif ilişki, yüksek *H. pylori* prevalansına rağmen Türkiye'de peptik ülser ve mide kanseri prevalansının Batı toplumlarındakinden neden daha düşük olduğunu açıklayabilir. Her ne kadar, mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri varlığı açısından toplumlararası karşılaştırmaya izin verecek çalışmalar yapılmamışsa da, halkımızın mide mukozasında *H. pylori* dışı bakteri kolonizasyonunun, batı toplumlarındakinden daha sık olabileceğini düşündüren bilgiler vardır. Batı toplumlarına göre, Asya ve Afrika halklarının barsak florası, laktik asit bakterileri ve diğer non-patojen bakteriler açısından az veya çok daha zengindir (133). Hijyenik koşulların düzelmesi yanı sıra, az posalı Batı tipi diyet, mide-barsak lümeninin komensal bakteri florasını azaltmaktadır. Uç bir örnek olarak kozmonotların barsak florası çarpıcı bilgiler vermiştir. Uzay yolculuğunda az posalı-posasız besinlerle yetinen, taze meyva ve

sebze tüketmeyen kozmonotların dünyaya döndükten sonra komensal bakterilerinin çoğunu kayb ettikleri saptanmıştır (134).

5.3. Nitrat/Nitrit

Hipo/aklorhidrik midede nitrit düzeyinin yüksek olduğu ve bunun midede çoğalan non-*H. pylori* bakterilerin alınan gıdalardaki nitratları nitrat redüktaz enzimi ile nitritlere dönüştürmesinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (41).

Nitrat kaynağı olarak potasyum nitrat ve 4 hafta 40 mg/gün omeprazol alan kişilerde mide nitrit düzeylerinin anlamlı artış gösterdiği rapor edilmiştir (59). Potasyum nitrat ve omeprazol kullanılan benzer bir çalışmada nitrit düzeyinin belirgin artış gösterdiği ve bunun bu kişilerin midesinde 100 kat artan non-*H. pylori* bakterilerden kaynaklandığı rapor edilmiştir (49). Günde 20 mg omeprazol alan kişilerde 2 hafta sonunda midede non-*H. pylori* bakteri artışı olmasına rağmen nitrit düzeyinin kontrollere göre artış kaydetmediği de bildirilmektedir (135). Bu sonuçlara göre midede nitrit oluşumu muhtemelen yiyeceklerdeki nitrat düzeyi ve başka faktörler tarafından etkilenmektedir. Proton pompa inhibitörü alan hastalarımızın mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri üreme oranını daha yüksek bulduk. Ayrıca, proton pompa inhibitörü kullanan hastalarımızın mide sıvısındaki nitrat/nitrit konsantrasyonu kullanmayanlara göre daha yüksekti, ancak bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Proton pompa inhibitörü kullananların mide sıvısında nitrat/nitrit konsantrasyonunun çok daha yüksek bulunmamasının birinci nedeni, kısa süreli proton pompa inhibitörü kullanımında görülen yüksek nitrit düzeylerinin, uzun süreli kullanımda artma göstermemesi olabilir (12, 136). İkincisi, bazı nitrat redüktaz+ non-*H. pylori* bakteriler yüksek nitrit düzeylerinde “nitriti amonyak’a redükte ederek” nitrit düzeylerini düşürebilir. Neubauer ve arkadaşları nitrat redükte eden *Staphylococcus carnosus*’un ortamdaki nitrit düzeyi yükseldiğinde nitriti amonyak’a redükte ettiğini bildirmişlerdir (137).

5.4. Anti-*H. pylori* IgA

Anti-*H. pylori* IgA konakçının *H. pylori*’ye verdiği lokal hümmoral cevaptır. Mukoza anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonunu, proton pompa inhibitörü alan ve

almayan gruplar arasında farklı bulmadık. Fakat, antrum mukozası kronik inflamasyon şiddeti ile anti-*H. pylori* IgA konsantrasyonu arasında önemli doğrusal korelasyon saptadık. Başka bir çalışmada da, *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda mide inflamasyon skorlarının, mide sıvısı anti-*H. pylori* IgA düzeyleri ile ilişkili, ancak *H. pylori* kantitesi ile ilişkisiz olduğu saptanmıştır (19).

5.5. MDA

H. pylori infeksiyonu olanlarda -gastritten bağımsız olarak- mukoza MDA düzeylerinin *H. pylori* infeksiyonu olmayanlardakine göre yüksek olduğu bildirilmiştir (138). Biz proton pompa inhibitörü alan ve almayan *H. pylori* infeksiyonlu hastalarımızda mukozal inflamasyon skorları ve *H. pylori* yoğunluğu ile MDA konsantrasyonu arasında önemli bir ilişki gözlemedik. Ancak, proton pompa inhibitörü alan hastalarımızda hem antrum, hem de korpus mukozasında MDA konsantrasyonunu –istatistik önemde olması bile– daha düşük düzeyde bulduk. Bu bulgu, proton pompa inhibitörü kullanımının, muhtemelen inflamasyonu baskılaması nedeniyle, MDA konsantrasyonunu azaltmak yönünde kısmi olumlu bir katkısının olduğunu göstermektedir.

5.6. G Hücresi Yoğunluğu

Sıçanlarda *H. pylori* infeksiyonunun antral mukoza G hücrelerini 2-5 kat artırdığı bildirilmiştir (53). İnsanlarda *H. pylori* gastritinin G hücre hiperplazisine sebep olup olmadığı tartışmalıdır. Bir çalışmada, *H. pylori* pozitif hastalarda antral G hücre dansitesinin *H. pylori* negatif olanlardakinden yaklaşık 1.5 kat fazla olduğu bildirilmiş (139); bir diğerinde *H. pylori* pozitif ve negatif gastritli ve duodenal ülserli hastaların antral gastrin ekspresyonunun kendi aralarında farklı olmadığı ve kontrollerdekine benzer bulunduğu saptanmıştır (140). *H. pylori* infeksiyonu veya CagA+'lığının serum gastrin düzeylerini artırırken, antral G hücresi yoğunluğunu artırmadığı; bu hastalarda görülen hipergastrineminin, inflamasyonun somatostatin hücre topluluğunu azaltması sonucunda, gastrin/somatostatin hücre dengesinin değişmesinden kaynaklanabileceği öne sürülmüştür (141). *H. pylori* infeksiyonundaki hipergastrinemiye açıklayan bir başka hipoteze göre, dağınık atrofik gastritin tespiti

zordur (142, 143) ve bu vakalarda, normalden farklı olarak fundus ve korpusta da G hücresi görülebildiği bildirilmiştir (144, 145). Böylece G hücresi sayısı antrum mukozasında değişirse veya azalma gösterse bile total G hücresi sayısındaki artma hipergastrineminin nedeni olabilir.

Proton pompa inhibitörü kullanımına bakılmaksızın, *H. pylori* infeksiyonlu ana hasta popülasyonumuzda antrum ve korpus mukozası *H. pylori* yoğunlukları ile G hücre yoğunluğu arasında önemli bir korelasyon saptamadık. Ancak, proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif olan 3 hastanın antrum mukozası G hücre yoğunluğu, *H. pylori* infeksiyonlu hastalardakinden düşük düzeyde idi. Diğer taraftan, *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda CagA+'lığının, antral mukoza G hücre yoğunluğunu artırdığını saptadık. Bulgularımız, insanlarda *H. pylori* infeksiyonunun ve *H. pylori* infeksiyonlularda CagA+'lığının antrum G hücre yoğunluğunu artırdığı tezini desteklemektedir.

Proton pompa inhibitörlerinin hipergastrinemiye neden olduğu iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, uzun dönem proton pompa inhibitörü kullanımının antrum G hücresi yoğunluğuna etkisini inceleyen bir çalışmaya literatürde rastlamadık. Çalışmamızda, antrum mukozası G hücresi yoğunluğunu proton pompa inhibitörü alan ve almayan hastalar arasında farklı bulmadık. Böylece bulgularımız, *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda kronik proton pompa inhibitörü kullanımının G hücre yoğunluğu üzerine ilave etkisinin bulunmadığına işaret etmektedir.

Diğer taraftan, *H. pylori* infeksiyonlu ana hasta gruplarımızda, G hücresi yoğunluğu ile antral mukoza nötrofilik aktivasyon derecesi ve antrum ve korpus mukozaları COX-2 ekspresyonu dereceleri arasında önemli pozitif ilişkilerin varlığını gözledik. Bu bulgular, *H. pylori* infeksiyonunda antral G hücresi yoğunluğunun, *H. pylori* infeksiyonunun inflamatuvar – prekanseröz sonuçlarına işaret eden bir değişken olduğuna işaret etmektedir; fakat proton pompa inhibitörü kullanımının bu sürece ilave bir katkı yapmadığını desteklemektedir.

Mide lümeninde non-*H. pylori* bakteri üremesi G hücresi yoğunluğunu artırabilir mi? Sıçanlarda non-*H. pylori* bakteri infeksiyonunun, *H. pylori* gibi gastrik inflamasyon ve G hücre hiperplazisi yaptığı gösterilmiştir (53). İnsanlarda bu ilişki – bilgilerimize göre– bugüne kadar araştırılmış değildi. Çalışmamızda, *H. pylori* infeksiyonlu kişilerin mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri ve alt grup olarak

nitrat-redüktaz+ bakteri varlığının antral mukoza G hücre yoğunluğunu etkilemediğini saptadık.

5.7. Ki-67 ve p53 Ekspresyonu

Proton pompa inhibitörlerinin mide mukozası proliferasyonuna etki etmediği (146) ancak bizim de saptadığımız gibi *H. pylori* infeksiyonunun Pİ'ni artırdığını bildiren çalışmalar vardır (53, 114). Bulgularımız, *H. pylori* infeksiyonlu kişilerde uzun dönem proton pompa inhibitörü kullanımının mide mukozası Pİ'ni kısmen azalttığını telkin etmektedir. *H. pylori* infeksiyonu olan ve proton pompa inhibitörü alan hastalarımızda, proton pompa inhibitörü almayanlara göre antrum ve korpus epitel Pİ, daha düşük düzeydeydi; farklılaşma istatistik olarak anlamlı olmasa da, proton pompa inhibitörü alanlarda özellikle korpus epitel Pİ, anlamlılık sınırına yakın düzeyde daha düşüktü ($p=0.063$). CagA+'lığının, Pİ'ne etkisi tartışmalıdır ve CagA+'lığının Pİ'ni artırdığını veya etkilemediğini bildiren çalışmalar bulunmaktadır (114, 147, 148). Bizim bulgularımız *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda CagA+'lığının Pİ için belirleyici bir değişken olmadığını göstermektedir.

Literatürde, midede *H. pylori* dışı bakteri varlığının mide epitel Pİ'ne etkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. Bu çalışmada ilk kez, *H. pylori* infeksiyonlu kişilerde mide mukozasında nitrat redüktaz+ bakteri varlığının, antrum Pİ'nin daha düşük düzeyde olmasıyla ilişkili olduğunu saptadık. Bir hayvan çalışmasında, jejunum ve kolon mukozası Pİ'nin yaşla azaldığı, mide mukozası Pİ'nin yaştan etkilenmediği bildirilmiştir (149). *H. pylori* ile ilişkili veya ilişkisiz gastrik atrofi prevalansının yaş ile birlikte arttığı saptanmıştır (150, 151). Bununla beraber, sağlıklı yaşlı popülasyonda gastrik mukozada fonksiyonel bir gerilemeye karşın, Pİ'nin arttığı bildirilmiştir (152). Oysa biz *H. pylori* infeksiyonlu hastalarımızda, hem uzun süreli proton pompa inhibitörü alanlarda, hem de almayanlarda antrum ve korpus mukozası Pİ'lerinin, yaşlanma ile azaldığını saptadık.

Pİ ile birlikte sıklıkla araştırılan p53'ün yarılanma ömrü yaklaşık 20 dakikadır ve normal mide mukozasında eksprese olmamaktadır. Hritz ve arkadaşları 6-12 ay süre ile omeprazol ve esomeprazol kullanan hastaların mide mukozalarında p53 ekspresyonu görülmediğini bildirmişlerdir (146). Biz de, *H. pylori* infeksiyonlu proton pompa inhibitörü kullanan hastalarımızın hiçbirinde p53 labeling indeks'i

%10'nun üzerinde saptamadık, dolayısıyla anlamlı p53 ekspresyonu gözlemedik. Proton pompa inhibitörü almayan *H. pylori* infeksiyonlu hasta grubumuzda sadece bir olgunun (%3.7) korpus mukozasında anlamlı p53 ekspresyonu vardı. Bu bulgulara göre, *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda proton pompa inhibitörü kullanımının p53 ekspresyonu ihtimalini azalttığını söyleyebilmek zor olmakla birlikte, artırmadığı açıktır.

Vurgulamak gerekirse, bu çalışmanın bulgularına göre, *H. pylori* infeksiyonlu kişilerin karsinogenik sürecinde, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımı mide epitelinde Pİ artışına katkı sağlamamakta –hatta Pİ'ni azaltmakta– ve p53 ekspresyonuna neden olmamaktadır; dolayısıyla bu bulgular, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının prekanseröz lezyonları uyarmadığını desteklemektedir.

5.8. ECL Hücre Hiperplazisi

H. pylori infeksiyonu, eradikasyon ile gerileyebilen ECL hücre hiperplazisine yol açmaktadır (153). Ancak bu durum insanlarda displazi veya karsinoid tümör gelişmesine yol açacak düzeyde değildir. Hipoklorhidri de hipergastrinemi uyararak ECL hücre hiperplazisine neden olmaktadır. Bu durum atrofik gastritte belirgindir; fakat uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının nadiren ECL adenomatöz hiperplaziye neden olduğu, ECL hücre displazisine yol açmadığı bildirilmiştir (5, 154).

Bir çalışmada 497'sine omeprazol ve 243'üne rabeprazol verilen GÖRH olgularında 5 yıllık izlem sonunda, hafif ECL hücre hiperplazisi ve 2 hastada tekrarlamayan adenomatöz hiperplazi saptanmıştır (5, 110). Singh ve arkadaşları, omeprazol tedavisi alan ve 5-8 yıl izledikleri 33 hastanın mide biyopsilerinden sadece birinde ECL hücre hiperplazisi görmüşlerdir (155). Literatürde ECL hücre hiperplazisi kaynaklı karsinoid gelişimi bildirilen bir vakada, H₂ reseptör blokeri ya da proton pompa inhibitörü kullanımı neden olarak gösterilmiştir (14). Ancak bu olgunun proton pompa inhibitörü veya H₂ bloker kullanma süresinin görece kısa olması ve yukarıda söz edilen çalışmalar gibi uzun dönemli ve geniş serilerle desteklenmemesi, proton pompa inhibitörü kullanımının karsinoid gelişimine kadar ilerleyebilecek ECL hücre hiperplazisine yol açmadığı tezini güçlendirmektedir.

Hasta popülasyonumuzda proton pompa inhibitörü alan, fakat *H. pylori* negatif bulunan 3 hastanın korpuslarında ECL hücre hiperplazisi olmadığı, bunlardan bir hastanın antrum mukozasında 1. derece hiperplazi olduğunu saptadık. Oysa *H. pylori* enfeksiyonlu gruplarda %50'ye varan oranda ECL hücre hiperplazisi gözlemlendi. *H. pylori* CagA+'lığının ECL hücre hiperplazisi ile bir ilişkisinin bulunmadığını saptadık. Diğer bir bulgumuz, proton pompa inhibitörü alan ve almayan *H. pylori* enfeksiyonlu hastalar arasında, antrum ve korpusta ECL hücre hiperplazisi saptanma oranının benzer olmasıydı; yine bu gruplar arasında, ECL hücre hiperplazisi derecesi açısından da istatistik önemde fark bulunmadı. Dahası, ECL hücre hiperplazisi derecesi ile proton pompa inhibitörü kullanma süresi arasında da ilişki bulmadık. Bu bulgular, ECL hücre hiperplazisi gelişmesinde *H. pylori* enfeksiyonunun etkin olduğunu, fakat *H. pylori* enfeksiyonlu kişilerde uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının ECL hücre hiperplazisi gelişmesine katkı yapmadığını ortaya koymaktadır.

Öte yandan, *H. pylori* pozitif, proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplarda, mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri üremesi varsa, ECL hücre hiperplazisi saptanma oranının, istatistik önemliliğe erişmeyen düzeyde arttığını bulduk. Ayrıca, proton pompa inhibitörü almayan grupta, antrum ECL hücre hiperplazisi derecesi ile üreyen non-*H. pylori* bakteri türü sayısı arasında anlamlı pozitif bir korelasyon vardı ($r=0.405$, $P= 0.036$). Bu bulgular, *H. pylori* yanı sıra, non-*H. pylori* bakterilerin de ECL hücre hiperplazisi için risk faktörü olabileceğini ortaya koyan literatürdeki ilk kanıtlardır.

5.9. COX-2

COX-2 inflamasyon ve tümörlerde uyarılan bir enzimdir (81). *H. pylori* enfeksiyonu, mide mukozasında COX-2 ekspresyonunu uyarmaktadır (156). *H. pylori* ile enfekte mide dokusunda gland epitelinde artmış COX-2 ekspresyonu gözlenmiş (81), *H. pylori* eradikasyonunun COX-2 ekspresyonunu azalttığı saptanmıştır (157). Çeşitli kanser dokularında COX-2 ekspresyonunun artışı (97, 98) ve COX-2 inhibitörü ilaçların neoplastik gelişimi önlediğinin gösterilmesi (94, 96), karsinogenetik bir süreç olan *H. pylori* enfeksiyonunda uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının COX-2 ekspresyonu üzerine etkisinin bilinmesini önemli kılmaktadır.

Bulgularımız, *H. pylori* infeksiyonlu hastalarda proton pompa inhibitörü kullanımının COX-2 ekspresyonu oranını artırmadığını ortaya koymuştur. COX-2 ekspresyonu derecesi açısından değerlendirildiğinde, proton pompa inhibitörü kullanımının olumlu etkisinden söz etmek bile mümkündür. Proton pompa inhibitörü alan olguların antrum mukozasında COX-2 ekspresyon derecesini, almayanlara göre daha düşük bulduk ($P=0.057$) ve bu bulgu, *H. pylori* infeksiyonlu kişilerde uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının karsinogeneze katkı yapmadığını gösteren bir başka kanıt olarak değerlendirilebilir.

6. SONUÇ

H. pylori infeksiyonlu ve uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanan olgularımızda, proton pompa inhibitörü kullanmayanlara göre histolojik gastrit skorları daha düşük bulunmuş ve proton pompa inhibitörü alanlarda prekanseröz lezyonlar olan gastrik atrofi ve intestinal metaplazi sıklığının, istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, daha düşük olduğu gözlenmiştir.

Proton pompa inhibitörü alanların mide mukozasında daha yüksek oranda non-*H. pylori* bakteri ve nitrat redüktaz pozitif bakteri varlığı ve istatistik önemde olmayan nitrat-nitrit konsantrasyonu yüksekliği dikkati çekmiştir. Bununla birlikte, uzun süreli proton pompa inhibitörü alanlarda mide epitelinde Pİ'nin kısmen daha düşük olduğu ve p53 ekspresyonunun görülmediği, proton pompa inhibitörü alan ve almayan gruplar arasında, ECL hücre hiperplazisi saptanma oranının benzer olduğu ve proton pompa inhibitörü kullanımının COX-2 ekspresyonu oranını artırmadığı saptanmıştır.

Sonuç olarak bu bulgular, *H. pylori* infeksiyonlu olgularda uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının, *H. pylori* infeksiyonunun karsinogenetik sürecine katkı yapan bir faktör olmadığını ima etmektedir.

7. ÖZET

Kronik proton pompa inhibitörü kullanımının *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) ile infekte bireylerde kronik atrofik gastrit riskini artırdığına ilişkin bilgiler yanı sıra, enterokromafin benzeri (ECL) hücrelerinin proliferasyonu ile mide karsinoid tümörlerine sebep olabileceğine ve nitratları nitritlere indirgeyen bakterilerin çoğalmasına neden olarak karsinogenezi uyurabileceğine ilişkin kuşklar bulunmaktadır. Bu çalışmada, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının prekanseröz mukozal değişikliklerin sıklığını artırıp artırmadığını ve bazı karsinogenetik süreç göstergelerini nasıl etkilediğini araştırmayı amaçladık.

Bu çalışmada yaşları 18-77 arasında (46.6 ± 13.9), en az bir yıl süreden beri proton pompa inhibitörü kullanan GÖRH olguları ve GÖRH öntanısı ile endoskopi yapılan proton pompa inhibitörü veya H₂ reseptör blokeri almayan toplam 60 hasta değerlendirildi. Hastaların serumlarında *H. pylori* anti-CagA IgG ELIZA ile araştırıldı. Mide biyopsilerinde MDA konsantrasyonu spektrofotometrik yöntemle ölçüldü; modifiye Sydney sistemi ile inflamasyon, atrofi, intestinal metaplazi ve *H. pylori* değerlendirildi. İmmünohistokimyasal olarak, ECL ve G hücresi hiperplazisi; COX-2, Ki-67 ve p53 ekspresyonu araştırıldı. Anti-*H. pylori* IgA düzeyi ELIZA ile tayin edildi. Mide mukozasında non-*H. pylori* bakteriler için kültür yapıldı ve nitrat redüksiyonu araştırıldı. Mide suyunda pH ve nitrat/nitrit konsantrasyonu kolorimetrik yöntemle ölçüldü.

H. pylori infeksiyonlu ve proton pompa inhibitörü kullanan olgularımızda, histolojik gastrit skorları ile gastrik atrofi ve intestinal metaplazi sıklığı daha düşük; mide mukozasında non-*H. pylori* bakteri ve nitrat redüktaz pozitif bakteri saptanma oranı daha yüksek bulundu. Proton pompa inhibitörü alanlarda mide epitel proliferasyon indeksi daha düşüktü ve p53 ekspresyonu yoktu. Her iki grupta ECL hücre hiperplazisi oranı benzerdi. Proton pompa inhibitörü kullanımı COX-2 ekspresyonunu artırmamıştı.

Bu bulgular, *H. pylori* infeksiyonlu olgularda, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımının, *H. pylori* infeksiyonunun karsinogenetik sürecine katkı yapan bir faktör olmadığını ima etmektedir.

Anahtar sözcükler: *Helicobacter pylori*, Non-*H. pylori* bakteri, Proton pompa inhibitörü, Gastrik karsinogenezis.

8. SUMMARY

Proton pump inhibitors (PPIs), in case of long term use, are suggested to cause gastric gland atrophy in cases with *H pylori* gastritis. On the other hand, PPIs are suggested to cause gastric carcinoids via Enterochromafine Like Cell (ECL) hyperplasia and induce carcinogenesis via increasing non-*H pylori* bacteriae that can reduce the dietary nitrate to nitrite which is a substrate of N-Nitrosamines with carcinogenetic effect. Therefore, we aimed to assess whether the long term used PPIs in the treatment of GERD, increase the frequency of precancerous mucosal changes and how PPIs effect on some carcinogenetic survey markers.

We studied totaly 60 patients with ages between 18-77 (mean age 46.6±13.9) years. Thirthy three of patients were with GERD and using PPIs during at least one year. Twenty seven of patients were with suspected GERD using no proton pump inhibitors or H₂ blockers.

Gastric juice was aspirated to measure pH and Nitrate –Nitrite level. Anti-CagA IgG seropositivity was studied by ELISA. The gastric biopsies of patients assessed for *H pylori* density, inflammation scores, atrophy and intestinal metaplasia via modified Sydney system. MDA concentrations evaluated by spectrophotometric method. ECL and G cell hyperplasia, COX-2, Ki-67 and p53 expression assessed by immunohistochemically. Mucosal anti-*H pylori* IgA was determined by ELISA. Mucosal non-*H pylori* bacteriae overgrowth was studied by culture, and the bacteriae were studied for nitrate reduction also.

In PPI using patients with *H pylori* infection inflammation scores, frequencies of gastric gland atrophy and intestinal metaplasia were lower. Also in this patient group, mucosal colonisation rate of Non-*H pylori* bacteriae, frequency of nitrate reducing bacteriae and nitrate-nitrite level of gastric juice were higher, but no significant. There were lower mucosal proliferation labeling index and no p53 expression. ECL cell hyperplasia rates were same in two groups. The usage of PPIs did not lead to increased COX-2 expression.

We concluded that there is no additive effect of long term PPI usage on the carcinogenetic process of *H pylori* infection.

Key words: *Helicobacter pylori*, Non-*H. pylori* bacteriae, Proton pump inhibitors, Gastric carcinogenesis.

9. KAYNAKLAR

1. Dent J, Jones R, Kahrilas P, Talley NJ. Management of gastro-oesophageal reflux disease in general practice. *BMJ*. 2001; 322: 344-7.
2. Fox M, Forgacs I. Gastro-oesophageal reflux disease. *BMJ*. 2006; 332: 88-93.
3. Pettit M. Treatment of gastroesophageal reflux disease. *Pharm World Sci*. 2005; 27: 432-5.
4. Qvigstad G, Waldum H. Rebound hypersecretion after inhibition of gastric acid secretion. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2004; 94: 202-8.
5. Waldum HL, Brenna E, Sandvik AK. Long-term safety of proton pump inhibitors: risks of gastric neoplasia and infections. *Expert Opin Drug Saf*. 2002; 1: 29-38.
6. Bashford JN, Norwood J, Chapman SR. Why are patients prescribed proton pump inhibitors? Retrospective analysis of link between morbidity and prescribing in the General Practice Research Database. *BMJ*. 1998; 317: 452-6.
7. Harris CM, Dajda R. The scale of repeat prescribing. *Br J Gen Pract*. 1996; 46: 649-53.
8. Westbrook JI, Duggan AE, McIntosh JH. Prescriptions for antiulcer drugs in Australia: volume, trends, and costs. *BMJ*. 2001; 323: 1338-9.
9. Fenter TC, Naslund MJ, Shah MB, Eaddy MT, Black L. The cost of treating the 10 most prevalent diseases in men 50 years of age or older. *Am J Manag Care*. 2006; 12: S90-8.
10. Vauhkonen M, Vauhkonen H, Sipponen P. Pathology and molecular biology of gastric cancer. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2006; 20: 651-74.
11. Bjornsson E, Abrahamsson H, Simren M, Mattsson N, Jensen C, Agerforz P, Kilander A. Discontinuation of proton pump inhibitors in patients on long-term therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24: 945-54.
12. Williams C, McColl KE. Review article: proton pump inhibitors and bacterial overgrowth. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 23: 3-10.
13. Raghunath AS, O'Morain C, McLoughlin RC. Review article: the long-term use of proton-pump inhibitors. *Aliment Pharmacol Ther*. 2005; 22: 55-63.

14. Haga Y, Nakatsura T, Shibata Y, Sameshima H, Nakamura Y, Tanimura M, Ogawa M. Human gastric carcinoid detected during long-term antiulcer therapy of H2 receptor antagonist and proton pump inhibitor. *Dig Dis Sci*. 1998; 43: 253-7.
15. Go MF. Review article: natural history and epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther*. 2002; 16: 3-15.
16. Stadlander CT, Waterbor JW. Molecular epidemiology, pathogenesis and prevention of gastric cancer. *Carcinogenesis*. 1999; 20: 2195-208.
17. Blanchard TG, Czinn SJ. Review article: Immunological determinants that may affect the *Helicobacter pylori* cancer risk. *Aliment Pharmacol Ther*. 1998; 12: 83-90.
18. Torrado J, Plummer M, Vivas J, Garay J, Lopez G, Peraza S, Carillo E, Oliver W, Munoz N. Lewis antigen alterations in a population at high risk of stomach cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2000; 9: 671-4.
19. Bhat N, Gaensbauer J, Peek RM, Bloch K, Tham KT, Blaser MJ, Perez-Perez G. Local and systemic immune and inflammatory responses to *Helicobacter pylori* strains. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2005; 12: 1393-400.
20. Lin YF, Wu MS, Chang CC, Lin SW, Lin JT, Sun YJ, Chen DS, Chow LP. Comparative immunoproteomics of identification and characterization of virulence factors from *Helicobacter pylori* related to gastric cancer. *Mol Cell Proteomics*. 2006; 5: 1484-96.
21. Amedei A, Cappon A, Codolo G, Cabrelle A, Polenghi A, Benagiano M, Tasca E, Azzurri A, D'Elis MM, Del Prete G, de Bernard M. The neutrophil-activating protein of *Helicobacter pylori* promotes Th1 immune responses. *J Clin Invest*. 2006; 116: 1092-101.
22. Sanduleanu S, Jonkers D, De Bruine A, Hameeteman W, Stockbrugger RW. Double gastric infection with *Helicobacter pylori* and non-*Helicobacter pylori* bacteria during acid-suppressive therapy: increase of pro-inflammatory cytokines and development of atrophic gastritis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001; 15: 1163-75.
23. Sipponen P, Hyvarinen H, Seppala K, Blaser MJ. Review article: Pathogenesis of the transformation from gastritis to malignancy. *Aliment Pharmacol Ther*. 1998; 12: 61-71.
24. Leodolter A, Ebert MP, Peitz U, Wolle K, Kahl S, Vieth M, Malfertheiner P. Prevalence of *H. pylori* associated "high risk gastritis" for development of gastric cancer in patients with normal endoscopic findings. *World J Gastroenterol*. 2006; 12: 5509-12.

25. Palestro G, Pellicano R, Fronda GR, Valente G, De Giuli M, Soldati T, Pugliese A, Taraglio S, Garino M, Campora D, Cutufia MA, Margaria E, Spinzi G, Ferrara A, Marengo G, Rizzetto M, Ponzetto A. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and intestinal metaplasia in subjects who had undergone surgery for gastric adenocarcinoma in Northwest Italy. *World J Gastroenterol.* 2005; 11: 7131-5.
26. Helicobacter and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut.* 2001; 49: 347-53.
27. Koo MM, Rohan TE. Use of World Wide Web-based directories for tracing subjects in epidemiologic studies. *Am J Epidemiol.* 2000; 152: 889-94.
28. Groves FD, Perez-Perez G, Zhang L, You WC, Lipsitz SR, Gail MH, Fraumeni JF Jr, Blaser MJ. Serum antibodies to *Helicobacter pylori* and the CagA antigen do not explain differences in the prevalence of precancerous gastric lesions in two Chinese populations with contrasting gastric cancer rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002; 11: 1091-4.
29. Munoz N. Is *Helicobacter pylori* a cause of gastric cancer? An appraisal of the seroepidemiological evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1994; 3: 445-51.
30. Binder HJ. Gastric Function. *Medical Physiology.* Boron WF, Boulpeap EL (eds). Saunders Elsevier Science USA 2003:891-907.
31. Gartner LP, Hiatt JL. Digestive System: Alimentary Canal. *Color Textbook Of Histology.* Gartner LP, Hiatt JL (eds). 4th Ed. WB Saunders Company. Philadelphia 2001: 379-410.
32. Johnson LR. Peptides of The Gastrointestinal Tract. *Gastrointestinal Physiology.* Johnson LR (ed). 6th ed. Mosby Inc. Missouri USA 2001:1-15.
33. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Digestive System II: Esophagus and Gastrointestinal Tract. *Histology A Text and Atlas.* Ross MH, Kaye GI, Pawlina W (eds). Lippincott Williams and Wilkins. 2003:474-531.
34. Feldman M. Gastric secretion. *Sleisenger And Fordtran's Gastrointestinal and Liver Diseases.* Feldman M, Friedman LS, Sleisenger MH (eds). Saunders Elsevier Science USA. 2002:715-731.
35. Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Samuelson LC, Merchant JL. Hypergastrinemia in response to gastric inflammation suppresses somatostatin. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002; 282: G175-83.
36. Diogo Filho A, Santos PS, Duque AS, Cezario RC, Gontijo Filho PP. Experimental model in the qualitative and quantitative assessment of non-

- Helicobacter* gastric microflora under proton pump inhibitors action. *Acta Cir Bras.* 2006; 21: 279-84.
37. Lehmann FS, Schiller N, Cover T, Hatch R, Seensalu R, Kato K, Walsh JH, Soll AH. *H. pylori* stimulates gastrin release from canine antral cells in primary culture. *Am J Physiol.* 1998; 274: G992-6.
 38. Gurbuz AK, Kucukkardali Y, Yazgan Y, Ozel M, Polat T. Does eradication of *Helicobacter pylori* infection reduce hypergastrinemia during long term therapy with proton pump inhibitors? *Turk J Gastroenterol.* 2002; 13: 159-63.
 39. Martinsen TC, Bergh K, Waldum HL. Gastric juice: a barrier against infectious diseases. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2005; 96: 94-102.
 40. Jaskiewicz K, Van Helden PD, Wiid IJ, Steenkamp HJ, Van Wyk MJ. Chronic atrophic gastritis, gastric pH, nitrites and micronutrient levels in a population at risk for gastric carcinoma. *Anticancer Res.* 1990; 10: 833-6.
 41. O'May GA, Reynolds N, Macfarlane GT. Effect of pH on an in vitro model of gastric microbiota in enteral nutrition patients. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71: 4777-83.
 42. Sharma BK, Santana IA, Wood EC, Walt RP, Pereira M, Noone P, Smith PL, Walters CL, Pounder RE. Intra-gastric bacterial activity and nitrosation before, during, and after treatment with omeprazole. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1984; 289: 717-9.
 43. Gray JD, Shiner M. Influence of gastric pH on gastric and jejunal flora. *Gut.* 1967; 8: 74-81.
 44. Prod'hom G, Leuenberger P, Koerfer J, Blum A, Chiolerio R, Schaller MD, Perret C, Spinnler O, Blondel J, Siegrist H, Saghafi L, Blanc D, Francioli P. Nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients receiving antacid, ranitidine, or sucralfate as prophylaxis for stress ulcer. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med.* 1994; 120: 653-62.
 45. Messori A, Trippoli S, Vaiani M, Gorini M, Corrado A. Bleeding and pneumonia in intensive care patients given ranitidine and sucralfate for prevention of stress ulcer: meta-analysis of randomised controlled trials. *BMJ.* 2000; 321: 1103-6.
 46. Trautmann K, Stolte M, Miehle S. Eradication of *H. pylori* for the prevention of gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 5101-7.
 47. Harford WV, Barnett C, Lee E, Perez-Perez G, Blaser MJ, Peterson WL. Acute gastritis with hypochlorhydria: report of 35 cases with long term follow up. *Gut.* 2000; 47: 467-72.

48. Gledhill T, Leicester RJ, Addis B, Lightfoot N, Barnard J, Viney N, Darkin D, Hunt RH. Epidemic hypochlorhydria. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985; 290: 1383-6.
49. Mowat C, Williams C, Gillen D, Hossack M, Gilmour D, Carswell A, Wirz A, Preston T, McColl KE. Omeprazole, *Helicobacter pylori* status, and alterations in the intragastric milieu facilitating bacterial N-nitrosation. *Gastroenterology*. 2000; 119: 339-47.
50. Martinsen TC, Waldum HL. Gastric juice: a natural-born killer. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 23: 1677-8.
51. Yeomans ND, Dent J. Personal review: alarmism or legitimate concerns about long-term suppression of gastric acid secretion? *Aliment Pharmacol Ther*. 2000; 14: 267-71.
52. McNulty CA, Wise R. Gastric microflora. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985; 291: 367-8.
53. Zavros Y, Rieder G, Ferguson A, Merchant JL. Gastritis and hypergastrinemia due to *Acinetobacter lwoffii* in mice. *Infect Immun*. 2002; 70: 2630-9.
54. Goodsell DS. The molecular perspective: nicotine and nitrosamines. *Oncologist*. 2004; 9: 353-4.
55. Zeisel SH, DaCosta KA. Increase in human exposure to methylamine precursors of N-nitrosamines after eating fish. *Cancer Res*. 1986; 46: 6136-8.
56. Ziebarth D, Spiegelhalder B, Bartsch H. N-nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastro-intestinal tract, including *Helicobacter pylori*. *Carcinogenesis*. 1997; 18: 383-9.
57. Dallinga JW, Pachen DM, Lousberg AH, van Geel JA, Houben GM, Stockbrugger RW, van Maanen JM, Kleinjans JC. Volatile N-nitrosamines in gastric juice of patients with various conditions of the gastrointestinal tract determined by gas chromatography-mass spectrometry and related to intragastric pH and nitrate and nitrite levels. *Cancer Lett*. 1998; 124: 119-25.
58. Calmels S, Ohshima H, Henry Y, Bartsch H. Characterization of bacterial cytochrome cd(1)-nitrite reductase as one enzyme responsible for catalysis of nitrosation of secondary amines. *Carcinogenesis*. 1996; 17: 533-6.
59. Jalving M, Koornstra JJ, Wesseling J, Boezen HM, DE Jong S, Kleibeuker JH. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006; 24: 1341-8.
60. Watt PC, Sloan JM, Donaldson J, Campbell G, Kennedy TL. Relation between gastric histology and gastric juice pH and nitrite and N-nitroso

- compound concentrations in the stomach after surgery for duodenal ulcer. *J Clin Pathol.* 1984; 37: 511-5.
61. Sierra R, Chinnock A, Ohshima H, Pignatelli B, Malaveille C, Gamboa C, Teuchmann S, Munoz N, Bartsch H. In vivo nitrosoproline formation and other risk factors in Costa Rican children from high- and low-risk areas for gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993; 2: 563-8.
 62. Beland FA, Poirier MC. Significance of DNA adduct studies in animal models for cancer molecular dosimetry and risk assessment. *Environ Health Perspect.* 1993; 99: 5-10.
 63. Hecht SS, Young R. Metabolic alpha-hydroxylation of N-nitrosomorpholine and 3,3,5,5-tetradeutero-N-nitrosomorpholine in the F344 rat. *Cancer Res.* 1981; 41: 5039-43.
 64. Castonguay A, Foiles PG, Trushin N, Hecht SS. Study of DNA methylation by tobacco-specific N-nitrosamines. *Environ Health Perspect.* 1985; 62: 197-202.
 65. Goldman R, Shields PG. Food mutagens. *J Nutr.* 2003;133: 965S-973S.
 66. Hoffmann D, Castonguay A, Rivenson A, Hecht SS. Comparative carcinogenicity and metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and N'-nitrosornicotine in Syrian golden hamsters. *Cancer Res.* 1981; 41: 2386-93.
 67. Hecht SS, Chen CB, Ohmori T, Hoffmann D. Comparative carcinogenicity in F344 rats of the tobacco-specific nitrosamines, N'-nitrosornicotine and 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res.* 1980; 40: 298-302.
 68. Del Rio D, Stewart AJ, Pellegrini N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005; 15: 316-28.
 69. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology.* 2002; 181: 219-22.
 70. Blair IA. Lipid hydroperoxide-mediated DNA damage. *Exp Gerontol.* 2001; 36: 1473-81.
 71. Feng Z, Hu W, Marnett LJ, Tang MS. Malondialdehyde, a major endogenous lipid peroxidation product, sensitizes human cells to UV- and BPDE-induced killing and mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair. *Mutat Res.* 2006; 601: 125-36.
 72. Cline SD, Riggins JN, Tornaletti S, Marnett LJ, Hanawalt PC. Malondialdehyde adducts in DNA arrest transcription by T7 RNA

- polymerase and mammalian RNA polymerase II. Proc Natl Acad Sci USA. 2004; 101: 7275-80.
73. Niedernhofer LJ, Daniels JS, Rouzer CA, Greene RE, Marnett LJ. Malondialdehyde, a product of lipid peroxidation, is mutagenic in human cells. J Biol Chem. 2003; 278: 31426-33. Epub 2003 May 29.
 74. VanderVeen LA, Hashim MF, Shyr Y, Marnett LJ. Induction of frameshift and base pair substitution mutations by the major DNA adduct of the endogenous carcinogen malondialdehyde. Proc Natl Acad Sci USA. 2003; 100: 14247-52.
 75. Polat MF, Taysi S, Gul M, Cikman O, Yilmaz I, Bakan E, Erdogan F. Oxidant/antioxidant status in blood of patients with malignant breast tumour and benign breast disease. Cell Biochem Funct. 2002; 20: 327-31 (abstract).
 76. Wang M, Dhingra K, Hittelman WN, Liehr JG, de Andrade M, Li D. Lipid peroxidation-induced putative malondialdehyde-DNA adducts in human breast tissues. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 1996; 5: 705-10.
 77. Wang SH, Wang YZ, Zhang KY, Shen JH, Zhou HQ, Qiu XY. Effect of superoxide dismutase and malondialdehyde metabolic changes on carcinogenesis of gastric carcinoma. World J Gastroenterol. 2005; 11: 4305-10.
 78. Vijayan G, Sundaram RC, Bobby Z, Hamide A, Selvaraj N, Dasse NR. Increased plasma malondialdehyde and fructosamine in anemic *H pylori* infected patients: effect of treatment. World J Gastroenterol. 2007; 13: 796-800.
 79. Santra A, Chowdhury A, Chaudhuri S, Das Gupta J, Banerjee PK, Mazumder DN. Oxidative stress in gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. Indian J Gastroenterol. 2000; 19: 21-3.
 80. Bedi A, Pasricha PJ, Akhtar AJ, Barber JP, Bedi GC, Giardiello FM, Zehnbauser BA, Hamilton SR, Jones RJ. Inhibition of apoptosis during development of colorectal cancer. Cancer Res. 1995; 55: 1811-6.
 81. Zhu C, Joyce NC. Proliferative response of corneal endothelial cells from young and older donors. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2004; 45: 1743-51.
 82. Volker HU, Scheich M, Holler S, Strobel P, Hagen R, Muller-Hermelink HK, Eck M. Differential diagnosis of laryngeal spindle cell carcinoma and inflammatory myofibroblastic tumor--report of two cases with similar morphology. Diagn Pathol. 2007; 2: 1.
 83. Kallakury BV, Sheehan CE, Rhee SJ, Fisher HA, Kaufman RP Jr, Rifkin MD, Ross JS. The prognostic significance of proliferation-associated nucleolar protein p120 expression in prostate adenocarcinoma: a comparison

- with cyclins A and B1, Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and p34cdc2. *Cancer*. 1999; 85: 1569-76.
84. Endl E, Gerdes J. The Ki-67 protein: fascinating forms and an unknown function. *Exp Cell Res*. 2000; 257: 231-7.
 85. Salminen E, Palmu S, Vahlberg T, Roberts PJ, Soderstrom KO. Increased proliferation activity measured by immunoreactive Ki67 is associated with survival improvement in rectal/recto sigmoid cancer. *World J Gastroenterol*. 2005; 11: 3245-9.
 86. Zhang Z, Yuan Y, Gao H, Dong M, Wang L, Gong YH. Apoptosis, proliferation and p53 gene expression of *H. pylori* associated gastric epithelial lesions. *World J Gastroenterol*. 2001; 7: 779-82.
 87. Dai MS, Jin Y, Gallegos JR, Lu H. Balance of Yin and Yang: ubiquitylation-mediated regulation of p53 and c-Myc. *Neoplasia*. 2006; 8: 630-44.
 88. Hongyo T, Buzard GS, Palli D, Weghorst CM, Amorosi A, Galli M, Caporaso NE, Fraumeni JF Jr, Rice JM. Mutations of the K-ras and p53 genes in gastric adenocarcinomas from a high-incidence region around Florence, Italy. *Cancer Res*. 1995; 55: 2665-72.
 89. Kim SS, Bhang CS, Min KO, Chae HS, Choi SW, Lee CD, Lim KW, Chung IS, Park DH. p53 mutations and microsatellite instabilities in the subtype of intestinal metaplasia of the stomach. *J Korean Med Sci*. 2002; 17: 490-6.
 90. Ranzani GN, Luinetti O, Padovan LS, Calistri D, Renault B, Burrel M, Amadori D, Fiocca R, Solcia E. p53 gene mutations and protein nuclear accumulation are early events in intestinal type gastric cancer but late events in diffuse type. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1995; 4: 223-31.
 91. Mestre JR, Mackrell PJ, Rivadeneira DE, Stapleton PP, Tanabe T, Daly JM. Redundancy in the signaling pathways and promoter elements regulating cyclooxygenase-2 gene expression in endotoxin-treated macrophage/monocytic cells. *J Biol Chem*. 2001; 276: 3977-82.
 92. Chen CC, Sun YT, Chen JJ, Chiu KT. TNF-alpha-induced cyclooxygenase-2 expression in human lung epithelial cells: involvement of the phospholipase C-gamma 2, protein kinase C-alpha, tyrosine kinase, NF-kappa B-inducing kinase, and I-kappa B kinase 1/2 pathway. *J Immunol*. 2000; 165: 2719-28.
 93. Chan FK, To KF, Ng YP, Lee TL, Cheng AS, Leung WK, Sung JJ. Expression and cellular localization of COX-1 and -2 in *Helicobacter pylori* gastritis. *Aliment Pharmacol Ther*. 2001; 15: 187-93.
 94. Jacoby RF, Seibert K, Cole CE, Kelloff G, Lubet RA. The cyclooxygenase-2 inhibitor celecoxib is a potent preventive and therapeutic agent in the min mouse model of adenomatous polyposis. *Cancer Res*. 2000; 60: 5040-4.

95. Mahmoud NN, Boolbol SK, Dannenberg AJ, Mestre JR, Bilinski RT, Martucci C, Newmark HL, Chadburn A, Bertagnoli MM. The sulfide metabolite of sulindac prevents tumors and restores enterocyte apoptosis in a murine model of familial adenomatous polyposis. *Carcinogenesis*. 1998; 19: 87-91.
96. Oshima M, Murai N, Kargman S, Arguello M, Luk P, Kwong E, Taketo MM, Evans JF. Chemoprevention of intestinal polyposis in the Apcdelta716 mouse by rofecoxib, a specific cyclooxygenase-2 inhibitor. *Cancer Res*. 2001; 61:1733-40.
97. Yu HP, Xu SQ, Liu L, Shi LY, Cai XK, Lu WH, Lu B, Su YH, Li YY. Cyclooxygenase-2 expression in squamous dysplasia and squamous cell carcinoma of the esophagus. *Cancer Lett*. 2003; 198: 193-201.
98. Saukkonen K, Nieminen O, van Rees B, Vilkki S, Harkonen M, Juhola M, Mecklin JP, Sipponen P, Ristimaki A. Expression of cyclooxygenase-2 in dysplasia of the stomach and in intestinal-type gastric adenocarcinoma. *Clin Cancer Res*. 2001; 7:1923-31.
99. Zhang JT, Wang MW, Zhu ZL, Huo XH, Chu JK, Cui DS, Qiao L, Yu J. Increased expression of cyclooxygenase-2 in first-degree relatives of gastric cancer patients. *World J Gastroenterol*. 2005; 11:4918-22.
100. Thun MJ, Namboodiri MM, Calle EE, Flanders WD, Heath CW Jr. Aspirin use and risk of fatal cancer. *Cancer Res*. 1993; 53:1322-7.
101. Konturek SJ, Konturek PC, Hartwich A, Hahn EG. *Helicobacter pylori* infection and gastrin and cyclooxygenase expression in gastric and colorectal malignancies. *Regul Pept*. 2000; 93: 13-9.
102. Jackson LM, Wu KC, Mahida YR, Jenkins D, Hawkey CJ. Cyclooxygenase (COX) 1 and 2 in normal, inflamed, and ulcerated human gastric mucosa. *Gut*. 2000; 47: 762-70.
103. Mateos R, Lecumberri E, Ramos S, Goya L, Bravo L. Determination of malondialdehyde (MDA) by high-performance liquid chromatography in serum and liver as a biomarker for oxidative stress, Application to a rat model for hypercholesterolemia and evaluation of the effect of diets rich in phenolic antioxidants from fruits. *J Chromatog B*. 2005; 827: 76-82.
104. Sun WH, Yu Q, Shen H, Ou XL, Cao DZ, Yu T, Qian C, Zhu F, Sun YL, Fu XL, Su H. Roles of *Helicobacter pylori* infection and cyclooxygenase-2 expression in gastric carcinogenesis. *World J Gastroenterol*. 2004; 10: 2809-13.
105. Ozturk Y, Ozer E, Lebe B, Bekem O, Buyukgebiz B. Immunohistochemical evaluation of p53 expression and proliferative activity in children with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005; 40: 467-70.
106. Sanduleanu S, Stridsberg M, Jonker D, Hameeteman W, Biemond I, Lundqvist G, Lamers C, Stockbrugger RW. Serum gastrin and chromogranin

- A during medium- and long- term acid suppressive therapy: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13:145-53.
107. Henwood M, Clarke PA, Smith AM, Watson SA. Expression of gastrin in developing gastric adenocarcinoma. *Br J Surg.* 2001; 88: 564-8
 108. Kuipers EJ, Nelis GF, Klinkenberg-Knol EC, Snel P, Goldfain D, Kolkman JJ, Festen HP, Dent J, Zeitoun P, Havu N, Lamm M, Walan A. Cure of *Helicobacter pylori* infection in patients with reflux oesophagitis treated with long term omeprazole reverses gastritis without exacerbation of reflux disease: results of a randomised controlled trial. *Gut.* 2004; 53: 12-20.
 109. Berardi RR. A critical evaluation of proton pump inhibitors in the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Manag Care.* 2000; 6: S491-505.
 110. Rindi G, Fiocca R, Morocutti A, Jacobs A, Miller N, Thjodleifsson B; European Rabeprazole Study Group. Effects of 5 years of treatment with rabeprazole or omeprazole on the gastric mucosa. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2005; 17: 559-66.
 111. Lamberts R, Brunner G, Solcia E. Effects of very long (up to 10 years) proton pump blockade on human gastric mucosa. *Digestion.* 2001; 64: 205-13.
 112. Jonkers D, Stobberingh E, Stockbrugger R. Omeprazole inhibits growth of gram-positive and gram-negative bacteria including *Helicobacter pylori* in vitro. *J Antimicrob Chemother.* 1996; 37: 145-50.
 113. Schenk BE, Kuipers EJ, Nelis GF, Bloemena E, Thijs JC, Snel P, Luckers AE, Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Viergever PP, Lindeman J, Meuwissen SG. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on chronic gastritis during omeprazole therapy. *Gut.* 2000; 46: 615-21.
 114. Leite KR, Darini E, Canavez FC, Carvalho CM, Mitteldorf CA, Camara-Lopes LH. *Helicobacter pylori* and cagA gene detected by polymerase chain reaction in gastric biopsies: correlation with histological findings, proliferation and apoptosis. *Sao Paulo Med J.* 2005; 123: 113-8.
 115. Nomura AM, Perez-Perez GI, Lee J, Stemmermann G, Blaser MJ. Relation between *Helicobacter pylori* cagA status and risk of peptic ulcer disease. *Am J Epidemiol.* 2002; 155: 1054-9.
 116. Schenk BE, Kuipers EJ, Nelis GF, Bloemena E, Thijs JC, Snel P, Luckers AE, Klinkenberg-Knol EC, Festen HP, Viergever PP, Lindeman J, Meuwissen SG. Effect of *Helicobacter pylori* eradication on chronic gastritis during omeprazole therapy. *Gut.* 2000; 46: 615-21.
 117. van IJzendoorn MC, Laheij RJ, de Boer WA, Jansen JB. The importance of corpus biopsies for the determination of *Helicobacter pylori* infection. *Neth J Med.* 2005; 63: 141-5.
 118. Zhang C, Yamada N, Wu YL, Wen M, Matsuhisa T, Matsukura N. *Helicobacter pylori* infection, glandular atrophy and intestinal metaplasia in superficial gastritis, gastric erosion, erosive gastritis, gastric ulcer and early gastric cancer. *World J Gastroenterol.* 2005; 11: 791-6.

119. Katz PO, Hatlebakk JG, Castell DO. Gastric acidity and acid breakthrough with twice-daily omeprazole or lansoprazole. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000; 14: 709-14.
120. Waldum HL, Arnestad JS, Brenna E, Eide I, Syversen U, Sandvik AK. Marked increase in gastric acid secretory capacity after omeprazole treatment. *Gut.* 1996; 39: 649-53.
121. Zilberstein B, Quintanilha AG, Santos MA, Pajeccki D, Moura EG, Alves PR, Maluf Filho F, de Souza JA, Gama-Rodrigues J. Digestive tract microbiota in healthy volunteers. *Clinics.* 2007; 62: 47-54. Erratum in: *Clinics.* 2007; 62: 206.
122. Vakevainen S, Tillonen J, Salaspuro M, Jousimies-Somer H, Nuutinen H, Farkkila M. Hypochlorhydria induced by a proton pump inhibitor leads to intragastric microbial production of acetaldehyde from ethanol. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000; 14: 1511-8.
123. Watt PC, Sloan JM, Donaldson J, Campbell G, Kennedy TL. Relation between gastric histology and gastric juice pH and nitrite and N-nitroso compound concentrations in the stomach after surgery for duodenal ulcer. *J Clin Pathol.* 1984; 37: 511-5.
124. O'May GA, Reynolds N, Macfarlane GT. Effect of pH on an in vitro model of gastric microbiota in enteral nutrition patients. *Appl Environ Microbiol.* 2005; 71: 4777-83.
125. Snepar R, Poporad GA, Romano JM, Kobasa WD, Kaye D. Effect of cimetidine and antacid on gastric microbial flora. *Infect Immun.* 1982; 36: 518-24.
126. Sanduleanu S, Jonkers D, De Bruine A, Hameeteman W, Stockbrugger RW. Non-*Helicobacter pylori* bacterial flora during acid-suppressive therapy: differential findings in gastric juice and gastric mucosa. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15: 379-88.
127. Krause R, Piening K, Ullmann U. Inhibitory effects of various microorganisms on the growth of *Helicobacter pylori*. *Lett Appl Microbiol.* 2005; 40: 81-6.
128. Oksanen A, Sipponen P, Karttunen R, Miettinen A, Veijola L, Sarna S, Rautelin H. Atrophic gastritis and *Helicobacter pylori* infection in outpatients referred for gastroscopy. *Gut.* 2000; 46: 460-3.
129. Yilmaz O, Sen N, Kupelioglu AA, Simsek I. Detection of *H. pylori* infection by ELISA and Western blot techniques and evaluation of anti CagA seropositivity in adult Turkish dyspeptic patients. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 5375-8.
130. Zhang QB, Nakashabendi IM, Mokhashi MS, Dawodu JB, Gemmell CG, Russell RI. Association of cytotoxin production and neutrophil activation by strains of *Helicobacter pylori* isolated from patients with peptic ulceration and chronic gastritis. *Gut.* 1996; 38: 841-5.

131. Boyle P, Ferlay J. Cancer incidence and mortality in Europe, 2004. *Ann Oncol.* 2005; 16: 481-8.
132. Gasbarrini G, Pretolani S, Bonvicini F, Gatto MR, Tonelli E, Megraud F, Mayo K, Ghironzi G, Giulianelli G, Grassi M. A population based study of *Helicobacter pylori* infection in a European country: the San Marino Study. Relations with gastrointestinal diseases. *Gut.* 1995; 36: 838-44.
133. S. Bengmark. Bioecological control of inflammatory bowel disease. *Clin Nutr.* 2007; 26: 169-81.
134. Lencner AA, Lencner CP, Mikelsaar ME, Tjuri ME, Toom MA, Valjaots ME, Silov VM, Liz'ko NN, Legenkov VI, Reznikov IM. The quantitative composition of the intestinal lactoflora before and after space flights of different lengths. *Nahrung.* 1984; 28: 607-13.
135. Verdu E, Viani F, Armstrong D, Fraser R, Siegrist HH, Pignatelli B, Idstrom JP, Cederberg C, Blum AL, Fried M. Effect of omeprazole on intragastric bacterial counts, nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds. *Gut.* 1994; 35: 455-60.
136. Verdu E, Viani F, Armstrong D, Fraser R, Siegrist HH, Pignatelli B, Idstrom JP, Cederberg C, Blum AL, Fried M. Effect of omeprazole on intragastric bacterial counts, nitrates, nitrites, and N-nitroso compounds. *Gut.* 1994; 35: 455-60.
137. Neubauer H, Gotz F. Physiology and interaction of nitrate and nitrite reduction in *Staphylococcus carnosus*. *J Bacteriol.* 1996;178: 2005-9.
138. Everett SM, Singh R, Leuratti C, White KL, Neville P, Greenwood D, Marnett LJ, Schorah CJ, Forman D, Shuker D, Axon AT. Levels of malondialdehyde-deoxyguanosine in the gastric mucosa: relationship with lipid peroxidation, ascorbic acid, and *Helicobacter pylori*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001; 10: 369-76.
139. Liu Y, Vosmaer GD, Tytgat GN, Xiao SD, Ten Kate FJ. Gastrin (G) cells and somatostatin (D) cells in patients with dyspeptic symptoms: *Helicobacter pylori* associated and non-associated gastritis. *J Clin Pathol.* 2005; 58: 927-31.
140. Xie XZ, Zhao ZG, Qi DS, Wang ZM. Assay of gastrin and somatostatin in gastric antrum tissues of children with chronic gastritis and duodenal ulcer. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 2288-90.
141. Kim JH, Park HJ, Cho JS, Lee KS, Lee SI, Park IS, Kim CK. Relationship of CagA to serum gastrin concentrations and antral G, D cell densities in *Helicobacter pylori* infection. *Yonsei Med J.* 1999; 40: 301-6.
142. El-Zimaity HM. Gastric atrophy, diagnosing and staging. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 5757-62.
143. Genta RM. Acid suppression and gastric atrophy: sifting fact from fiction. *Gut.* 1998; 43: S35-8.

144. Sloan JM, Buchanan KD, McFarland RJ, Titterington P, Sandford JC. A histological study of the effect of chronic gastritis on gastrin cell distribution in the human stomach. *J Clin Pathol.* 1979; 32: 201-7.
145. Deveci MS, Deveci G. Altered distribution of metaplastic Paneth, gastrin and pancreatic acinar cells in atrophic gastritic mucosa with endocrine cell lesions. *Tohoku J Exp Med.* 2004; 202: 13-22.
146. Hritz I, Herszenyi L, Molnar B, Tulassay Z, Pronai L. Long-term omeprazole and esomeprazole treatment does not significantly increase gastric epithelial cell proliferation and epithelial growth factor receptor expression and has no effect on apoptosis and p53 expression. *World J Gastroenterol.* 2005; 11: 4721-6.
147. Xia HH, Wong BC, Zhang GS, Yang Y, Wyatt JM, Adams S, Cheung K, Lam SK, Talley NJ. Antralization of gastric incisura is topographically associated with increased gastric epithelial apoptosis and proliferation, but not with CagA seropositivity. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004; 19: 1257-63.
148. Moss SF, Sordillo EM, Abdalla AM, Makarov V, Hanzely Z, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Holt PR. Increased gastric epithelial cell apoptosis associated with colonization with cagA + *Helicobacter pylori* strains. *Cancer Res.* 2001; 61: 1406-11.
149. Baum B, Meneses F, Kleinschmidt S, Nolte I, Hewicker-Trautwein M. Age-related histomorphologic changes in the canine gastrointestinal tract: a histologic and immunohistologic study. *World J Gastroenterol.* 2007; 13: 152-7.
150. Kohli Y, Kato T, Suzuki K, Tada T, Fujiki N. Incidence of atrophic gastritis with age in Japan and Canada. *Jpn J Med.* 1987; 26: 158-61.
151. Jassel SV, Ardill JE, Fillmore D, Bamford KB, O'Connor FA, Buchanan KD. The rise in circulating gastrin with age is due to increases in gastric autoimmunity and *Helicobacter pylori* infection. *QJM.* 1999; 92: 373-7.
152. Majumdar APN. Regulation of gastrointestinal mucosal growth during aging. *Journal Of Physiology and Pharmacology* 2003, 54, 4, 143-154.
153. Annibale B, Aprile MR, D'ambra G, Caruana P, Bordi C, Delle Fave G. Cure of *Helicobacter pylori* infection in atrophic body gastritis patients does not improve mucosal atrophy but reduces hypergastrinemia and its related effects on body ECL-cell hyperplasia. *Aliment Pharmacol Ther.* 2000; 14: 625-34.
154. Hirschowitz BI, Haber MM. *Helicobacter pylori* effects on gastritis, gastrin and enterochromaffin-like cells in Zollinger-Ellison syndrome and non-Zollinger-Ellison syndrome acid hypersecretors treated long-term with lansoprazole. *Aliment Pharmacol Ther.* 2001; 15: 87-103.
155. Singh P, Indaram A, Greenberg R, Visvalingam V, Bank S. Long term omeprazole therapy for reflux esophagitis: follow-up in serum gastrin levels, EC cell hyperplasia and neoplasia. *World J Gastroenterol.* 2000; 6: 789-792.

156. Warner TD, Mitchell JA. Cyclooxygenases: new forms, new inhibitors, and lessons from the clinic. *FASEB J.* 2004; 18: 790-804.
157. Wambura C, Aoyama N, Shirasaka D, Kuroda K, Maekawa S, Ebara S, Watanabe Y, Tamura T, Kasuga M. Influence of gastritis on cyclooxygenase-2 expression before and after eradication of *Helicobacter pylori* infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2004; 16: 969-79