

58778

T.C.
Trakya Üniversitesi
Tıp Fakültesi
İç Hastalıkları Anabilim Dalı
Gastroenteroloji Bilim Dalı

HELICOBACTER PYLORİ İNFEKSİYONUNUN TEDAVİSİ VE SERUM GASTRİN DÜZEYLERİNE ETKİSİ

Tez Yönetmeni
Prof.Dr.Gülbin DÖKMECİ

Uzm.Dr.Sedat ÖZDEMİR
(Yandal Uzmanlık Tezi)

EDİRNE-1997

Uzmanlık eğitimim ve tezimin hazırlanmasında katkısı olan hocam Sayın Prof. Dr. Gülbin DÖKMECİ'ye , uzmanlık eğitimim sırasında katkısı olan Uzm.Dr. Ertan ULUSOY'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamda yardımcı olan Kim.Şükran ÇİFTÇİ ve eşim Uzm.Dr.Ferda ÖZDEMİR'e teşekkür ederim.

Uzm.Dr.Sedat ÖZDEMİR

İÇİNDEKİLER

Giriş ve Amaç.....	1
Genel Bilgiler.....	3
Materyal ve Metod.....	30
Bulgular.....	35
Tartışma.....	40
Özet.....	47
Kaynaklar.....	49

GİRİŞ VE AMAÇ :

Duodenal ülser (DÜ) etyopatogenezi uzun yıllardır araştırılmasına rağmen tam olarak açıklanamamaktadır. Günümüzde asit-peptik aktivitenin çeşitli nedenlerle koruyuculuğu azalmış mukus ve mukozada hasar oluşturduğu kabul edilmektedir. Mukoza ve mukus yapısının bozukluğuna neden olan etkenlerin başında yaygın olarak kullanılan nonsteroid antiinflamatuar ilaçlar (NSAİD) (1,2) ve Helicobacter pylori (HP) infeksiyonu gelmektedir (3-19).

Geçen yüzyılın sonlarında mide mukus tabakası altında fark edilen mikroorganizmaların izolasyonu ve kültürü ancak 1982 yılında başarılabilmiştir. İzleyen yıllarda HP ile çeşitli üst gastrointestinal sistem hastalıkları arasındaki ilişki araştırılarak, en güçlü birliktelik B tipi (antral) gastritte %70-100 (3-6) ve DÜ'de % 60-100 (5,7-18) arasında görülmektedir. HP infeksiyonu bunların dışında mide ülseri (12,18) nonülser dispepsi (6,12) ve mide malignitelerinde (5,19) ise %30-70 oranında saptanmaktadır. Özellikle DÜ'li olgularda bakterinin ortadan kaldırılması ile iyileşme hızlanmakta, nüks ve komplikasyonlar azalmaktadır. Ancak bakteriyal eradikasyonun sağlanmasında bazı güçlüklerle karşılaşmaktadır.

Daha sonraki çalışmalarda bakterinin mukus ve mukozal yapıyı bozması yanında, salgıladığı bir takım enzim ve sitotoksinler ile antral G hücreleri (gastrin salgılayan hücreler) ve D hücrelerini (somatostatin salgılayan hücreler) etkilediği belirtilmektedir. HP'nin hem G hücrelerini uyararak (11,17,20,21,22) hem de D hücre fonksiyonlarını bozması sonucu somatostatinin G hücreleri üzerine olan inhibe edici etkisini azaltarak (23) hipergastrinemiye neden olduğu

ileri sürülmektedir. Serum gastrin düzeyindeki yükselme asit ve pepsin salgısının artmasıyla sonuçlandığı düşünülmektedir. Dolayısıyla HP'nin sadece mukozal yapıyı bozmayıp aynı zamanda asit-peptik aktiviteyi de arttırdığı belirtilmektedir.

Bu çalışmada endoskopik olarak DÜ saptanan HP(+) 30 ve HP(-) 10 olguda açlık ve tokluk gastrin düzeyleri, bakteri eradikasyonunda iki farklı tedavi yönteminin etkinliği ve bakteriyal eradikasyondan sonra gastrin düzeyindeki değişiklikler incelendi. Böylece DÜ'li olgularda bakterinin serum gastrin düzeyine etkisinin olup olmadığı farklı iki tedavi şeması kullanılarak araştırılmaya çalışıldı.

GENEL BİLGİLER

PEPTİK ÜLSER

Peptik ülser 'PÜ', sindirici asit-pepsin aktivitesi ile koruyucu mekanizmalar arasındaki dengenin bozulması sonucu, mide suyunun temas ettiği mukozada gelişen, muskular tabakaya kadar uzanan doku kaybıdır. Sıklıkla bulbus duodeni, daha az olarak mide ve nadiren de gastrointestinal kanalın diğer kısımlarında görülür (16,24).

PÜ hastalığı çok eski çağlardan beri bilinmesine ve günümüze kadar antiasit ve antikolinergiklerle tedavi edilmesine rağmen etyolojide tek bir ajanı sorumlu tutmak mümkün olamamıştır. PÜ gelişiminde midenin asit-pepsin aktivitesinin önemi, ilk kez Schwarz tarafından "no acid no ulcer" olarak belirtilmiştir (25). Bu görüş bu gün için de geçerliliğini hala korumakla birlikte, diğer bazı saldırgan ve koruyucu etkenlerin de ülser gelişimindeki rolleri araştırılmaktadır. Saldırgan etkenler arasında asit-pepsin aktivitesi ve ülserojen ilaçların yanısıra son senelerde bazı mikroorganizmalar, özellikle HP sorumlu tutulmaktadır (5,7-18,26).

Mide veya duodenumdaki lokalizasyonuna göre ülser etyopatogenezi ve klinik özellikleri açısından belirgin farklılıklar vardır. DÜ hastalığı genç yaşlarda başlar. Ortalama parietal hücre kitlesi ve asit salınımı fazladır (7,24,27). Mide ülseri daha çok ileri yaşlarda görülür (28). Johnson Sınıflaması'na göre Tip 1 mide ülserli hastalarda asit salınımı normal veya azdır. Tip 2'de ise mide ülseri DÜ'le beraber görülür ve tipik olarak DÜ hastalığının artmış asit salınımına sahiptir (24,29). Bu ülserler midede genellikle antrumun

distalinde veya pilor kanalında bulunur. Tip 3 Mide ülseri ise sadece mideye lokalizedir ve artmış asit salınımı ile karakterizedir (29).

KORUYUCU FAKTÖRLER	SALDIRGAN FAKTÖRLER
Mukus tabakası	Asit
Mukozal bikarbonat salınımı	Pepsin
Hücreler arası sıkı bağlantılar	Ülserojen ilaçlar
Epitel hücrelerinin apikal direnci	HP
Mukozal kan akımı	

Tablo I : Koruyucu ve saldırgan faktörler (24)

KORUYUCU FAKTÖRLER :

Mukozanın asit-pepsin etkisinden korunmasında ilk bariyeri mukus tabakası oluşturur. Glikoprotein yapısında olan ve suyla temas edince jel formunu alan mukus, gastrik ve duodenal mukozayı kaplar. Mukus tabakası mide ve duodenum mukozasından salgılanan bikarbonatla birlikte, lümen içi pH 1.5'e kadar düşse de mukozal yüzeyde pH'nın 6'nın üzerinde olmasını sağlar. Epitel hücreleri arasındaki sıkı bileşke, apikal yüzeylerin peptik aktiviteye karşı önemli ölçüde dirençli olmasını sağlayan diğer bir koruyucu etkendir (24). Duodenal lümene gelen mide içeriğinin nötralizasyonunda pankreatik bikarbonat salınımı önemli rol oynar (24,27). Tüm bu koruyucu mekanizmaların çalışması yeterli kanlanma ile sağlanabilir. Duodenuma göre mide mukozasının iskemiyeye daha dayanıklı olduğu ve mezenter iskemisi olan hastalarda, cerrahi reperfüzyon ile kronik ülserlerin hızla iyileştiği belirtilmektedir (24).

SALDIRGAN FAKTÖRLER :

Özellikle DÜ'de asit sekresyonunun yüksekliği, gastrinoma modeli ve H₂ blokerlerine ülserin cevabı, asit-peptik aktivitenin gastrointestinal mukoza için güçlü hasar verici olduğunu göstermektedir (24,27,30).

Mide asit-pepsin salınımı nöral (vagal), endokrin (gastrin), parakrin (histamin) uyarılarla düzenlenmektedir. Sefalik uyarıların vagal yolla iletilmesi ve gıdaların antral gastrin salınımını uyarması ile parietal hücrelerden asit, esas hücrelerde pepsinojen salınımı artar. Mide ve duodenum pH'sı düşünce gastrin salınımı durur, asit sekresyonu bazal değerine döner. pH 4'ün altındayken pepsinojen aktif şekli olan pepsine dönüşür (24,27,31).

1905 yılında Edkins köpekler üzerine yaptığı çalışmada antrum ekstraktının intravenöz verilmesi ile gastrik asit salınımının arttığını gösterdi. Fakat bu etkiyi sağlayan gastrinin izolasyonu 1964 yılında Gregory ve Tracy tarafından başarılabılmıştır (25).

Gastrin hormonunun birden fazla formu mevcuttur ve içerdiği aminoasit sayısına göre isimlendirilir. 17 aminoasitten oluşan küçük gastrin (G₁₇) antrumdaki G hücreleri içerisinde depolanan formdur. Duodenal G hücrelerinde bulunan gastrin (G₃₄) ise 34 aminoasitten oluşmuştur. Dolaşımda ve dokularda saptanan gastrinin %90'nını G₁₇ ve G₃₄, kalan %10'luk kısmını ise diğerleri, özellikle de G₁₄ oluşturmaktadır (32).

Gastrin üreten G hücreleri en çok antral mukozadaki bezlerin orta kısmında, proksimal duodenumda ve daha az olmakla birlikte pankreatik

adacıklarda da bulunur. Gastrin salınımını uyaran ve inhibe eden faktörler tablo 2 'de özetlenmiştir.

Gastrin salınımını uyaran faktörlerin etkileri lüminal asitin G hücreleri üzerine direkt etkisi ile inhibe edilir. Örneğin pH 2.5 olduğunda aminoasit uyarımı ile beklenen gastrin salınımı %80 azalır (32).

	Uyaran	İnhibe eden
Luminal	Peptid ve aminoasitler Midenin gerilmesi	Asit
Nöral	Vagal uyarı (beyin veya mideden köken alan)	
Kan yoluyla	Kalsiyum Adrenalin Bombesin	Sekretin, GIP, VIP, Glukagon, Kalsitonin, somatostatin

Tablo 2: Gastrin salınımını regüle eden faktörler (32)

Gastrinin fizyolojik etkileri; asit ve muhtemelen pepsin salınımını uyarmak, gastrik motiliteyi artırmak, korpus ve fundus mukozası üzerine trofik etki göstermek şeklinde özetlenebilir. G₃₄ diğer gastrinlere göre asit salgılanmasını uyarmada daha potent olmakla birlikte hızla yıkılarak kandan uzaklaştırılması nedeniyle, eşit dozda verildiğinde tüm gastrinlerin sekresyonu uyarmada aynı etkinliği gösterdiği kabul edilmektedir. Böbrekler gastrinlerin yıkım yeridir, küçük fragmanlar karaciğer tarafından uzaklaştırılır (32).

DÜ' lilerin çoğunda hızlı gastrik boşalma gözlenmektedir. Bu durum duodenumdaki asit nötralizasyon kapasitesinin aşılmasına neden olabilmektedir (24,31).

Genetik yatkınlık, özellikle gençlerde DÜ sıklığını 2-3 kez artırır. Genetik geçiş; asit salgılayan parietal hücre yoğunluğu, mukozayı örten mukus yapısındaki farklılıklar, bikarbonat ve prostaglandin salınımındaki değişiklikler

(28),artmış gastrin duyarlılığı, hipergastrinemi ve fazla pepsinojen I salgılanması gibi nedenlerle açıklanmaya çalışılmaktadır (7,17,27,31).

Emosyonel gerginlik PÜ hastalığının etyopatogenezinden çok seyrende etkili olabilir. PÜ hastalığı karaciğer, akciğer ve böbreklerin kronik hastalığında sık görülmektedir. Bu durum gastrin ve histaminin inaktivasyonundaki yetersizlik, portal kanlanma bozukluğu, aşırı analjezik ve alkol kullanımı ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Romatoid artritli hastalar analjezik kullanımından bağımsız, muhtemelen vaskülitte bağlı olarak özellikle gastrik ülser eğilimlidirler. Polisitemia vera, Cushing hastalığı, hiperparatiroidizm, sistemik mastositozis, ülser-tremor-nistagmus sendromu'nda da PÜ sıklığı artmıştır (28).

Sigara içimi; prostoglandin sentezini inhibe ederek, mukozal kan akımını ve pankreatik bikarbonat sekresyonunu azaltarak, mukus yapısını bozarak, belki de asit-peptik aktiviteyi arttırarak peptik ülser oluşumunu kolaylaştır, iyileşmeyi geciktirir (2,28). Bu etkilerinin doza bağımlı olduğu ileri sürülmektedir. Sigara içenlerde gastrin analogları ile uyarımı takiben, içmeyenlere göre asit salınımının daha fazla olduğu ve aynı zamanda nikotinin laboratuvar hayvanlarında kenar hücre yoğunluğunu arttırdığı gösterilmiştir (28). Ayrıca; sigaranın ilk kez fare tükürük bezlerinde izole edilen ve onarıcı etkisi olan epidermal growth faktör salınımını azalttığı da bildirilmektedir (1,33,34)

PÜ hastalığının etyopatogenez ve tedavisinde diyetin rolü tartışmalıdır. Eskiden ülser tedavisinde uygulanan sıkı diyet tedavisi son senelerde yerini normal beslenmeye bırakmış gözükmektedir. Diyetin PÜ'den çok gastroözofagial reflüde önemli olduğu görüşünde birleşilmekte olup; özofagial

mukoza irritasyonu, özofagus alt sfinkter basıncında azalma veya mide boşalmasının yavaşlaması ile hastalığın seyrini etkilediği belirtilmektedir (28).

Özellikle akut PÜ gelişiminde NSAID'ların önemi çok fazladır. Ülserojen olarak adlandırılan bu ilaçlar; prostaglandin ve mukozal bikarbonat sekresyonunu azaltarak, mukus yoğunluk ve içeriğini değiştirerek savunma mekanizmasını bozmaktadırlar (1,2,28).

HELICOBACTER PYLORİ

İlk kez 1874 yılında insan ve çeşitli hayvanların midelerinde spiral mikroorganizmalar saptanmış olmakla birlikte yakın zamana kadar bu mikroorganizmaların izolasyonu mümkün olamamıştır (4,26). Oral içeriğin yutulması sonucu oluşan kontaminasyona bağlandığından gastrik bakterilerle uzun süre ilgilenilmemiştir (35).

1924 yılında Luck ve Seth midenin bazı kısımlarında üreaz aktivitesi saptadılar. 1955 yılında Kornberg ve Davies üreaz aktivitesini bakteriyal kaynaklı olduğunu ileri sürdüler (35).

1983 yılına kadar araştırmacılar tarafından izole edilemeyen gastrik bakterilerin kültürü ilk kez bu tarihte yapılabilmiş ve dikkatlerini gastrik bakteriler üzerine yoğunlaştırarak çalışmayı başlatan Warren ve Marshall tarafından yayınlanmıştır (36). Önceleri *Campylobacter pyloridis*, daha sonra latince kuralları gereği *Campylobacter pylori* olarak adlandırılmış, 1989 yılından itibaren farklı bir grup oldukları anlaşılacak, spiral anlamına gelen *Helicobacter* cinsi içine alınarak *Helicobacter pylori* adını almıştır. HP ile en güçlü ilişki B tipi (antral) gastrit (3-6) ve duodenal ülser arasında bulunmuştur (5,7-18).

HP; insan mide biopsi örneklerinde gastrik mukoza üzerindeki mukus tabakası altına yerleşen, kıvrık veya ince spiral biçimli, 0.5-1 mikrometre/2.5-4 mikrometre boyutlarında, yuvarlak uçlu, çok flagellumlu, hareketli gram negatif bakteridir. Kültür ortamında üretilen bakterinin kıvrımları azalmakta hatta kaybolup çomak biçimini alabilmektedir. Dört ile altı arasında değişen kılıflı flagellumlar bir uçtan çıkmakta ve herbiri yaklaşık 2.5 mikrometre boyunda, 30 nanometre enindedir (20,27,37). Hücre yüzeyi 40 nm kalınlığında glikokaliks ile kaplıdır. Biopsi örneklerinde bakterinin yüzey glikokaliksleri ve gastrik epitel mikrovillusları sıklıkla birbirine ipliksi köprüler ile bağlı veya bakteri ile epitel hücresi arası, duvarın tuğlalarını birbirine yapıştıran çimento gibi glikokaliksle doldurulmaktadır (27,37).

HP, kılıflı kamçıları ve spiral yapısı ile hızlı hareket yeteneğine sahiptir. Methylcellulose ile yaratılan visköz ortamda diğer hareketli bakteriler, örneğin E.Coli 20 cp'de (centipoise) hareket yeteneğini yitirirken HP 200 cp'de hala hareketlidir. Viskozite arttıkça bakterinin spiralliği artmaktadır (14,20,27,37).

Bakterinin hızlı hareket edebilme yeteneği, mukus tabakasının en kalın olduğu antral bölgeye hızla ulaşmasını ve epitel ile mukus tabakası arasına yerleşip mide asitinin zararlı etkisinden korunmasını sağlar (20,38). Bir çok HP suşunda tavşan parietal hücrelerinden asit sekresyonunu azaltan, ısıya duyarlı, pronase ile inhibe edilen, 12-14 kilodalton ağırlığındaki bir protein saptanmıştır. Bu protein bakterinin ilk alımında midede geçici hipokloridri yaparak bakterinin kolonizasyonu için uygun ortam yaratır (20). Antral bölgede kolonize olan HP gastrointestinal kanalın diğer kısımlarında ise gastrik metaplazi odaklarında

yerleşmektedir (5,7,10,11,17,20,27,38). Bu durum bakteriyal adhesinler ve gastrik epitel hücrelerinin reseptörleriyle ilgilidir. Bakterilerin en azından %20'si epitelyal hücrelere yapışıktır (5).

Mukus tabakası altına yerleşen bakteri burada salgıladığı bir çok enzim etkisi ile kolonizasyonunu sağlamaktadır. Bu enzimlerden en önemlisi olan üreaz enzimi ile çevresinde alkali bir ortam yaratarak mide asitinden korunmakta (14,20,27), katalaz enzimiyle de nötrofillerden salınan reaktif oksidan metabolitlerinin toksik etkisinden korunmaktadır (20).

HP'de saptanan diğer enzimler: oksidaz, proteaz, alkalin fosfataz, asit fosfataz ve glutamil transpeptidazdır. HP; esteraz, fosfohidrolaz, lösinarilamidaz enzimlerinin varlığına göre gruplandırılmaktadır (27,37).

Biyotipleri	Esteraz	Fosfohidrolaz	Lösinarilamidaz
Biyotip 1	+	+	+
Biyotip 2	-	+	+
Biyotip 3	-	-	+
Biyotip 4	-	-	-

Tablo 3: HP suşlarının biokimyasal sınıflanması (27).

Ancak bakterilerin %87'si biyotip 2 grubuna girdiğinden bu sınıflama HP suşlarına ayırmada yetersizdir (5,37). Bu nedenle moleküler teknikler kullanıma girmiştir. Bu yönde kullanılan ilk teknik "restriction endonülease DNA analysis" ve daha sonra geliştirilen PCR (Polimerase chain reaction) tekniğidir (5,39,40,41). Son teknikle Coux ve arkadaşları 38 HP suşu tanımlamışlardır. Ayırımında kullanılan diğer teknikler "pulse field gel electrophoresis" ve "multilocus enzyme electrophoresis"dir (5).

HP'nin yüzey proteinleri ve lipopolisakkaridleri (LPS) monosit ve makrofajları yüzey HLA-DR ve IL-2 reseptörleri aracılığıyla uyarır. HP yüzey protein ve LPS'leri türe ve suşa özgü bulunmaktadır (37).

HP'nin metabolizması çok iyi bilinmemektedir. Enerji temini için karbonhidratları kullanamaz; ancak aminoasit ve yağ asitlerini kreps siklüsünden geçirerek kullanabilir. Nükleer magnetik rezonans ile yapılan bir çalışmada, pentoz fosfat yolunun nonoksidatif fazı ve oksidatif enzimlerinin var olduğunu ortaya çıkartmıştır. Bizmut tuzları elektron akımında belirgin azalmaya neden olmaktadır. Bu durum, bizmut tuzlarının HP'ye karşı solunum zincirini bozarak etkili olabileceğini gösterir (37).

HELİCOBACTER PYLORİ İNFEKSİYONUN TANI YÖNTEMLERİ:

A-HİSTOLOJİ: Rutin olarak kullanılan hematoksilen eozin gibi basit boyama yöntemleri ile HP görülebilir. Bakteri olduğundan daha büyük görüldüğü için, Warthin-Starry gümüş boyası ile saptanması daha kolaydır. Giemsa boyası bakteriyi göstermede Warthin-Starry ile eş değerde bulunmuştur (9,14,42,43). Organizma gram negatiftir, gram boyama yoğun kolanizasyonun olduğu vakalarda hızla tanı koydurucu bir yöntemdir. Hassas fakat rutinde az kullanılan diğer histolojik boyama yöntemleri; acridine orrange ile fluoresam boyama, Hopps-Brown boyaması, faz-kontrast mikroskopisi, ethidium bromide, Gimenez, fluoresan antikorlarla immunohistolojik boyamadır (42).

HP antrumda yoğunlaşmakta ve genelde yamalı dağılım göstermektedir. Bu nedenler pilora en fazla 5 cm mesafedeki bölgeden en az 2 biopsi alınması, bakterinin büyük oranda saptamasını sağlar (42).

B-KÜLTÜRDE ÜRETİLMESİ: Endoskopik muayeneden önce alınan ilaçlar ve endoskopi esnasında kullanılan kimyasal ajanlar bakteri için toksik olabilir. Örneğin yüksek dozda kullanılan simetidin ve simetikon, endoskopun sterilizasyonunda kullanılan gluteraldehitte, orofarinks anesteziinde kullanılan benzokain inhibitör etki gösterir. Lidokainin böyle bir etkisi görülmemiştir (37).

Mide asitinin de bakteri üzerine öldürücü etkisi görülmekte ve mide suyu örneğinden bakteri üretilmemektedir (3). Buna karşın distile su ve serum fizyolojikte 7⁰C'de canlılığını günlerce sürdürmekte, oda sıcaklığında ise canlılığını hızla kaybetmektedir. Bu durum biopsi örneklerinin taşınmasında önemlidir. %20 glikoz kullanıldığında 4⁰C'de 5 saat süreyle canlılığını hiç yitirmez (14,37). Taşıma besi yeri olarak Thioglycolate buyyon, Nutrient buyyon, Brucella buyyon, Stuart's transport medium da kullanılmaktadır (37).

Besiyerine tam kan veya serum (%1-5) ilave edilmesi bakterinin üremesini kolaylaştırmaktadır (14,37,44). Zorunlu olmamakla birlikte besiyerine hem ilavesi, serbest oksijen radikallerinden bakterinin korunmasını sağlayarak çoğalmayı artırır. Tam kana göre serum ilavesi ile elde edilen çoğalmanın daha fazla olması, toksik yağ asitlerinin olumsuz etkisini gösterir. Besiyerine kalataz, yumurta sarısı emülsiyonu, peynir özü, %1 nişasta, %0.2 mangal kömürünün katılması da çoğalmayı artırır (37).

Bakterinin sıvı besiyerlerinde daha çabuk ve daha yoğun ürediği ileri sürülmektedir (45).

HP mikroaerofilik bir bakteridir. Maksimum üremesi için %2-8 arası, %5-10 arasında CO₂ konsantrasyonu gereklidir (14,37,38). HP'nin üre ilave

edilmiş sıvı besiyerinde atmosferik CO₂ yokluğunda üremeyi başarması, muhtemelen bakterinin güçlü üreaz aktivitesi ile üreden CO₂ elde etmesiyle sağlanmaktadır. HP beyin kalp infüzyon agarı ile hazırlanan %10 at serumu, %0.25 maya özü içeren besiyerinde sadece pH 6.6-8.4 arasında 33-40⁰C arasında üretilmektedir. 5 ile 10 mmol/L üre varlığında başlangıç pH 3.5 olan ortamda üremekte ve canlılığını pH 1.5-2'ye kadar koruyabilmektedir (37). Bakterinin ağızda, gaitada, uzanmış besiyeri ve oksijenle temas gibi uygunsuz ortamlarda canlı, fakat kültürü yapılamayan dormant kokkoidal forma döndüğü (5,37) ve standart kültürlerde üretilmediği bildirilmektedir (5,37,46).

Besiyerine HP'nin dirençli olduğu antibiotiklerin; vankomisin (3-6 mg/L), amfoterisin B (2-6 mg/L), trimetoprim (5-20 mg/L), nalidiksik asit (2 mg/dl), colistin (25000 U/L) veya sefsulodin (5 mg/L) katılmasıyla, HP'yi saf olarak üretme olasılığı artmaktadır (14,37,47).

İlk izalasyonda 5-7 gün içerisinde besiyeri yüzeyinde 1-2 mm çapında, transparan, düzgün yüzeyli ve kenarlı koloniler şeklinde üreyen, üreaz, oksidaz ve katalaz aktivitesi olan gram negatif bakteriler HP olarak tanımlanır (13,27,37,48).

Kültürde bakterinin üretilmesi, diğer testlerle karşılaştırmada temel yöntem (gold standart) olarak kabul edilir (10,38).

C-ÜREAZ TESTİ: Bakterinin en karakteristik özelliklerinden biri, aşırı miktarda ve aktivitesi yüksek üreaz enzimi yapabilmesidir. Mide mukozasını döşeyen mukus tabakası altına yerleşerek mide asitinin öldürücü etkisinden kaçan HP, salgıladığı üreaz enzimi etkisiyle aşırı miktarda üreyi parçalayarak

amonyak açığa çıkarır. Bu da bakteri etrafında lokal pH yükselmesi sağlayarak uygun bir ortam yaratır (14,20,27,42).

Yapılan DNA çalışmaları ile farklı 2 üreaz enzimi saptanmıştır (27,37,49). HP'nin diğer üreaz pozitif bakterilerden çok daha güçlü olan üreaz etkinliğinden yola çıkarak, mide biopsi örneklerinde bakterinin varlığını saptamak için çeşitli tanı yöntemleri geliştirilmiştir (13,14,27,38,42,44). CLO test "Campylobacter like test" fenol kırmızısı içeren üre eriyiğidir. Bakterinin üreyi parçalaması ile ortam alkalileşmekte, 15-20 dakikada sarı renkten vişne kırmızısı renge dönüşmektedir. CLO test hızlı, pratik, ucuz, duyarlılığı ve özgüllüğü yüksek bir tanı yöntemidir (13,14,38,42,44).

CLO test'in benzerinin pratik olarak bir ml %10 üre eriyiği içerisine 2 damla %1 fenol kırmızısı ilavesi ile yapılabileceği bildirilmiştir (13,14,50,51).

Christensen sıvı üre besiyeri (14,42,43) ve Stuart üreaz test besiyeri (14,42) bakterinin üreaz aktivitesini saptamada kullanılan diğer duyarlı yöntemlerdir.

D-SOLUNUM TESTLERİ: Bakterinin hızlı üreaz aktivitesinin dolaylı yolla ölçümüne dayanan, noninvaziv yöntemlerdir (14,42,43). C^{13} veya C^{14} işaretli üre oral yolla verilir, 20-30 dakika içerisinde solunumla atılan işaretli CO_2 düzeyi değerlendirilir. Solunumla atılan C^{14} miktarı ışınım sayıcı ile ölçülür. C^{13} ise radyoaktif olmadığı için solunum ile atılan miktar gaz izotop spektrometresi ile ölçülmektedir. Çocuklar ve hamilelerde güvenle kullanılmaktadır (10,11,42,52).

Solunum testleri, HP'nin varlığını ve antibakteriyal tedaviden sonra eradikasyonun sağlanıp sağlanmadığını göstermede üstündür. Fakat teknik ve ekonomik nedenlerle yaygın olarak kullanılmamaktadır.

Oral radyoaktif azot işaretli üre verildikten sonra idrarda atılan NH₄ düzeyinin ölçüldüğü, bakterinin üreaz aktivitesini dolaylı yoldan gösteren, noninvaziv bir yöntem daha tanımlanmıştır (48).

E-SEROLOJİ: HP ile oluşan kronik gastrit, lokal ve sistemik immün cevaba yol açar. Bakteriye karşı oluşmuş spesifik antikorların saptanması; noninvaziv, güvenilir, hızlı ve ucuz bir tanı yöntemidir (11,14,38,42,43,53,54).

Antikor pozitifliği; konağın bakteri ile karşılaşmasına, süreye, konağın yaşı ve immün durumuna bağlıdır. Spesifik antikorlar; aglutinasyon, kompleman fiksasyon ve ELİZA ile saptanabilir (3,14,42,43,54,55).

Daha önceleri C. jejuni antijenleri ile olan çapraz reaksiyon nedeni ile düşük olan hassasiyet, HP'ye özgü proteinlerin izolasyonu (10,42), üreazında antijenik olması ve buna karşı oluşmuş antikorların da saptanabilmesi nedeniyle testin duyarlılık ve özgüllüğü %98.7-%100'e yükselmiştir (42).

Tükürükte de antikorları saptamak mümkünse de teknik zorluklar ve kontamine olmamış sıvı toplamadaki güçlükler yaygın kullanımını engellemektedir (42).

Antikor titresini HP'nin varlığı ile orantılıdır, bakteri eradike edildikten sonra zamanla azalmakla beraber, ömür boyu da kalabilmektedir. Bu nedenle antibakteriyal tedaviden kısa süre sonra eradikasyonu serolojiyle değerlendirmek olası değildir (42).

TEST	DUYARLILIK (%)	ÖZGÜLLÜK (%)	ENDOSKOPIYE BAĞIMLILIK
Histoloji	93-99	95-99	+
Kültür	77-92	100	+
Üreaz	89-98	93-98	+
Solunum Testi	90-100	89-100	-
Seroloji	88-99	86-95	-

Tablo 4: HP infeksiyonunu saptama yöntemlerinin duyarlılık ve özgüllüklerinin karşılaştırılması (42).

HP infeksiyonu için ana risk faktörünü sosyoekonomik durum belirlemektedir. Gelişmekte olan ülkelerde çocukların çoğu on yaşından itibaren infekte olmakta, gelişmiş ülkelerde ise alt sosyoekonomik kesimde daha sık görülmektedir (5,8,10,11,19,56).

HP infeksiyonu ile sosyoekonomik ilişkinin en iyi gözlemlendiği ülkelerden biri Japonya'dır. İkinci Dünya Savaşı ve öncesinde doğarlarda HP sıklığı, Afrika ve Asya ülkelerindeki gibi fazla iken, savaştan sonra hızlı ekonomik ve sosyal gelişim ile, ilk dört dekadaki HP sıklığının Avrupa ve ABD seviyesine indiği görülmektedir (5).

HP sadece insan midesinde yaşama olasılığı olan bir bakteridir. Gastrointestinal kanalın diğer kısımlarında, ancak gastrik metaplazi zemininde yerleşebilir (5,7,15,17,20,27). Domuzların da HP için kaynak olabileceğini ileri süren yayınlar vardır (5,15).

Diğer canlıların da midelerinde Helicobacter cinsinden bakteriler görülmektedir (5,57). Fakat bu bakterilerin insanlarda hastalık yapmaları nadirdir. Kedi ve köpeklerde görülen daha önceleri Gastrospirillum hominis olarak adlandırılan Helicobacter heilmanii, ilk kez 1300 insan mide biopsisi

içeren bir seride 3 hastada bulunmuştur. Bu hastalar hayvanlarla yakın ilişkide olan kişilerdir (57).

KİTAVÜLKE	YAŞ GRUPLARI / HP İNFEKSİYONUN GÖRÜLME YÜZDESİ							
	<20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	71-80	<81
AVRUPA								
Avusturya*	18	22	37	47	60			
İngiltere*	6	19	19	16	40	49	49	41
Fransa*	16	25	26	33	37	33		
Polonya*	20	49	84	96	94	84	100	93
OKYANUSYA								
Avustralya*	10.5	0	12.5	7	30			
K.AMERİKA								
Amerika*	12	14	12	38	45	52	65	
ASYA								
Japonya*	11	25	40	78	70	80	80	75
	0-10	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	70<
S.Arabistan**	40	50	75	73	75	85	80	80
Tayland**	10	50	60	80	90	80	70	
Vietnam**	13.1	46.5	74	77.7	86	52	57	
AFRİKA								
Cezayir**	45	73	84	88	96	88		
Fildişi**	55	75	75	75	75	82	77	
Zaire**	79	73	81	82	87	66		
G:AMERİKA								
Peru**	40	71	70		75		95	

* IgG yapısındaki antikorlar ölçülerek

** IgG yapısındaki antikorlar ve üre solunum testi kullanılarak yapılmıştır

Tablo 5: Çeşitli ülkelerde yaş gruplarına göre HP infeksiyonunun görülme sıklığı (5)

HP infeksiyonu aile içi bireylerde yaygın görülmektedir (5,38). DNA çalışmaları ile aile fertlerinin aynı su tarafından infekte edildikleri anlaşılmıştır. Aile içi bulaşımında infeksiyonun anneden çocuğa geçtiği ileri sürülmektedir (5).

Bakterinin gaita ile atıldığı PCR çalışmaları ile gösterilmesine karşın gaita kültürlerinde üretme çalışmaları başarısızlıkla sonuçlanmaktadır. Bu durum gastrointestinal kanaldan geçerken uygun olmayan ortamlarda canlı, fakat kültürü yapılamayan kokkoidal forma geçtiği bu nedenle standart kültür ile üretilmediği şeklinde açıklanmaya çalışılmaktadır (5,37). HP safra tuzlarına hassastır (37,58). Bununla beraber %5 safra içeren sıvı besiyerinde bakterilerin ancak % 25'nin 30 dakikada canlılığını yitirmesi, ince bağırsağı geçebileceğini göstermektedir (37). Enfeksiyonun barsak kapsamında bulunan kokkoidal formlarla kirlenen sularla yayıldığı düşünülmektedir. Nitekim sosyoekonomik durum ve sanitasyonun kötü olduğu Peru'da, şehir şebeke suyu kullanan ailelerde HP infeksiyonu yüksek oranda saptanmıştır (5,59). Yapılan çalışmalar, bulaşımının fekal-oral ve oral-oral olabileceğini göstermektedir (5).

Enfeksiyonun beslenme şekilleriyle olan ilişkisi araştırılmış, ancak değişik beslenme alışkanlığı olan gruplar arasında fark bulunmamıştır (60).

Midelerinde HP varolan kişilerin, PCR ile dental plak örneklerinin tetkikinde %7 (12/170), az örnekli bir diğer çalışmada ise tükürükte % 47 (9/19) pozitiflik saptanmıştır. Endoskopistlerin büyük risk altında olduğu, tükürük ile yakın temasta olan diş hekimleri içinse böyle bir riskin olmadığı epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir (5). Restriction endonükleaz DNA analysisin

kullanıldığı bir çalışmada, endoskopi uygulanan hastaların temizleyici işlemlerin uygulanmasına rağmen, %1.1 oranında bulaşım riski taşıdığı saptanmıştır (5,61).

HP ile çeşitli üst gastrointestinal sistem hastalıkları arasındaki ilişki araştırılarak, en güçlü birliktelik B tipi (antral) gastritte %70-100 (3-6) ve duodenal ülserde % 60-100 (5,7-18) oranında görülmektedir. HP infeksiyonu bunların dışında mide ülseri (12,18) nonülser dispepsi (6,12) ve mide malignitelerinde (5,19) ise %30-70 oranında saptanmaktadır. HP ile infekte kişilerin %10 kadarında duodenal ülser geliştiği bildirilmektedir (17).

HP'nin peptik ülser hastalığındaki rolünü açıklamaya çalışan çeşitli hipotezler ileri sürülmektedir. Levi HP'nin antral gastrin salınımını arttırdığını ve hiperasidite sonucunda hasar oluştuğunu savunan "gastrin-link" tezini (11,20), Goodwin ise; HP'nin lokal mukozal defansı bozarak gastrointestinal hasara yol açtığını savunan "leaking roof" tezini öne sürmektedir (20).

"GASTRİN-LİNK" HİPOTEZİ

Levi ve arkadaşları ilk yayınlarında, duodenal ülserli ve antral HP infeksiyonu olan kişilerde, duodenal ülserli fakat HP infeksiyonu olmayan kişilere göre hem bazal hem de gıda alımıyla uyarılmış gastrin ve asit salınımında belirgin artış olduğunu gösterdiler. Enfeksiyonun eradikasyonu ile gıda ile uyarılmış gastrin salınımının normale döndüğünü ileri sürdüler (11,20).

HP infeksiyonunun eradikasyonu ile, bazal ve maksimum asit sekresyonuna etkisi olmaksızın, karakteristik olarak bazal ve gıda ile uyarılmış gastrin salınımı azalmaktadır. İlk bakışta HP infeksiyonunu eradikasyonuna rağmen, bazal ve maksimum asit salınımının normale dönmemesi şüphe

uyandırmaktadır. Fakat bu durum uzun süren hipergastrinemik uyarının kenar hücre kitlesini arttırmasına bağlanmakta ve gastrin seviyesinin normale gelmesi ile zamanla parietal hücre kitlesi ve asit salgılamında azalma beklenmektedir (20,62,63). Nitekim bu beklentiyi destekler şekilde eksojen gastrin ve GRP (gastrin-releasing peptide) verilerek yapılan bir çalışmada HP(+) grupta tedavi öncesi GRP'ye yanıt olarak 3 kat artmış bulunan asit salgılamı, eradikasyondan sonra normale inmiş, fakat eksojen gastrin verilerek elde edilen maksimum asit salgılamı ise tedavi öncesi ve sonrası değişmeden kalmıştır (64).

HP infeksiyonu gastrin-HCl asit dengesini sağlayan fizyolojik mekanizmaları bozabilir.

1-Üreaz aktivitesi ile oluşan amonyak, antral mukus tabakası altında lokal alkali pH oluşturur. Bu durumun mide asititesinin antral G hücrelerine yaptığı negatif feedback etkiyi engelleyerek hipergastrinemiye yol açabileceği iddia edilmekle birlikte (17,20), bunu desteklemeyen çalışmalar da vardır (65-67).

2- Antral bölgedeki inflamatuvar hücrelerden salınan mediatörler (IL-1 ve TNF vb.) hipergastrinemiye uyarabilir (17).

3- HP infeksiyonun parietal hücre fonksiyonlarını değiştirmesi sonucu sekonder olarak hipergastrinemi gelişebilmektedir (17,20,38). Yapılan bir çalışmada, HP suşlarının çoğunda 12-14 k.dalton ağırlığında, ısıya hassas, pronase ile inhibe olan, gastrik epitel hücrelerine toksik olmayan, tavşan parietal hücrelerinden asit salgılamını inhibe eden bir faktör salgılandığı saptanmıştır (20).

4- Antral G hücre kitlesinin HP varlığında arttığı belirtilmektedir (21). Fakat bunu desteklemeyen, HP eradikasyonundan sonra antral G ve D hücrelerinde sayısal değişiklik olmaksızın gastrin salınımında azalma saptayan ve bunu G hücre fonksiyonunu düzenleyen lokal faktörlerle ilişkili olduğunu (22), HP'nin antral somatostatin salınımını azaltarak hipergastrinemiye yol açtığını ileri süren (23) çalışmalar mevcuttur.

Hipergastrinemi ile artan asit sekresyonu, gastrinin parietal hücreler üzerine olan direkt sekretuvar ve trofik etkisiyle açıklanmaktadır (20).

Hipergastrineminin yanısıra bir çalışmada HP ile infekte çocukların mide mukozasında, histamin konsantrasyonu anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Bu durum iyi açıklanamamakla birlikte, histamin depolarının artmış mobilizasyonuna bağlanarak, hiperasititeyi oluşturmada rol oynayabileceği ileri sürülmüştür (20).

Ayrıca bir diğer çalışmada, tavşan midesinden pepsinojen salınımını arttıran, protein yapısında, ısıya dayanıklı, pronase ile inaktive edilen bir faktörün varlığından bahsedilmektedir (20). Bu görüşe uygun olarak HP infeksiyonu olan kişilerde serum pepsinojen düzeyleri yüksek bulunmuştur (63,68).

HP infeksiyonunun gastrin salınımını arttırarak hiperasitite yapması yanında (22,65,66,67,69,70,71,72), mide boşalmasını hızlandırarak duodenumun aşırı asit yüküyle karşılaşmasına neden olduğu gösterilmiştir (69).

“LEAKING ROOF” HİPOTEZİ :

Mide mukozasının asititeden ve diğer olumsuz etkenlerden korunmasını öncelikle mukus tabakası ve yüzey epitel hücreleri sağlar. Mukus tabakası ve

yüzey epitel hücrelerindeki bozulma, hidrojen iyonlarının geriye doğru diffüzyonuna yol açar. Bu durum mukoza ve submukozada erezyon ve ülserasyonla sonuçlanır (20). Midede HP ile oluşan bakteriyel infeksiyon iki ana mekanizmayla defansı bozabilir:

A-Bakteriyel toksinlerle,

B-Mukozal inflamasyonun etkileriyle (20).

A-BAKTERİYEL TOKSİNLER :

1- Sitotoksinler : HP kültürlerinin %50-60'nda birçok hücrede vakuolizasyona yol açan, 82-120 kd ağırlığında, ısıya ve proteazlara duyarlı proteinler saptanmıştır. Çok hareketli suşlarda bu toksik proteinler daha yüksek oranda bulunmaktadır (17,20).

2-Üreaz: Bakteriden salgılanan üreaz enzimi, hem direkt hem de ortaya çıkardığı amonyağın etkisiyle indirekt olarak mukozal direnci bozabilir (20,27). Üreaz enzimi inflamatuvar sitokin yapımı ve mononükleer fagosit aktivasyonu için güçlü bir uyarıcıdır (73).

3-Musinaz: Musinaz enzimi mukus tabakasını bozarak, hidrojen iyonlarının geri diffüzyonuna yol açar (3,20,27). Bu enzimin etkisiyle bakteriler mukozaya penetre olup, kendileri için gerekli olan besin maddelerini temin edebilirler (20,27,74).

4-Lipopolisakkarid: Bakterilerin salgıladığı lipopolisakkaridler, epitelyal bütünlüğü sağlayan ve ekstrasellüler matris proteini olan lamininin fonksiyonunu inhibe edebilirler.

5- Lipaz ve fosfolipaz A : Mukozal lipidler ve fosfolipidler gastrik mukus viskozitesinde önemli rol alırlar. Bakterinin lipaz ve fosfolipaz A enzimleri mukus viskozitesini değiştirerek defansı bozabilir.

6-Hemolizin: Sıvı besiyerlerinde üreyen bakteriler, eritrositlerde hemoliz yapan bir faktör salgılar. Bu gastrik mukozal engele olumsuz etki yapan sitotoksik bir enzimdir (20).

B- MUKOZAL İNFLAMASYON :

İnflamasyonun mukozal engelin bütünlüğünü bozduğu düşünülmektedir. Genel olarak HP'nin gastrik biopsilerde epiteli döşeyen mukus tabakası altına yerleştiği görülmektedir. Ancak bazı çalışmalarda, bir kaç bakterinin epitel hücreleri arasında, lamina propriada bulunabildiği gösterilmiştir (20,27,75).

HP ile infekte kişilerin gastrik mukozalarında lökotrien B₄ düzeyi yüksek bulunmuştur. Lökotrienler araşidonik asit metabolitleri olup, nötrofiller dahil bir çok hücrede sentez edilir. Gastrik mukozada sitotoksik ve kemotaktik özellik gösterir (20).

Cag A geni taşıyan HP suşlarının daha şiddetli enflamasyona yol açıp aşırı miktarda sitokin, özellikle IL-8 salınımını arttırdığı ve bununda gastrointestinal patogeneizde önemli rol oynadığı belirtilmektedir (76).

HP antijenlerinin lökosit göçünü inhibe ettiği, antral gastrik hücreler ile çarpaz reaksiyon veren antikor oluşumuna neden olduğu, böylece otoimmün cevabı tetiklediği gösterilmiştir. Aynı zamanda IgE tipinde antikorlar oluşup plazmada serbest halde dolanabilmekte, bazofil ve mast hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak histamin boşalmasına neden olabilmektedir (20).

Bakterinin gastrik prostaglandin seviyelerine olan etkileri tartışmalıdır (2,77). HP(+) DÜ'li hastalarda proksimal duodenumda bikarbonat sekresyonunun azaldığı, eradikasyon sonrasında ise normalleştiği fakat bu durumun histopatolojik değişikliklerle değil, reglatuvar mekanizmalardaki bozukluk sonucu oluştuğu belirtilmektedir (78).

RADIOASSAY

Assay kavramı, karışım halinde bulunan maddelerden birinin miktarını saptamak şeklinde açıklanabilir. Bir substansın miktarını saptayabilmek için kullanılan yöntemlerin bazıları da radioaktif maddelerden yararlanılarak gerçekleştirilmektedir. İşte bu yöntemler "radioassay" başlığı altında incelenebilir. Yöntemler genellikle immünolojik nitelikli reaksiyonlar içeren duyarlı yöntemlerdir.

1950'li yılların ilk dönemlerinde araştırmacılar biyolojik sıvılardaki maddelerin ölçümlerini yeterli duyarlılığa sahip olmayan, çok fazla örnek hacmi gerektiren ve çok değişken sonuç veren testler kullanarak yapıyorlardı. 1959 yılında Berson ve Yalow isimlerinde A.B.D'den iki araştırmacı, ilk defa yapay radyonüklidlerin kullanıldığı test yöntemini geliştirerek insülin ölçümünde kullanmışlardır.

Aynı yıllarda İngiltere'de de Ekins tiroid hormonlarının saptanması için yöntemler geliştirerek radioassay çalışmalarına katkıda bulunmuştur. İlk yıllarda klinik kullanım alanı oldukça kısıtlı olmakla birlikte 1970 sonrasında yapılan çalışmalar sonucunda daha iyi teknikler, daha saf antikorlar ve I-125 gibi iyi

özellikleri olan radyonüklidlerle işaretleme gibi gelişmeler sağlanmış ve böylece klinikte de geniş oranda rutin kullanım alanları ortaya çıkmıştır.

Radioassay yöntemlerinde tek dezavantaj olarak, biyolojik aktiviteyi değil immünolojik aktiviteyi ölçmesi gösterilirse de immünolojik ve biyolojik aktivite arasında direkt bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Günümüzde radioassay tekniği ile hormon, ilaç, enzim, vitamin, virüs, tümör izleyiciler ve diğer maddeler kolaylıkla, doğru olarak saptanmaktadır.

RADİOASSAYIN TEMEL KOMPONENTLERİ:

1. “Ligand” ya da “analyte” olarak da bilinen ölçülmek istenen madde
2. Kontrol altında beklenen davranışı göstererek ölçülebilir şekilde liganda bağlanan “binder (bağlayıcı)” veya “material”.
3. Ya ligand ya da bağlayıcıya tutturulmuş saptanabilir tracer (iz bırakıcı)
4. Ligand ve bağlayıcı reaksiyonunun oluşması için uygun inkübasyon periodu
5. Serbest işaretlenmiş ligandan bağlı işaretlenmiş ligandı ayıran bir metod
6. Bağlı fraksiyondaki traceri (bazı durumlarda serbest olanı) ölçen duyarlı dedektör
7. Bilinmeyen konsantrasyonları hesaplayan ve standart eğri çizen etkili bir bilgi düzeltici sistem.

Radioassay’ın ilk komponenti, ligand olarak bilinen, kontrol altında beklenen şekilde bir başka madde (bağlayıcı) ile bağlanabilen ölçülmek istenen

uygun biyolojik maddedir. Mutlak gerekli değilse de saf kimyasal formda varolabilen ligandlar arzu edilir. Bu biyolojik bir salgı, örneğin hormon olabilir. Radioassay sistemi saf standartlara göre kalibre edildiğinden, kullanılan kit içerisinde ölçülmek istenen ligandın bir başka kimyasal veya bioassay sistemi ile ölçülebilen eşdeğer standart veya referans materyali olmalıdır.

Radioassay'ın ikinci komponenti, yüksek affinite ile bir diğer maddeye bağlanan bağlayıcı ajandır (binder). Bağlayıcılar doğal olarak varolan proteinler olabilmekle birlikte, sıklıkla antikorlar kullanılmaktadır. Tiroksin ölçümünde "tiroksin bağlayıcı globülin", vitamin B₁₂ ölçümü için "intrinsek faktör" bağlayıcı olarak kullanılabilen proteinlere örnek olarak verilebilir.

Radioassaylerde bağlayıcı olarak belirli antijene karşı oluşturulmuş antikor kullanıldığında radioimmünassay (RIA), doğal proteinler (örneğin intrinsek faktör) kullanıldığında competitive protein binding assays (CPBA) , reseptörler kullanıldığında (örneğin insan koryonik gonadotropin hormon ölçümü için sıgır korpus luteası) radioreceptor assay (RRA) , aynı molekülün farklı antijenik determinantlarına karşı oluşturulmuş iki antikorun bağlayıcı olarak kullanıldığı durumda ise immunoradiometric assay (IRMA) olarak isimlendirilir.

Tipik RIA ölçülmek istenen ligand için genellikle IgG yapısında olan belli miktarda özgül antikor kullanır. Hybridoma teknolojisinin keşfi yüksek oranda özgül ve büyük miktarlarda monoklonal antikorların üretilmesine izin vermiştir. Monoklonal antikor preparatları aşağıdaki avantajları sağlamışlardır.

1. Bioassay tetkiklerinde olduğu gibi kullanım öncesi taze olarak hazırlama zorunluluğu yoktur
2. Dağıtım kolaylığı ve uzun period boyunca kullanım olanağı sağlar.
3. Yüksek özgülük ve düşük çarpaz reaksiyon nedeniyle önceden örnek saflaştırılması gerekliliğinin olmaması nedeniyle kullanışlıdır.

Radioassay'de üçüncü komponent radyoaktif işaretlenmiş antijen (ligand) veya antikordur (binder). Radioligand assay'ler reaksiyonu gözlemlemek için tracer olarak radyoisotop kullanırlar. Ligand veya bağlayıcı radiotracer ile işaretlenebilirse de çoğu sistem ligandı işaretler. Iodine-125 ve tritium RIA sistemlerde en sık kullanılan iki radyoisotopdur. Cobalt-57' de başarıyla kullanılmaktadır.

Bazı organik ligandların ve biolojik moleküllerin (polipeptitler, steroidler, ilaçlar ve vitaminler) ölçümünde radyoaktif iyot liganda kolayca bağlanamamaktadır. Genel olarak organik maddeler tirozin aminoasiti içeren protein ile birleştirilerek I^{125} ile iyodinize edilebilir. Protein konjugasyonu imkansızsa veya pratik değilse ya H^3 yada C^{14} radiotracer olarak organik molekülün yapısı içine ilave edilebilir.

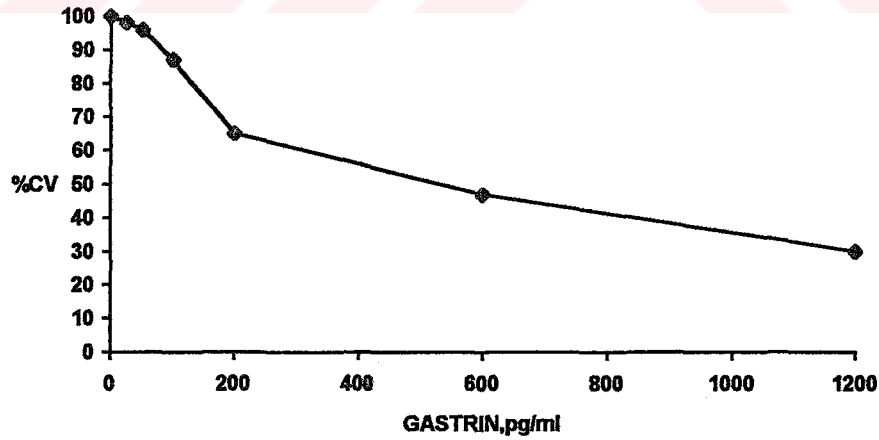
Radioassay'de diğer önemli bir komponent ayırma mekanizmasıdır. Radioassayler heterojendir; reaksiyonun oluştuğu ortamda sonuçta bağlı ve serbest işaretli ligandlar, bağlı ve serbest işaretsiz ligandlar bulunmaktadır. Ölçüm veya sayım öncesinde bağlı fraksiyonu serbest olandan ayırmak gereklidir. Çeşitli ayırma yöntemleri mevcuttur. Bunlardan çift antikor presipitasyon ve solid faz bağlayıcı sistem en yaygın olarak kullanılanlardır.

İyi bir radioassay sisteminde önemli olan komponentlerden biride duyarlı dedektördür. Işınım sayıcı temel olarak kimyasal reaksiyona bağlı olarak oluşan ışık reaksiyonunu kayıt eden bir alettir. Bu kimyasal reaksiyonlar radyoaktivitenin varlığında oluşur. Işınım sayıcılar çeşitlidir, saptanacak olan kimyasal reaksiyon ve ışınım tipine göre seçilir. Eğer gamma ışınım ölçülüyorsa salınan ışık enerjisi ve iyonizan ışınımı tutmak için solid (thallium-activated) sodium iodide crystal kullanılır. Merkezinde boşluk bulunan kristal sıklıkla önerilir. Laboratuvarların çoğunda tek gözlü kuyu tipi sayıcıların yerini, bir kerede çok sayıda tüpün aynı anda ölçümüne izin veren çok gözlü (5-20) kuyu tipi gamma sayıcılar almıştır, böylece sistemin etkinliği artar. Eğer beta ışınım sayılıyorsa sıvı ışınım sayıcı yüksek sayım etkinliğiyle kullanılabilir.

Günümüzde kullanılan radioassaylerin çoğu competitive binding assay (bağlanmada yarışan ölçüm) lerdir. Herbiri özgül bağlayıcı (binder) ve işaretlenmiş ligandın eş konsantrasyonunu içeren tüp serileri aynı anda hazırlanır. Bilinen standart ligand preparatları ve bilinmeyen örnekler her bir tüpe konur. Uygun bir inkübasyon periodundan sonra bağlayıcıya bağlanmış ligandlar, serbest ligandlardan önerilen seperasyon metodu ile ayrılır. Bağlı ligand içeren sonuç tüpleri kuyu tipi ışınım sayıcısında ölçülür. Bu sistemde bağlanma noktası ve bağlayıcı miktarı sınırlıdır. Bu nedenle işaretli ve işaretli olmayan ligandlar inkübasyon periyodu boyunca sınırlı miktarda bulunan bağlanma noktaları için yarışmak zorundadır. Biyolojik örnekteki araştırılan ligand konsantrasyonu artarsa, bağlayıcı ile bağlı olan işaretli ligand fraksiyonu azalır.

Radioassayde önemli bir komponentte elde edilen ölçümlerin analizidir. Günümüzde temel olarak üç farklı metod vardır.

1. Birinci ve basit metod standart referans ile hastadan elde edilen sayımı kalitatif olarak karşılaştırmaktır. Örneğin human chorionic gonadotropin için hasta örneğinden elde edilen bağlı sayım, referans standartla karşılaştırıldığında hasta örneğinin sayımı yüksek veya alçak olmasına göre sonuç pozitif veya negatif olarak belirtilir.
2. Semikantitatif ikinci metodta hasta örneğinin bağlı sayımı referans standart bağlı sayımı ile bölünür. Hasta sonuçları referans standarta karşı gelen sayım oranını temel alarak hesaplanır. Bu oran metodu (ratio metod) halihazırda T_3 uptake testi ile kullanılır.
3. İlk iki metodta sadece bir standart veya referans değeri kullanılır ve standart konsantrasyon eğrisinin çizilmesine gerek yoktur. Bundan dolayı tam bilgi edinilmesi elde edilmesi olanaksızdır. Üçüncü tip analizde bilinen standartlardan elde edilen sayım sonucu standart eğri çizimi yapılır. Bu çizilmiş standart eğriden hasta ligand konsantrasyonu çok kesin değerde hesaplanır (79) (grafik 1).



Grafik 1: Gastrin kalibratörlerinden elde edilen standart eğri çizimi (79)

MATERYAL VE METOD:

Nisan 1996 - Ocak 1997 tarihleri arasında, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Endoskopi Laboratuvarı'nda özofagogastroduodenoskopi yapılarak aktif duodenal ülser saptanan, son 10 gün içerisinde antibiyotik kullanmayan, gastrointestinal sistem ameliyatı geçirmemiş, akut ülser oluşturabilecek glukokortikosteroid ve analjezik v.b. alımı olmayan 40 olgu çalışmaya alındı.

Endoskopi öncesi antiülser ilaç kullanan hastalarda H₂ reseptör blokerleri bir gün, antiasitler en azından 6 saat öncesinden kesildi. Hastaların HP'yi inhibe edebilecek simethikon ve simetidin kullanılmalarına dikkat edildi (37). Boğaz anesteziinde %1'lik pantokain kullanıldı, ilacın yutulmamasına dikkat edildi.

Endoskopik muayeneler Olympus Type GIF Q10 ile yapıldı. Endoskoplar bir gün önce en az 12 saat ve her muayene arasında en az 15 dakika %3'lük gluteraldehit ile dezenfekte edildi. Kullanımdan önce biopsi kanalı steril distile su ile yıkandı. Biopsi forsepsi de aynı şekilde dezenfekte edilip distile su ile durulandı, asılıp kurumaya bırakıldı.

Endoskopi esnasında aktif duodenal ülser saptanan hastalarda HP infeksiyonu, pilora en çok 3 cm uzaklıktan alınan iki antral biopside (42), Gram yöntemi ile boyayarak direkt bakı ve hızlı üreaz testi ile araştırıldı. Bu iki testin özgüllük ve duyarlılıkları bölümümüzce daha önce yapılan bir çalışmada Gram yöntemi ile boyayarak direkt bakı için sırasıyla %96 ve %86, hızlı üreaz testi içinse %91 ve %100 bulunmuştu (51). Serum fizyolojik içerisine alınan iki adet antral biopsi örneği cam bagetle ezilip homojenize edildikten sonra, yaklaşık

yarısı iki lam arasında ezilerek yayıldı. Kuruduktan sonra üç kez alevden geçirilerek fikse edildi, Gram yöntemi ile boyandı. Kıvrık, spiral şeklinde Gram negatif boya alan bakteri kümeleri saptanması durumunda HP pozitif kabul edildi (51). Homojenize edilen iki antral biopsi örneğinin diğer yarısı bir ml %10 üre eriği içerisine 2 damla %1 fenol kırmızısı ilavesi ile yapılan hızlı üreaz solüsyonu içerisine atıldı. Başlangıçta sarı olan solüsyon renginin, biopsi örneğinin ortama katılması ile 5 dk içerisinde vişne kırmızısı rengine dönmesi halinde hızlı üreaz aktivitesi pozitif olarak değerlendirildi (13,14,50,51). Her iki testinde pozitif olması durumunda HP infeksiyonunun var olduğu kabul edildi.

Gastrin ölçümü için olgulardan 12 saatlik açlık periyodu ve gıda alımından yarım saat sonra olmak üzere iki kez kan örneği alındı. Standart yemek olarak bir bardak et suyu, iki haşlanmış yumurta ve üzerine yağ sürülmüş bir dilim ekmek kullanıldı (72). Serumlar en kısa sürede ayrılarak ölçüm yapılana kadar -20 °C'lik derin dondurucuda saklandı (70,71).

Gastrin ölçümü için Diagnostik Products Corporation tarafından üretilen I¹²⁵ Gastrin Double Antibody RIA kiti kullanıldı. Kit içeriği ve üretici firma tarafından önerildiği şekilde uygulanan prosedür şu şekildedir:

1-Gastrin antiserumu: İnsan gastrinine karşı tavşanlardan elde edilmiş liyofilize gastrin antiserumudur. Kullanım öncesi 10 ml. distile su ile çözüldü.

2-I¹²⁵ Gastrin: Liyofilize formda iyot-125 ile işaretli sentetik insan gastrinidir. Kullanım öncesi 10 ml. distile su ile çözüldü.

3-Gastrin kalibratörleri: A-G arası işaretlenmiş herbiri belirli miktarda liyofilize insan gastrini içeren 7 adet kalibratördür (A:0 pg/ml, B:25 pg/ml, C:50

pg/ml, D:100 pg/ml, E:200 pg/ml, F:600 pg/ml, G:1200 pg/ml gastrin içermekte). Her biri önerilen miktarda distile su ile çözüldü.

4-Presipite edici solüsyon: Tavşanlardan elde edilen gastrin antiserumuna karşı, keçilerden elde edilen gamma globulindir (goat anti-rabbit gamma globulin [GARGG]).

Birinci basamak: Presipite edici serum dışındaki kit içerikleri ve -20 °C'de saklanan ölçüm yapılacak serum örnekleri oda ısısına (15-28 °C) ulaşıp çözünene kadar bekletildi. Kalibrasyon amacıyla 9 çift tüp T (total counts), NSB (nonspecific binding), A (maximum binding) ve B-G arası harflerle işaretlenerek, hasta serumlarında ölçüm yapmak için kullanılacak tüplerde rakamlarla işaretlenerek sıralandı.

İkinci basamak: Her hasta serumundan 200 µL alınarak her bir hasta için işaretlenmiş olan ölçüm tüplerine konuldu. Sıfır kalibratör A'dan 200 µL NSB ve A tüpüne, geri kalan kalibratörlerin her birinden 200 µL'de karşı gelen B-G arası işaretlenmiş tüplere konuldu.

Üçüncü basamak: 100 µL I¹²⁵ Gastrin tüm tüplere konuldu, hafifçe ve kısa süreli olarak çalkalandı.

Dördüncü basamak: 100 µL gastrin antiserumu NSB ve T tüpü dışında tüm tüplere konuldu.

Beşinci basamak: İki saat oda ısısında (15-28 °C) inkübe edildi.

Altıncı basamak: İyi karıştırılmış 1 ml. soğuk presipite edici solüsyon tüm tüplere konuldu ve vortexte karıştırıldı.

Yedinci basamak: 30 dakika 1500xg devrindeki santrifüjde çevrildi.

Sekizinci basamak: Tüplerdeki supernatant döküldü, tüpler kurutma kağıdı üzerine ters çevrilerek 10 dakika bırakıldı.

Dokuzuncu basamak: Her bir tüpdeki presipitat gamma ışınım sayıcıda bir dakika tutularak ölçüldü. Kalibrasyon tüplerinden elde edilen ölçümlerle standart eğri çizildi ve hasta serum örneklerindeki gastrin düzeyi otomatik olarak elde edildi. Sistemin saptayabileceği minimal dozun 4.5 pg/ml, üst sınırın 1200 pg/ml olduğu ve gastrin hormonlarının tümünü (total gastrin) ölçtüğü belirtilmektedir.

HP infeksiyonu saptanmayan 10 olgu dışında kalan 30 olgu rastlantısal olarak iki gruba ayrıldı. Birinci gruba klaritromisin 3 x 500 mg/gün/10 gün + omeprazol 40 mg/gün/28 gün, ikinci gruba amoksisilin 4 x 500 mg/gün/10 gün + omeprazol 40 mg/gün/28 gün oral verildi (80). Antibiyoterapi bittikten en az iki ay sonra endoskopiler tekrarlanarak ülser iyileşmesi, bakteriyal eradikasyon ve açlık-tokluk gastrin seviyeleri aynı yöntemler kullanılarak araştırıldı.

Çalışmada elde edilen bulgular Stadwin paket programında değerlendirildi. Gruplardaki olguların açlık ve tokluk gastrin ortalama değerleri ve standart sapmaları hesaplandı. Student t testi, Mann-Whitney U testi, Fisher kesin ki kare testi kullanılarak sonuçlar yorumlandı.

AŞAMA	T	KALİBRASYON TÜPLERİ (*)										HASTA TÜPLERİ		
		NSB	A	B	C	D	E	F	G	HASTA 1	HASTA 2			
1		200 µl A kalibratörü ilave edildi	200 µl A kalibratörü ilave edildi	200 µl B kalibratörü ilave edildi	200 µl C kalibratörü ilave edildi	200 µl D kalibratörü ilave edildi	200 µl E kalibratörü ilave edildi	200 µl F kalibratörü ilave edildi	200 µl G kalibratörü ilave edildi	200 µl hasta serumu konuldu	200 µl hasta serumu konuldu			
2		I ¹²⁵ işaretli gastrinden (**) 100'er µl tüm tüplere konularak hafifçe çalkalandı												
3	-	-	Gastrin antiserumundan (***)100'er µl NSB ve T tüpü dışındaki tüm tüpler konuldu											
4		2 saat oda ısısında (15-28 °C) inkübe edildi												
5		Soğuk presipite edici solüsyon (****) iyice karıştırılarak 1'er ml. tüm tüplere konuldu ve vortexle karıştırıldı.												
6		Tüm tüpler 1500xg'lik santrifüjde 30 dakika süreyle çevrildi.												
7		Supernatantlar döktüldü, tüplerin dibinde presipitatlar kaldı. Tüm tüpler kurutma kağıdı üzerinde ters çevrilerek 10 dk. bırakıldı												
8		Her bir tüp için 1 dk sayım yapıldı. Sayım için Gamma Counter-Gambyr-CR cihazı kullanıldı. Standart tüplerden elde doz-yant eğrisinden yararlanılarak hasta örneklerindeki gastrin düzeyleri otomatik olarak elde edildi.												

(*) Kalibrasyon tüpleri: T:toplam sayım, NSB:non-spesifik bağlanma, A kalibratörü:0 pg gastrin/ml, B kalibratörü:25 pg gastrin/ml, C kalibratörü:50 pg gastrin/ml, D kalibratörü:100 pg gastrin/ml, E kalibratörü:200 pg gastrin/ml, F kalibratörü:600 pg gastrin/ml, G :1200 pg gastrin/ml.

(**) I¹²⁵ işaretli gastrin: Liyofilize formda, iyot-125 ile işaretli sentetik insan gastrinidir. Kullanım öncesi 10 ml. distile su ile çözüldü.

(***) Gastrin antiserumu: İnsan gastrinine karşı tavaşanlardan elde edilmiş liyofilize gastrin antiserumudur. Kullanım öncesi 10 ml. distile su ile çözüldü.

(****) Presipite edici solüsyon: Tavşanlardan elde edilen gastrin antiserumuna karşı, keçilerden elde edilen gamma globulindir (goat anti-rabbit gamma globulin [GARGG]).

Tablo 6: Kullanılan I¹²⁵ Gastrin Double Antibody RIA kitinin prosedürü

BULGULAR:

Çalışmaya alınan 40 DÜ'li hastanın 8'i kadın, 32'si erkek, genel yaş ortalaması 42 ± 11 , kadınlar için 40 ± 7 , erkekler için 43 ± 12 saptandı.

Ölçülen serum gastrin düzeyleri ortalama \pm standart sapma pg/ml (minimum, median , maksimum) olarak aşağıdaki gibidir:

HP(-) DÜ'li hastalarda açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri sırasıyla 76 ± 65.12 pg/ml (min:20, med: 52.5, max: 184.3) ve 206.42 ± 183.08 pg/ml (min:74.4, med:126, max:646.5) bulundu.

HP(+) DÜ'li hastalarda tedavi öncesi açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri sırasıyla 80.45 ± 52.26 pg/ml (min:20, med:50.8, max:193.4) ve 291.71 ± 250.69 pg/ml (min:78.6, med:177.5, max:1046) iken, tedavi sonrası sırasıyla 49.71 ± 34.86 pg/ml (min:20, med: 39.3, max:181.5) ve 161.20 ± 96.56 pg/ml (min:70.5, med:125.8, max:433.6) olarak bulundu (Tablo 7).

	Tedavi Öncesi		Tedavi Sonrası	
	Aç	Tok	Aç	Tok
HP(-) DÜ	76 ± 65.12 (min:20, med:52.5 max:184.3)	206.42 ± 183.08 (min:74.4, med:126 max:646.5)	-	-
HP(+) DÜ	80.45 ± 52.26 (min:20, med:50.8, max:193.4)	291.71 ± 250.69 (min:178.6, med:177.5, max:1046)	49.71 ± 34.86 (min:20, med:39.3, max:181.5)	161.20 ± 96.56 (min:70.5, med:125.8 max:184.3)

Tablo 7: HP(-) ve HP(+) DÜ'li olgularda serum gastrin düzeyleri. Değerler ortalama \pm standart deviasyon pg/ml (minimum, median, maksimum) olarak verilmiştir.

Tedavi öncesi HP(+) DÜ'li olguların açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri HP(-) DÜ'li olgulara göre yüksek olmakla birlikte aradaki fark

istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (açlık serum gastrin düzeyleri için $p=0.3568$, tokluk serum gastrin düzeyleri için $p=0.1693$; Mann-Whitney U testi).

Tedavi sonrası HP(+) DÜ'li olguların açlık ve tokluk serum gastrin düzeylerinin her ikisinde de, tedavi öncesine göre belirgin azalma saptandı (açlık serum gastrin düzeyleri için $p=0.0001$, tokluk serum gastrin düzeyleri için $p=0.0001$; student t testi).

HP(+) DÜ'li hastalara verilen tedavi bittikten en azından iki ay sonra yapılan kontrol endoskopisinde hiçbir olguda aktif DÜ saptanmadı. Antral biyopsi örneğinde hızlı üreaz ve Gram yöntemiyle boyayarak direkt bakı yönteminin her ikisinde negatif olmasıyla saptanan eradikasyon oranı klaritromisin + omeprazol tedavisinde %67 (10/15), amoksisilin + omeprazol tedavisinde ise %73 (11/15) bulundu. Her iki tedavinin bakteriyal eradikasyon başarısı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p=1$, Fisher kesin ki kare testi).

Tablo 8: Klaritromisin+omeprazol tedavisi gören HP(+) DÜ'li olgularda tedavi öncesi ve tedaviden 2 ay sonraki bakteri varlığı, açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri.

NO	ADI SOYADI YAŞI, CİNS.	TED.	1.ENDOSKOPI PROT.NO	HP	GASTRİN DÜZEYİ(pg/ml)		2.ENDOSKOPI PROT.NO	HP	GASTRİN DÜZEYİ (pg/ml)	
					AÇ	TOK			AÇ	TOK
					1	S.Y., 41, E			K+O	229
2	R.Ç., 40, E	K+O	257	+	76.84	453.09	472	-	38	103.30
3	S.Ç., 25, E	K+O	268	+	39.52	398.23	407	-	25.38	107
4	S.G., 40, K	K+O	272	+	28.91	90.26	486	-	24.07	74.30
5	N.E., 36, K	K+O	273	+	49.93	94.21	442	-	20.09	91.68
6	M.K., 40, E	K+O	279	+	102.15	178.12	410	+	89.78	165.80
7	İ.A., 45, E	K+O	287	+	42.77	815.26	506	+	42.24	384.07
8	M.Y., 38, E	K+O	291	+	142.10	398.23	471	-	51.19	125.70
9	H.S., 39, K	K+O	293	+	41.97	166.77	508	-	42.83	121.43
10	R.E., 36, E	K+O	314	+	76.84	140.96	469	-	38.31	135.39
11	O.İ.E, 39, E	K+O	315	+	20	150.87	451	+	50.31	189.73
12	G.B., 35, E	K+O	340	+	36.14	301.60	489	-	34.81	166.70
13	H.B., 36, E	K+O	345	+	43.71	78.62	488	+	31.29	96.10
14	M.Ş., 42, E	K+O	397	+	44.29	111.26	551	+	49.90	181.74
15	K.B., 37, E	K+O	425	+	74.94	253.09	574	-	57.57	190.01

E:erkek, K:kadın, TED.:verilen tedavi, K+O: klaritromisin+omeprazol, HP(+): Helicobacter pylori infeksiyonu var, HP(-):Helicobacter pylori infeksiyonu yok (hızlı üreaz ve Gram boyama)

Tablo 9: Amoksisilin+omeprazol tedavisi gören HP(+) DÜ'li olgularda tedavi öncesi ve tedaviden 2 ay sonraki bakteri varlığı, açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri.

NO	ADI SOYADI YAŞI, CİNS.	TED.	1.ENDOSKOPI PROT.NO	HP	GASTRİN DÜZEYİ (pg/ml)		2.ENDOSKOPI PROT.NO	HP	GASTRİN DÜZEYİ(pg/ml)	
					AÇ	TOK			AÇ	TOK
1	S.D., 48, E	A+O	281	+	120.14	475.88	439	-	51.80	230
2	A.U., 32, E	A+O	334	+	36.90	107.30	507	-	27.38	70.52
3	A.A., 43, E	A+O	427	+	170.65	433.62	556	-	68	125.78
4	İ.T., 40, E	A+O	428	+	89.78	186.88	553	-	20	165.89
5	N.Ö., 55, K	A+O	441	+	44.76	176.90	560	+	22.54	93.89
6	G.G., 39, K	A+O	444	+	69.89	232.08	558	-	36.80	115.70
7	Ö.S., 40, E	A+O	452	+	43.63	160.02	557	-	25.72	110.70
8	Ş.D., 42, E	A+O	457	+	49.66	162.07	567	+	39	142
9	H.Y., 68, E	A+O	459	+	152.37	1046.01	538	-	41.90	392.92
10	H.K., 40, E	A+O	468	+	155.79	164.06	555	-	115.58	125.85
11	Y.N., 46, E	A+O	491	+	51.57	93.80	559	-	20	72.73
12	R.K., 44, E	A+O	493	+	193.44	350.44	550	-	181.46	306.19
13	A.K, 38, E	A+O	512	+	36.87	133.68	548	+	51.50	125.76
14	B.B., 47, E	A+O	514	+	189	401.76	554	-	39	113.02
15	Ü.B., 42, K	A+O	515	+	142.11	920.35	575	+	115.60	433.62

E:erkek, K:kadın, TED: verilen tedavi, A+O: amoksisilin+omeprazol, HP(+): Helicobacter pylori infeksiyonu var, HP(-): Helicobacter pylori infeksiyonu yok (hızlı üreaz ve Gram boyama)

Tablo 10: HP(-) DÜ'li olguların gastrin düzeyleri ve diğer klinik bilgiler.

NO	ADI SOYADI YAŞI, CİNS.	TED.	I.ENDOSKOPI PROT.NO	HP	GASTRİN DÜZEYİ (pg/ml)	
					AÇ	TOK
1	C.Y., 39, E	YOK	187	-	36.93	108.1
2	H.B., 40, E	YOK	210	-	68	173.52
3	A.I., 75, E	YOK	224	-	20	74.36
4	A.B., 24, E	YOK	250	-	25.39	90.26
5	A.H., 40, E	YOK	270	-	25.60	107.33
6	S.E., 46, E	YOK	320	-	20	110.79
7	M.A., 83, E	YOK	321	-	143.25	198.28
8	Y.G., 43, E	YOK	462	-	170.34	646.5
9	R.A., 36, K	YOK	465	-	68.31	141.25
10	Ş.T., 29, K	YOK	470	-	184.31	413.9

E:erkek, K:kadın, TED.:verilen tedavi, HP(-):Helicobacter pylori infeksiyonu yok (hızlı üreaz ve Gram boyama)

TARTIŞMA

Gastrointestinal sistemde en sık duodenum başlangıcında görülen peptik ülser hastalığının etyopatogenezi henüz tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Ülser gelişiminde asit-peptik aktivitenin önemi 1910 yılında Schwarz tarafından 'no acid no ulcer' şeklinde belirtilmiştir (25). Mide lümeninde bulunan asit ve pepsin sekresyonundan sağlıklı kişilerin mukus ve mukoza tabakası etkilenmediği halde, ülserli kişilerde hasar oluşmasına yol açan ilave etkenlerin neler olduğu günümüzde de araştırılmaktadır. Son yıllarda DÜ oluşumunda asit-peptik aktivitenin yanısıra, *Helicobacter pylori* (HP) infeksiyonu (3-19) ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaçların kullanımının da önemli olduğu kabul edilmektedir (1,2).

Bakterinin izolasyon ve kültürünün yapıldığı 1982 yılından beri (36) çeşitli üst gastrointestinal sistem hastalıklarında HP'nin varlığı, yol açtığı patofizyolojik değişiklikler ve çeşitli antibakteriyal tedaviler geniş olarak araştırılmaktadır. Bir çok çalışmada enfeksiyonun kronik antral gastrit (3-6) ve DÜ'in en önemli etkeni olduğu (7-18), ayrıca mide ülseri (12,18), mide kanseri ve lenfomasında (5,19,81) rol oynadığı belirtilmektedir. Hatta MALT (mucosa associated lymphoid tissue) lenfomada erken evrede sadece antibakteriyal tedavinin yeterli olduğu ileri sürülmektedir (81).

HP infeksiyonu, asemptomatik ve makroskopik olarak üst gastrointestinal sistem patolojisi olmayan olgularda da, sosyoekonomik seviye ve yaşla ilişkili olarak %10 ile % 90 arasında değişen oranlarda görülmektedir (5,8, 10,11,19,56). Ancak HP ile infekte antral gastriti olan olguların yaklaşık

%10'nunda duodenal ülser geliştiği Tytgat ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (17). Bu durum diğer etkenlerle birlikte bazı HP suşlarının şiddetli gastrit ve duodenal ülserle neden olduğu ileri sürülerek açıklanmaya çalışılmaktadır. HP ile infekte DÜ'li olgularda, epitel hücrelerinde vakualizasyon oluşturan sitotoksin (Vac A) ve bu sitotoksin ile ilgili antijeni (Cag A) üreten iki gene sahip suşlar izole edilmektedir (23). HP eradikasyonun duodenal ülserde bir yılda % 70'in üzerinde görülen nüks oranını % 0-12'ye düşürmesi enfeksiyonun önemini göstermektedir (7,10,17,38,82).

HP enfeksiyonu endoskopik biyopsilerde kültür, hızlı üreaz ve histoloji ile invaziv; üre solunum testi ve seroloji ile noninvaziv olarak araştırılmaktadır. Kültür en duyarlı olmakla birlikte pahalı ve çok zaman isteyen, seroloji ise eradikasyonu değerlendirmede yetersiz olan yöntemlerdir. Üre solunum testi ise teknik nedenlerle kolay uygulanamamaktadır (42).

Kliniğimizde DÜ'li olguların antral biyopsi örneklerinde kültür yapılarak HP enfeksiyonu araştırılan bir çalışmada %77 oranında pozitiflik saptanmıştır (51). Literatürde DÜ'li olgularda HP'nin % 60-100 oranında görüldüğü bildirilmektedir (7-18). Duodenal ülserli olgularda HP sıklığı, yurdumuzda çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda; İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi'nde Uzunismail ve arkadaşları tarafından %100 (18), Uludağ Ü.Tıp Fakültesi'nde Helvacı ve arkadaşları tarafından % 78.2 (13), Dicle Ü.Tıp Fakültesi'nde Ayaz ve arkadaşları tarafından % 84.2 (8), Turhanoğlu ve arkadaşları tarafından % 80 (16) oranında belirtilmektedir. %78.2-100 arasında değişen pozitiflik oranları tanı yöntemlerinin çeşitliliği ve bölgesel farklılıklar ile açıklanabilir.

Bu çalışmada endoskopik olarak DÜ'li olgularda çabuk sonuç vermesi, ekonomik olması, yüksek duyarlılık ve özgüllükleri nedeniyle, Gram ile boyayarak direkt bakı ve hızlı üreaz yöntemleriyle HP infeksiyonu araştırıldı (51). HP(-) 10 DÜ'li olgunun açlık ve tokluk gastrin düzeyleri, HP(+) 30 DÜ'li olgunun açlık ve tokluk gastrin düzeyleriyle karşılaştırıldı. Ayrıca farklı iki tedavi şemasının eradikasyon oranları ve eradikasyonun serum gastrin seviyelerini etkileyip etkilemediği incelendi.

HP(-) 10 DÜ'li olguda açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri sırasıyla 76 ± 65.12 pg/ml ve 206.42 ± 183.08 pg/ml olarak sağlıklı kişiler için açlıkta belirlenen sınırlar içinde bulundu.

HP(+) 30 DÜ'li hastalarda tedavi öncesi açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri sırasıyla 80.45 ± 52.26 pg/ml ve 291.71 ± 250.69 pg/ml olarak bulundu. Bu olgularda hem açlık hem de tokluk gastrin seviyeleri, HP(-) DÜ'lilere göre yüksek bulunmakla birlikte istatistiksel olarak anlamlı değildi (açlık serum gastrin düzeyleri için $p=0.3568$, tokluk serum gastrin düzeyleri için $p=0.1693$; Mann-Whitney U testi).

HP(+) DÜ'li olgularda tedavi öncesi açlık ve tokluk gastrin düzeyleri sırasıyla 80.45 ± 52.26 pg/ml ve 291.71 ± 250.69 pg/ml iken, tedavi sonrası 49.71 ± 34.86 pg/ml ve 161.20 ± 96.56 pg/ml olarak bulundu. Bakteriyal eradikasyondan sonra açlık ve tokluk gastrin seviyelerinde tedavi öncesine göre belirgin bir azalma saptandı. Gastrin seviyelerindeki azalma istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0.0001$, student t testi).

HP infeksiyonunun varlığında hipergastrinemi, hiperpepsinojenemi ve kronik inflamasyon, B tipi (antral) gastrit ve peptik ülser gelişiminde ana rolü oynamaktadır (17,38,63). Bakterinin hipergastrinemiye yol açarak DÜ etyapotogenezinde rol aldığı ilk kez Levi ve arkadaşlarınca ileri sürülmüştür. (11,20).

Bakterinin çeşitli mekanizmalarla hipergastrinemiye yol açabileceği belirtilmektedir: HP infeksiyonu gastrin-HCl asit dengesini sağlayan fizyolojik mekanizmaları bozabilir. Üreaz aktivitesi ile oluşan amonyak, antral mukus tabakası altında lokal alkali pH oluşturularak mide asiditesinin antral G hücrelerine yaptığı negatif feedback etkiyi engelleyebileceği iddia edilmektedir (17,20).

Antral bölgedeki inflamatuvar hücrelerden salınan mediatörler (IL-1 ve TNF vb.) hipergastrinemiye uyarabilir (17).

HP infeksiyonun parietal hücre fonksiyonların değiştirmesi sonucu, sekonder olarak hipergastrinemi gelişebilmektedir (17,20,38).

Antral G hücre kitlesinin HP varlığında arttığı belirtilmektedir (21). Fakat bunu desteklemeyen, HP eradikasyonundan sonra antral G ve D hücrelerinde sayısal değişiklik olmaksızın gastrin salınımında azalma saptayan ve bunu G hücre fonksiyonunu düzenleyen lokal faktörlerle ilişkili olduğunu (22), HP'nin antral somatostatin salınımını azaltarak hipergastrinemiye yolaçtığını ileri süren (23) çalışmalar da mevcuttur.

Hipergastrinemi ile artan asit sekresyonu, gastrinin parietal hücreler üzerine olan direkt sekretuar ve trofik etkisiyle açıklanmaktadır (20).

Çoğu çalışmada DÜ'li olguların midelerinin hızla boşaldığı gösterilmiştir. Bu durum duodenumdaki asit nötralizasyon kapasitesinin aşılmasına neden olabilmektedir (31,24). Bulbus duodeni hiperasiditesinin, kronik duodenit ve gastrik metaplazi gelişiminde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir. Kronik duodenit ile ülser gelişimi arasında da yakın bir ilişki olduğu belirtilmektedir (17).

HP sadece gastrik epitel hücrelerin var olduğu ortamlarda yaşayabilir, Duodenumda gelişen gastrik metaplazi odaklarına yerleşerek, kronik inflamasyonla mukozal direnci bozulmasına neden olur. Böylece asit-peptik etki ile zayıflamış mukozada eroziv duodenit ve ülser gelişebilir (11,17).

HP tedavisinde henüz ideal bir tedavi şeması tanımlanamamıştır. Vankomisin, trimetoprim, nalidiksik asid, colistin ve sefsulodin'e karşı doğal direnci olduğu (14,37,47), bunların dışında kalan antibiyotiklerin çoğuna karşı duyarlı olduğu belirtilmektedir (80,83). Fakat in vivo çalışmalarda beklenen başarı elde edilememektedir. Bakterinin mukus tabakasının derinliklerine yerleşmesi, mukus tabakasının lümen ve epitel tarafındaki pH farklılıkları nedeniyle antibiyotiklerin etkin konsantrasyona ulaşamamaları ve mide boşalması ile ilaçların mide mukus tabakasındaki konsantrasyonlarının hızla düşmesi bunda etkindir. Ayrıca geri kalmış ülkelerde antibiyotiklerin yaygın kullanımı direnç gelişimine yol açmaktadır (80). Bu nedenle her ülkenin kendi tedavi şemasını çıkarması uygun olacaktır.

Tedavide monoterapinin etkinliğinin olmadığı, en azından ikili kombinasyonun kullanılması gerekli olduğu belirtilmektedir. İlaç sayısı arttıkça hastanın tedaviye uyumu zorlaşmakta ve yan etkiler artmaktadır (80).

HP infeksiyonunu tedavisinde monoterapi şeklinde 14 gün süresince 4x500 mg/gün amoksisilin verildiğinde %15, 3x500 mg/gün klaritromisin verildiğinde ise %40-60 oranında eradikasyon elde edildiği belirtilmektedir. Tedaviye omeprazol eklendiğinde amoksisilin tedavisinin başarı oranı %60-70'lere, klaritromisin tedavisinin ise %80'lerin üstüne çıktığı görülmüştür (58). Bu nedenle günümüzde hemen hemen tüm tedavi şemalarında omeprazole yer verilmektedir. Omeprazolün; mide asiditesini çok azaltarak fizyolojik ortamı bozması (7), antibiyotiklerin midedeki konsantrasyonunu arttırması, antibiyotiklerin asitten zarar görmelerini engellemesi (17,58) ve aynı zamanda ilacın kendisinin de antimikrobik özelliği (17) ile eradikasyon oranını arttırdığı belirtilmektedir.

Çalışmamızda HP(+) 15 DÜ'li olguda uygulanan klaritromisin+omeprazol tedavisinde eradikasyon oranı %67 (10/15), HP(+) 15 DÜ'li diğer gruba uygulanan amoksisilin+omeprazol tedavisinde ise %73 (11/15) bulundu. Her iki tedavinin bakteriyal eradikasyon başarıları karşılaştırıldığında istatikselsel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (p=1, Fisher kesin ki kare testi). Oysa çalışmaların çoğunda klaritromisin+omeprazol tedavisinde daha yüksek eradikasyon oranları elde edildiği belirtilmektedir (58,80). Bu durum, tedaviden kısa süre sonra infeksiyonun devam edip etmediği araştırılarak supresyon-eradikasyon kavramlarının karıştırılmasından kaynaklanmaktadır. Günümüzde

eradikasyonun antibakteriyal tedavi bittikten iki hatta üç ay sonra en azından iki farklı yöntemle araştırılarak bakterinin saptanmaması durumunda sağlandığı kabul edilmektedir (80).

Epidemiyolojik çalışmalar, HP infeksiyonu sıklığının sosyoekonomik etkenlere bağlı olduğunu göstermektedir (5,8,10,11,19,56). Gelişmiş ülkelerdeki duodenal ülserli olgularda, bakterial eradikasyondan sonra reenfeksiyonun %1 oranında geliştiği bildirilmektedir (17). Ülkemizde yapılan epidemiyolojik çalışmalar sonucu elde edilen veriler HP prevalansının gelişmekte olan diğer ülkelerdeki gibi yüksek olduğunu göstermektedir (84). Reenfeksiyon olasılığının da fazla olacağı göz önüne alınca antibakteriyal tedavinin duodenal ülser tedavisinde ülkemiz şartlarında sağlayacağı yararlar tartışmalıdır.

İzleyen çalışmalarda HP'nin farklı suşlarının saptanması ve mide fizyolojisinde meydana getirdiği değişikliklerin araştırılması değişik üst sindirim sistemi hastalıklarının seyrinin yanısıra, tedavi yöntemlerini belirlemede de yardımcı olacaktır.

ÖZET:

Günümüzde duodenal ülser 'DÜ' etyopatogenezinde asit-peptik aktivitenin yanısıra sorumlu olabilecek çeşitli etkenler, bunlar arasında da bazı infeksiyöz ajanlar belirtilmektedir. Bu infeksiyöz ajanların başında ilk kez 1982 yılında kültürü yapılabilen *Helicobacter pylori* 'HP' gelmektedir.

HP infeksiyonu dünyanın çeşitli bölgelerinde ileri yaş ve alt sosyoekonomik düzeyde daha sık görülmektedir. Son yıllarda özellikle B tipi gastrit ve DÜ'e neden olduğu, ayrıca nonülser dispepsi ve mide kanserinin oluşmasında da rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Bakterinin DÜ hastalığı ve diğer üst sindirim sistemi hastalıklarıyla birlikteliği ve etyopatogeneze katkısı araştırılmaya devam edilmektedir. Çalışmamızda endoskopik olarak DÜ saptanan olgularda HP infeksiyonu, HP pozitif ve negatif olgularda açlık ve tokluk gastrin seviyeleri, HP infeksiyonu tedavisinde iki farklı tedavinin etkinliği, tedavi sonrası bakteriyal eradikasyonun gastrin seviyelerini ne şekilde etkilediği araştırılarak bakteri-DÜ ilişkisi incelenmek istendi. HP enfeksiyonu antral biyopsi örneklerinde hızlı üreaz ve Gram yöntemi ile boyayarak direkt bakı ile araştırıldı, her iki testinde pozitif olması durumunda enfeksiyonun var olduğu kabul edildi. Gastrin düzeyleri RIA (radyoimmün assay) ile ölçüldü.

Tedavi öncesi HP(+) DÜ'li olguların açlık ve tokluk serum gastrin düzeyleri HP(-) DÜ'li olgulara göre yüksek olmakla birlikte aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı

HP(+) DÜ'li 30 olgu rastlantısal olarak iki gruba ayrıldı. Birinci gruba klaritromisin 3x500mg/gün/10gün + omeprazol40mg/gün/28gün, ikinci gruba amoksisilin 4x500mg/gün/10gün + omeprazol 40mg/gün/28gün oral verildi. Antibiyoterapi bittikten iki ay sonra endoskopiler tekrarlanarak ülser iyileşmesi, bakteriyal eradikasyon ve açlık-tokluk gastrin seviyeleri aynı yöntemler kullanılarak araştırıldı.

HP(+) DÜ'li hastalara tedavi sonrası yapılan kontrol endoskopisinde hiçbir olguda aktif DÜ saptanmadı. Antral biyopsi örneğinde hızlı üreaz ve Gram yöntemiyle boyayarak direkt bakı yönteminin her ikisinde negatif olmasıyla saptanan eradikasyon oranı klaritromisin+omeprazol tedavisinde %67 (10/15), amoksisilin+omeprazol tedavisinde ise %73 (11/15) bulundu. Her iki tedavinin bakteriyal eradikasyon başarısı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tedavi sonrası HP(+) DÜ'li olguların açlık ve tokluk serum gastrin düzeylerinin her ikisinde de, tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı belirgin azalma saptandı.

Sonuç olarak; tedavi sonrası HP(+) DÜ'li olguların açlık ve tokluk serum gastrin düzeylerinin her ikisinde de tedavi öncesine göre belirgin azalma saptanması, bakterinin duodenal ülser oluşumuna hipergastrinemiye yol açarak katkıda bulunduğu kanaatine varıldı. Bakterinin olası diğer etkilerinin de araştırılması gereklidir.

KAYNAKLAR :

- 1-Hawkey CJ, Rampton SD: Prostaglandins and the Gastrointestinal Mucosa: are They Important in Its Function. Disease or Treatment ? Gastroenterology 1985; 98: 1162-88.
- 2-Taha AS, Russell RI: H.pylori and Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs, Uncomfortable Partners in Peptic Ulcer Disease. Gut 1993; 34: 580-583.
- 3-Barthel SJ, Westblom UT: Sağlığı Yerinde Aseptomatik Gönüllülerde Gastrit ve Campylobacter pylori. Gelişim Jama 1989; 2: 13-17.
- 4-Dixon MF, Wyatt LJ, Burke AD, et al: Lymphocytic Gastritis Relationship to C. pylori Inf. J. of Path. 1988; 154:125-132.
- 5-Megraud F: Epidemiology of H.pylori Infection. Gastroenterology Clinics of North America 1993; 22: 73-87.
- 6-Talley NJ: The Role of H. pylori in Nonulcer Dyspepsia. Gastroenterology Clinics of North America 1993; 22: 461-465.
- 7-Altın M: Helicobacter pylori ve Peptik Ülser Hastalığındaki Rolü. Klimik dergisi 1992; 1: 3-5
- 8-Ayaz C, Gül K, Helvacı H; Yenice N: Yukarı Sindirim Sistemi Endoskopilerinde Helicobacter pylori Prevalansı. Klimik Dergisi 1992; 1: 22-23.
- 9-Buck EG, Gourley KW, Lee KW, et al: Relation Campylobacter Pyloridis to Gastritis and Peptic Ulcer. The Journal of Inf. Diseases 1986; 153: 664-669.
- 10-Drumm B: Helicobacter pylori, Regular Review. Archives of Disease in Childhood 1990; 65: 1278-1282.
- 11-Drumm B: Helicobacter pylori in the Pediatric Patients. Gastro. Cli. of North America 1993; 22-169-181.
- 12-Greenberg ER, Bank S: Nonülser dispepsilerde H. pylori Prevalansı. Gelişim Jama 1992; 4: 468-470.
- 13-Helvacı S, Gülten M, Yerci Ö, ve ark: Gastroduodenal Patolojilerde Helicobacter pylori insidansı ve Farklı Tanı Yöntemlerinin Karşılaştırılması. Türk Mikrobioloji Cemiyeti Dergisi 1992; 22: 6-9.
- 14-Kocabeyoęlu Ö: Helicobacter pylori İnfeksiyonlarının Epidemiyolojisi, Patogenezi ve Laboratuvar Tanısı. Klimik Dergisi 1992; 1: 11-14.

- 15-Rosberg K, Hubinette R, Nygart G, et al: Studies of *Helicobacter pylori* in a Gastric Mucosa in Vitro animal Model. *Scand J. Gastroenterology* 1991; 26; 43-48.
- 16-Turhanoglu M, Goral V, Arıkan E, ve ark: Çeşitli Üst Gastrointestinal Sistem Hastalıklarında *Helicobacter pylori* Sıklığı. *Klimik Dergisi* 1992; 1: 19-21.
- 17-Tytgat G: *H.pylori* Infection and Duodenal Ulcer Disease. *Gastroenterology Clinics of North America* 1993; 22: 127-139.
- 18-Uzunismail H, Bal K, Tuncer M, ve ark: Gastrit, Duodenit ve Peptik Ülserli Vakalarımızda *Helicobacter pylori* Sıklığı. *Endoskopi Dergisi* 1991; 3: 26-36.
- 19-Parsonnet J, Blaser JM, Perez-Perez GI: Symptoms and Risk Factors of *Helicobacter pylori* Inf. in a Cohort of Epidemiologist. *Gastroenterology* 1992; 102: 41-46.
- 20-Dunn EB: Pathojenic Mechanism of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America* 1993; 22:43-57.
- 21-Sankey EA, Helliwell A, Dhillon AP: Immunostaining of Antral Gastrin Cells is Quantitatively Increased in *H.pylori* Gastritis. *Histopathology* 1990; 16: 151-155.
- 22-Graham DY, Lew GM, Lechago J: Antral G-Cell and D-Cell Numbers in *Helicobacter pylori* Infection: Effect of *H.pylori* Eradication. *Gastroenterology* 1993; 104: 1655-1660.
- 23-Gören A: *Helicobacter pylori* infeksiyonunun asit, gastrin, pepsinojen ve somatostatin ile ilişkisi, Ali Özden (ed): *İşte Helicobacter pylori*, 1'nci baskı, Ankara, Nurol Matbaacılık A.Ş., 1995; 33-45.
- 24-Mertz HR: Peptic Ulcer Pathophysiology. *Medical Clinics of North America* 1991; 75: 799-813.
- 25-Lam SK, Hui WM, Ching CK: Peptic ulcer disease, epidemiology, pathogenesis, and etiology, In Haubric WS, Schaffner F, Berk JE (eds): *Bockus Gastroenterology*, 5'th edition, Philadelphia, W.B.Saunders Company, 1995;(1),p:700-748
- 26-Goodwin CS: *Helicobacter pylori* : 10th Anniversary of it's Culture in April 1982. *Gutt* 1993; 34: 293-294.
- 27-Arığ-Küçük M, Özmutlu Ö: *Helicobacter pylori*'nin Morfolojik , Biyokimyasal ve Kültür Özellikleri. *Klimik Dergisi* 1992; 1: 6-10.

- 28-Katz J: The Course of Peptic Ulcer Disease. *Medical Clinics of North America* 1991; 75-4: 831-839.
- 29-Albillos A, Alvarez-Mon M: Different HC1 and Pepsinogen I Secretion Patterns in Anatomically Defined Gastric Ulcer Subsets. *The American Journal of Gastroenterology* 1990; 5: 535-538.
- 30-Lonroth H, Rosengren E, Lundell L: The Role The Antrum and the Vagus Nerve in the Metabolism of Histamine in the Human Gastric Mucosa. *Scand J. Gastroenterology*. 1991; 26: 827-838.
- 31-McColl KEL, El-Nuhumi AM, Chittajallu RS, et al: A Study of the Pathogenesis of H pylori Negative Chronic Duodenal Ulceration. *Gut* 1993; 34: 762-768.
- 32-Peptic ulceration, In Shearman DJC, Finlayson NDC, Carter DC (eds): *Disease of the Gastrointestinal Tract and Liver*, 2th edition, Beccles and London, William Clowes Lmt., 1989, p:205-207.
- 33-Reduced Saliva Secretion Smokers Linked to Peptic Ulcer Disease. *Gastroenterology Forum* 1987; 8.
- 34-Konturek JS, Radecki T, Brzozowski T, et al: Gastric Cytoprotection by Epidermal Growth Factor. *Gastroenterology* 1981; 81: 438-443.
- 35-Dooley PC: Background and Historical Considerations of Helicobacter pylori. *Gastroenterology Clin. of North America* 1993; 22: 1-4.
- 36-Warren JR, Marshall B: Unidentified Curved Bacilli on Gastric Epithelium in Active Gastritis. *Lancet* 1983; 1273-1275.
- 37-Goodwin CS: Microbiology of H. pylori. *Gastroenterology Clinics of North America* 1993; 22: 5-19.
- 38-Clearfield RH: Helicobacter pylori: Aggressor or Innocent Bystander? *Med. Clin. of North Ame.* 1991; 75: 815-829.
- 39-Clayton LC, Kleanthous H, Coates JP, et al: Sensitive Detection of Helicobacter pylori by Using Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clin. Mic.* 1992; 30: 192-200.
- 40-Focall AP, Hu TL, Mobley LTH: Use of Polymerase Chain Reaction-Amplified Helicobacter pylori Urease Structural Genes for Differentiation of Isolates. *Journal of Clinic Microbiology* 1992; 30: 739-741.

- 41-Hammar M, Tyszkiewicz T, Wadström T, et al: Rapid Detection of *Helicobacter pylori* in Gastric Biopsy Material by Polymerase Chain Reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 3045-3058.
- 42-Brown EK, Peura AD: Diagnosis of *Helicobacter pylori* Infection. *Gastroenterology Clinics of North America* 1993; 22: 106-115.
- 43-Karabiber N: *H.pylori* İnfeksiyonu Tanı Yöntemleri. *Klinik Dergisi* 1992; 1: 11-15.
- 44-Coudron EP, Kirby FD: Comparison of Rapid Urease Test, Staining Techniques, and Growth on Different Solid Media for Detection of *C. pylori*. *J. of Clin. Mic* 1989; 27: 1527-1530.
- 45-Shahamat M, Mai UEH, Paszko-Kolva C, et al: Evaluation of Liquid Media for Growth of *H.pylori*. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29: 2835-2837.
- 46-Krajden S, Fuksa M, Anderson J, et al: Examination of Human Stomach Biopsies, Saliva, and Dental Plaque for *Campylobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology* 1989; 27: 1397-1398.
- 47-Tee W, Fairley S, Smallwood R, et al: Comparative Evaluation of Three Selective Media and a Nonselective Medium for the Culture of *H. pylori* from Gastric Biopsies. *Journal of Clinical Microbiology* 1991; 29:2587-2589.
- 48-Jicong W, Gualong L, Zhenhua Z, et al: NH_4 Excretion Test: a New Method for Detection *H. pylori* Infection. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 30: 181-184.
- 49-Hawtin PR, Stacey AR, Newel DG: Investigation of the Structure and Localization of the Urease of *Helicobacter pylori* Using Monoclonal Antibodies. *Journal of General Microbiology* 1990; 136: 1995-2000.
- 50-Thillainayagam A.V., Arvind A.S., Cook R.S., et al: Diagnostic efficiency of an ultrarapid endoscopy room test for *Helicobacter pylori*. *Gut* 1991;32, 467-469.
- 51-Özdemir S., Dökmeci G., Özyılmaz F., ve ark.;Duodenal Ülserlilerde *Helikobakter Piloni* Sıklığı ve Pratik Tanı Yöntemleri. *Türk J Gastroenterohepatol* 1995;6:258-261.
- 52-Meyer R, Gustavsson S: C Urea Breath Test for Diagnosis of Experimental *H. pylori* Infection in Barrier Born Pigs. *Gut* 1993; 34: 594-598.

53-Schaber E, Umlaugt F, Stöffler G, et al: Indirect Immunofluorescence Test and ELIZA for Detection of *Campylobacter pylori*. *Journal of Clinical Microbiology* 1989; 27: 327-330.

54-Taha AS, Reid J, Boothman P, et al: Serological Diagnosis of *H.pylori*-Evaluation of Four Test in the Presence or Absence of Non-steroidal Antiinflammatory Drugs. *Gut* 1993; 34:461-465.

55-Westblom TU, Madan E, Gudipati S, et al: Diagnosis of *H.pylori* Infection in Adult and Pediatric Patients by Using Pyloriset a Rapid Latex Agglutination Test. *Journal of Clinical Microbiology* 1992; 30: 96-98.

56-Malaty MH, Evans GD, Evans JD, et al: *Helicobacter pylori* in Hispanics Comparison with Blacks and White of Similar Age and Socioeconomic Class. *Gastroenterology* 1992; 103: 813-816.

57-Lee A, O'Rourke J: Gastric Bacteria Other Than *H.pylori*. *Gast. Clin. of North Ame.* 1993; 22: 21-39.

58-Marshall JB: Treatment Strategies for *H.pylori*. *Gast. Clin. of North America* 1993; 22: 183-197.

59-Hulten K, Han SW, Enroth H, et al: *Helicobacter pylori* in the Drinking Water in Peru. *Gastroenterology* 1996; 110: 1031-1035.

60-Hopkins JR: Seroprevalance of *Helicobacter pylori* in Seventh-Day Adventist and Other Groups in Maryland. *Arch. Internal Medicina* 1990; 150: 2347-2348.

61-Langenberg W, Rauws JAE, Oudbier HJ, et al: Patient-to-patient Transmission of *C.pylori* Infection by Fiberoptic Gastroduodenoskopi and Biopsi. *The Journal of Infection Disease* 1990; 161: 507-511.

62-Moss FS, Calam J: Acid Secretion and Sensitivity to Gastrin in Patients with Dodenal Ulcer: Effect or Eredication of *Helicobacter pylori*. *Gut* 1993; 34: 888-892.

63-Mossi S, Meyer-Wyss B, Renner LE, et al: Influence of *H.pylori*, Sex, and Age on Serum Gastrin and Pepsinojen Concentration in Subjects Wihthout Symptoms and Patients with Duodenal Ulcer. *Gut* 1993; 34: 752-756.

64-El-Omar EM, Penman ID, Ardill JES, et al: *Helicobacter pylori* Infection and Abnormalities of Acid Secretion in Patients With Duodenal Ulcer Disease. *Gastroenterology* 1995; 109:681-691.

65-Chittajallu RS, Neithercules WD, Ardill ES, et al: Helicobacter pylori-Related Hypergastrinaemia Is Not Due to Elevated Antral Surface pH. Scand J Gastroenterol. 1992; 27: 218-222.

66-Chittajallu RS, Neithercut WD, Macdonald AMI, McColl KEL: Effect of increasing Helicobacter pylori ammonia production by urea infusion on plasma gastrin concentrations. Gut;1991;32,21-24.

67-Chittajallu RS, Dorrian CA, Neithercut WD, et al: Is Helicobacter pylori associated hypergastrinaemia due to the bacterium's urease activity or the antral gastritis? Gut; 1991: 32, 1286-1290.

68-Asaka M, Kimurata T, Kudo M; et al: Relationship of Helicobacter pylori to Serum Pepsinogens in an Asymptomatic Japanese Population. Gastroenterology 1992; 102: 760-766.

69-Hamlet A, Olbe L: The Influence of Helicobacter pylori Infection on Postprandial Duodenal Acid Load and Duodenal Bulb pH in Humans. Gastroenterology 1996; 111: 391-400.

70-McColl KEL, Fullarton GM, Chittajalu R, et al: Plasma Gastrin, Daytime Intragastric pH, and Nocturnal Acid Output before and at 1 and 7 Months after Eradication of Helicobacter pylori in Duodenal Ulcer Subjects. Scand J Gastroenterol. 1991; 26: 339-346.

71-Graham DY, Opekun A, Lew GM, et al: Ablation of Exaggerated Meal-Stimulated Gastrin Release in Duodenal Ulcer Patients after Clearance of Helicobacter (Campylobacter) pylori Infection. The American Journal of Gastroenterology 1990; No.4, vol.85, p: 394-398.

72-Dobrucalı A, Tuncer M, Bal K, ve ark: Helikobakter Piloni Enfeksiyonu ve Hipergastrinemi. Gastroenteroloji 1994; 53: 399-403.

73-Harris PR, Mobley HLT, Perez GI, et al: Helicobacter pylori urease Is a Potent Stimulus of Mononuclear Phagocyte Activation and Inflammatory Cytokine Production. Gastroenterology 1996; 111: 419-425.

74-Hills BA: Gastric Mucosal Barrier: Evidence for Helicobacter pylori Ingesting Gastric Surfactant and Deriving Protection from it. Gut 1993; 34: 588-593.

75-Evans GD, Evans JD, Graham DY: Adherence and Internalization of Helicobacter pylori by HEP-2 Cells. Gastroenterology 1992; 102: 1557-1567.

76-Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, et al: Helicobacter pylori cagA Gene and Expression of Cytokine Messenger RNA in Gastric Mucosa. Gastroenterology 1996; 110: 1744-1752.

- 77-Hudson N, Balsitis M, Filipowics F, Hawkey CJ: Effect of H.pylori Colonisation on Gastric Mucosal Eicosanoid Synthesis in Patients Taking Nonsteroidal Antiinflamatuvar Drugs. Gut 1993; 35: 748-751.
- 78-Hogan DL, Raper RC, Dreilinger A, et al: Duodenal Bicarbonate Secretion: Eradication of Helicobacter pylori and Duodenal Structure and Function in Humans. Gastroenterolgy 1996; 110:705-716.
- 79-Blend MJ, Quadri SF: Principles and Applications of Radioassays, In Henkin RE, Boles MA, Dillehay CL, et al (eds): Nuclear Medicine, St.Louis, Morby-Year Book Inc.; 1996; vol(1),37:472-484.
- 80-Dökmeci G: Helicobacter pylori tedavisinde kullanılan ilaçlar, Ali Özden (ed): İşte Helicobacter pylori, 1'nci baskı, Ankara, Nurol Matbaacılık A.Ş., 1995; 114-126.
- 81-Uzunalimoğlu B.:Mide lenfoma ve karsinomu patogenezinde Helicobacter pylori, Ali Özden (ed): İşte Helicobacter pylori, 1'nci baskı, Ankara, Nurol Matbaacılık A.Ş., 1995; 106-113
- 82-Sloane R, Cohen H, et al: Commensense Management of Helicobacter pylori-Associated Gastrointestinal Disease. Gastroenterology Clinics of North America 1993; 22:199-204.
- 83-Aktaş O, Ayyıldız A.Yılmaz A: Mide Biopsi Örneklerinden İzole Edilen Helicobacter pylori Suşlarının Çeşitli Antimikrobiklere Duyarlılıkları. Klimik Dergisi 1992; 1: 24-26.
- 84-Özden A: Helicobacter pylori epidemiyolojisi, Ali Özden (ed): İşte Helicobacter pylori, 1'nci baskı, Ankara, Nurol Matbaacılık A.Ş., 1995; 18-26.