

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**HELİKOBAKTER PYLORİ İLE ENFEKTE MİDE
MUKOZASINDA ERADİKASYON ÖNCESİ VE SONRASINDA
TELOMER UZUNLUĞU VE TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Rahmi ASLAN**

SAMSUN – 2012

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI

**HELİKOBAKTER PYLORİ İLE ENFEKTE MİDE
MUKOZASINDA ERADİKASYON ÖNCESİ VE SONRASINDA
TELOMER UZUNLUĞU VE TELOMERAZ AKTİVİTESİNİN
İNCELENMESİ**

**YAN DAL UZMANLIK TEZİ
Dr. Rahmi ASLAN**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ahmet BEKTAŞ**

SAMSUN – 2012

TEŞEKKÜR

Destek ve sevgilerini benden asla esirgemeyen annem, babam ve kardeşime,
Her zaman yanımda olan hayat arkadaşım çok değerli eşime,
Varlığı ile hayatıma güneş gibi doğan, her sıkıntıyı bir gülüşü ile geride bıraktıran
canım oğluma sonsuz teşekkür ve minnettarlığımı sunarım.

Uzmanlık ve yan dal uzmanlık eğitimim boyunca üzerimde büyük emekleri olan çok
kıymetli hocalarım sayın Prof. Dr. Ahmet Bektaş ve Prof. Dr. Tülay Bakır'a, kısa süre
eğitim alma fırsatı bulduğum, değerli tecrübelerini benden esirgemeyen sayın Doç.
Dr. Beytullah Yıldırım ve Yrd. Doç Dr. İbrahim Gören'e sonsuz teşekkür ve
minnettarlığımı sunarım.

Hem uzmanlık hem de yan dal uzmanlık eğitimim boyunca bana kardeş olan Uzm.
Dr. Özgür Ecemiş'e sonsuz teşekkür ve minnettarlığımı sunarım.

Tezin laboratuvarında çalışılmasında katkıları bulunan Biyokimya ABD öğretim üyeleri
Prof. Dr. Abdülkerim Bedir, Yrd. Doç. Dr. Hasan Alaçam'a, doku örneklerini çalışan
Uzm. Dr. Rukiye Nar, Asistan Dr. Sedat Gülten ve Biyolog Hande Koldaş'a teşekkür
ederim.

Tez verilerinin değerlendirilmesinde büyük katkısı olan Biyoistatistik ABD öğretim
üyesi sayın Prof. Dr. Yüksel Bek'e çok teşekkür ederim.

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum tüm asistan doktor arkadaşlarıma teşekkür ederim,

Ayrıca yan dal eğitimim boyunca birlikte çalıştığım, yardımlarını esirgemeyen
endoskopi ünitesi hemşireleri sayın Dürdane Uzuner, Aysel Ocak, Ruhan Tekin,
Nurtane Sökmen, Serpil Şimşek, Gülcan Çağlar, radyoloji teknisyeni Oktay Tepe ve
tüm Gastroenteroloji Bilim Dalı personeline teşekkürü borç bilirim.

DESTEKLEYEN KURULUŞ

Bu çalışma, Ondokuz Mayıs Üniversitesi tarafından PYO.TIP.1904.10.009 proje
numarası ile desteklenmiştir

İÇİNDEKİLER

	SAYFA NO
TABLO LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ	VI
KISALTMALAR	VII
ÖZET	IX
ABSTRACT	XI
1. GİRİŞ VE AMAÇ	13
2 GENEL BİLGİLER	15
2.1 Helicobacter pylori	15
2.1.1 Epidemiyoloji	15
2.1.2 Patogenez	15
2.1.2.1 Helicobacter pylori virulans faktörleri	15
2.1.2.1.1 Sitotoksin aracılıklı gen A patojenite adası (cag PAI)	16
2.1.2.1.2 Vakuolize edici sitotoksin (VacA)	17
2.1.2.1.3 Asit direnci	17
2.1.2.1.4 Adezinler - Dış membran proteinleri	17
2.1.2.1.4.1 BabA (HopS):	17
2.1.2.1.4.2 OipA (HopH):	18
2.1.2.1.4.3 SabA (HopP):	18
2.1.2.1.5 Lipopolisakkaritler:	18
2.1.2.1.6 Fagositoza direnç ve dendritik hücrelerin modifikasyonu	18
2.1.2.2 Helicobacter pylori'ye immün cevap	18
2.1.2.3 Helicobacter pylori ve genetik polimorfizm	19
2.1.2.3.1 IL-1	19
2.1.2.3.2 Diğer sitokinler	20
2.1.3 Helicobacter pylori ilişkili hastalıklar	20
2.1.3.1 Akut gastrit	21
2.1.3.2 Kronik gastrit	21
2.1.3.3 Peptik ülser	22
2.1.3.4 Atrofik gastrit, Mide kanseri	22

2.1.3.5	Mide MALT lenfoması	23
2.1.3.6	Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH)	23
2.1.3.7	Ekstragastroduodenal hastalıklar	24
2.1.4	Helicobacter pylori tanısı	24
2.1.4.1	Histopatoloji	25
2.1.4.2	Fırça sitolojisi	25
2.1.4.3	Kültür	25
2.1.4.4	Üreaz testi	25
2.1.4.5	Moleküler yöntemler	26
2.1.4.6	Serolojik testler	26
2.1.4.7	Üre nefes testi	26
2.1.4.8	Gaitada antijen testi	27
2.1.5	Helicobacter pylori tedavisi	27
2.1.5.1	Birinci basamak tedavi yöntemleri	27
2.1.5.2	İkinci basamak tedavi yöntemleri	27
2.1.5.3	Üçüncü basamak - Kurtarma tedavi yöntemleri	28
2.2	Telomer	28
2.2.1	Tanım ve fonksiyonu	29
2.2.2	Telomerin yapısı	29
2.2.3	Telomerin kısalması	30
2.2.4	Telomere bağlanan proteinler	31
2.2.5	Mortalite mekanizmaları ve Telomer	31
2.2.6	Telomer uzatılmasını sağlayan mekanizmalar	32
2.2.6.1	Telomeraz	32
2.2.6.1.1	Telomeraz disfonksiyonu	33
2.2.6.2	Telomerin alternatif uzatma yöntemleri (ALT)	33
3.	GEREÇ VE YÖNTEM	36
3.1	Hasta seçimi ve tedavi	36
3.2	Kullanılan araç ve gereçler	37
3.3	Kullanılan kimyasallar	38
3.4	Dokulardan DNA izolasyonu	38
3.5	Kantitatif RT-PCR metodunun uygulanması	38
3.5.1.	Telomer primerlerinin belirlenmesi	38

3.5.2. Standartların hazırlanması	38
3.5.3. Beta globin PCR çalışması	38
3.5.4. Numunelerde telomer PCR çalışılması	39
3.6 Telomeraz aktivitesinin PCR ELISA ile çalışılması	40
3.6.1 Dokudan hücre ekstraktı hazırlama	40
3.6.2 Negatif kontrol hazırlanması	40
3.6.3 Pozitif kontrol hazırlanması	40
3.6.4 Telomerik tekrar büyütme protokolü (TRAP)	41
3.6.5 Hibridizasyon ve ELISA protokolü	41
3.7 Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesi	42
4. BULGULAR	43
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	47
6. KAYNAKLAR	53

TABLO LİSTESİ

	Sayfa No
Tablo I. H.pylori tanısal testleri	24
Tablo II. H.pylori tanı testlerinin uygulanabileceği durumlar	25
Tablo III. Telomerin fonksiyonları ve kısalması sonucu gelişen disfonksiyonu	29
Tablo IV. Çalışmaya alınma kriterleri	36
Tablo V. Çalışmadan dışlanma kriterleri	36
Tablo VI. Tedavi protokolleri	37
Tablo VII Numunelerin PCR çalışmasına hazırlanması	39
Tablo VIII. LightCycler PCR cihazında çalışma protokolü	40
Tablo IX. Thermal cyler protokolü	41
Tablo X. Çalışma gruplarının demografik özellikleri	43
Tablo XI. Kontrol grubunda biyopsi alınan hastaların histopatolojik incelemesi	43
Tablo XII. Hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrası biyopsi alınan hastaların histopatolojik incelemesi	44
Tablo XIII. Çalışma grubu telomer uzunlukları, telomeraz aktiviteleri	45
Tablo XIV Hasta grubu (tedavi öncesi dönem) ve kontrol grubunun histopatolojik bulgulara göre telomer uzunluklarının karşılaştırılması	46

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. H.pylori virulans faktörleri	16
Şekil 2. H.pylori ile ilişkili hastalıklar	20
Şekil 3. Telomerin yapısı	30
Şekil 4. Telomerin T loop-D loop yapısı	30
Şekil 5. Hücre bölünmesi ve mortalite evreleri	32
Şekil 6 Telomer uzunluğu ve yaş arasındaki ilişki	46

KISALTMALAR

ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ALT	Alternatif telomer uzatma yöntemleri
C circles	Kısmi tek zincirli çember
cag PAI	Sitotoksin ilişkili gen A patojenite adası
cagA	Sitotoksin ilişkili gen A
D loop	Yer değişim ilmeği
DNA	Deoksiribonükleik asit
GÖRH	Gastroözofageal reflü hastalığı
H.pylori	Helicobacter pylori
Hop	Helicobacter pylori dış membran protein
HP-NAP	Helicobacter pylori - nötrofil aktive edici protein
hTER	İnsan telomeraz ribonükleik asit
hTERT /TERT	İnsan telomeraz ters transkriptaz
IL-1	İnterlökin 1
IL-10	İnterlökin 10
IL-1β	İnterlökin 1 beta
IL-RN	İnterlökin 1 reseptör antagonist
Kb	Kilobaz
kDa	Kilodalton
LPS	Lipopolisakkarit
M1	Mortalite evresi 1
M2	Mortalite evresi 2 / Kriz evresi
MALT	Mukoza ilişkili lenfoid doku
NSAID	Nonsteroid antiinflamatuvar ilaç
O₂⁻	Süper oksit radikali
Pot1	Telomer korunması 1
PPI	Proton pompa inhibitörü
Rap1	Baskılayıcı/aktivatör protein 1
RNA	Ribonükleik asit
RT-PCR	Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu
t circles	Çift iplikli telomerik çember

KISALTMALAR (Devam)

T loop	Telomerik ilmik
Tin2	TRF1-etkileşimli çekirdek faktörü 2
TNFα	Tümör nekrozis faktör alfa
TPE	Telomer pozisyon etkisi
TPP1	Tripeptidil-peptidaz 1
TRF1	Telomer tekrar bağlanma faktörü 1
TRF2	Telomer tekrar bağlanma faktörü 2

ÖZET

AMAÇ

Helicobacter pylori (*H.pylori*) mide kanseri patogenezinde rol alan faktörlerden biri olup mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Mide kanserinde telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi daha önce çalışılmıştır. Bu çalışmada *H.pylori* saptanan mide mukozasında eradikasyon tedavisi öncesi ve sonrasında telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesinin araştırılması amaçlanmıştır.

MATERYAL - METOD

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalı Endoskopi Ünitesine, dispepsi nedeniyle endoskopi istemiyle başvuran yaş ve cinsiyet açısından benzer hastalar arasında yapılmıştır. Çalışma grupları *H.pylori* pozitif saptanan ve eradikasyon sonrası negatif olan 30 hasta (hasta grubu) ve *H.pylori* negatif saptanan 20 hasta (kontrol grubu) ile oluşturuldu.

H.pylori eradikasyonu için hastalara 14 gün PPI +Klaritromisin+Amoksisilin ya da PPI+Metronidazol+Tetrasiklin verildi. Tedaviden bir ay sonra üst gastrointestinal sistem endoskopisi tekrar edildi. Tedavi öncesi ve sonrası *H.pylori* tanısı, histopatolojisi, telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi için mide antrumdan biyopsi alındı.

Kontrol ve hasta grubunda antrumdan alınan doku örneklerinde telomer uzunluğu RT-PCR (gerçek zamanlı-polimeraz zincir reaksiyonu), telomeraz aktivitesi PCR-ELISA yöntemleri ile çalışıldı.

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 13.0 paket programı ile yapıldı.

BULGULAR

Kontrol ve hasta grubu arasında yaş ortalaması (sırasıyla 37,94±10,82 yıl ve 41,76±14,64 yıl, p=0,37) ve cinsiyet açısından (sırasıyla %35,3 erkek ve %42,9 erkek, p=0,31) açısından fark yoktu. Hasta grubundan 21, kontrol grubundan 17 hastanın telomer uzunluğu ve telomeraz aktiviteleri çalışılabilir. Tedavi öncesi hasta grubu ve kontrol grubu arasında telomer uzunluğu (sırasıyla 2481,2 ± 1823,0 bp ve 2958,9 ± 1345,7 bp, p=0,11) arasında sayısal olarak fark olsa bile istatistiksel olarak fark yoktu. Hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrasında telomer uzunluğu farklı olup eradikasyon sonrasında (sırasıyla 2481,2 ± 1823,0 bp ve 3766,3 ± 1608,8 bp, p=0,01) daha uzundu. Hasta ve kontrol guruplarında telomeraz aktivitesi saptanmadı.

SONUÇ

H.pylori günümüzde mide kanseri için kesin kanserojen ajan olarak tanımlansa da patogenezi net olarak ortaya konulamamıştır. H.pylori'nin tedavisi ile mide kanseri riski azalmaktadır. Biz bu çalışmada ilk kez H.pylori ile enfekte mukozada kısalmış olan telomer uzunluğunun tedavi ile uzadığını gösterdik.

ANAHTAR KELİMELER: H.pylori, telomer uzunluğu, telomeraz aktivitesi, eradikasyon tedavisi

ABSTRACT

AIM

Helicobacter pylori (*H. pylori*) is one of the factors involved in pathogenesis of gastric cancer. The exact mechanism underlying in this issue is still unknown. Telomere length and telomerase activity in gastric cancer have been previously studied. In this study, we aimed to investigate telomerase activity and telomere length before and after eradication therapy in gastric mucosa with *H. pylori*.

METHOD

The study was conducted among the patients who referred to Ondokuz Mayıs University, Medical Faculty, Department of Gastroenterology Endoscopy unit for dyspepsia. The patient's age and gender were similar. Study groups consisted of *H. pylori* positive group (n=30) (patient group) and *H. pylori*-negative (n=20) (control group).

Presence of *H. pylori* and eradication control were determined using rapid urease test. The patients received 14-day PPI + Clarithromycin + Amoxicillin or PPI + Metronidazole + Tetracycline for eradication of *H. pylori*. Upper gastrointestinal endoscopy was repeated one month after treatment. Biopsies were taken from gastric antrum before and after treatment for *H. pylori* diagnosis, histopathology, telomere length and telomerase activity.

Telomere length and telomerase activity was determined via RT-PCR and PCR-ELISA methods respectively in biopsy specimens obtained from antrum.

Statistical evaluation of the data was performed by the SPSS 13.0 program.

RESULTS

There was no significant difference between control and patient groups in terms of mean age ($37.94 \pm 10,82$ years and $41.76 \pm 14,64$ years respectively, $p= 0.37$) and gender (35.3% male and 42.9% male respectively, $p= 0.31$). Telomere length and telomerase activity were studied in 21 patients in patient group and in 17 patients in control group. Although a difference was observed numerically between patient group prior to treatment and control groups in terms of telomere length ($2481,2 \pm 1823,0$ bp and $2958,9 \pm 1345,7$ bp respectively, $p= 0.11$), no statistically significant difference was observed. Telomere length differs before and after eradication in

patient group and it was longer after eradication ($2481,2 \pm 1823,0$ bp and $3766,3 \pm 1608,8$ bp respectively, $p= 0.01$). No telomerase activity was detected in patient and control groups.

CONCLUSION

Although *H. pylori* is considered to be a carcinogenic agent for stomach cancer, the pathogenesis has not been clearly established yet. The treatment of *H. pylori* decreases the risk of stomach cancer. In this study, we have determined that telomere length that was shortened in the mucosa infected with *H. pylori* can be elongated with the treatment.

KEYWORDS: *Helicobacter pylori*, telomer length, telomerase activity, eradication treatment

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori (*H.pylori*) insanlardaki en sık kronik bakteriyel enfeksiyona neden olan gram negatif, spiral şekilli, mikroaerofilik bir ajandır. Enfeksiyon sosyoekonomik durum ile kuvvetle ilişkili olup prevalansı gelişmekte olan ülkelerde %80'in üzerinde, gelişmiş ülkelerde %20-50 oranında bildirilmektedir (1).

H.pylori noninvaziv bir bakteri olup mide mukus tabakası içerisinde epitelyal hücrelere tutunarak yaşamaktadır. *H.pylori* enfeksiyonu ile mide mukozasında kronik inflamatuvar süreç başlamakta ve bakteri ile ilişkili hastalıklardan bu süreç sorumlu tutulmaktadır.

H.pylori enfeksiyonu ile peptik ülser, fonksiyonel dispepsi gibi malign olmayan hastalıklar ile kardiya dışı mide tümörleri, mukoza ilişkili lenfoid doku lenfoması gibi malign hastalıklar gelişebilmektedir (2). Enfeksiyon özellikle infant ve çocuklarda başka sebeplerle verilen antibiyotiklerle bazen eradike olabilse de özel antibiyotik kombinasyonları kullanılmadıkça yaşam boyu devam etmektedir(3).

H.pylori ile enfekte kişilerin yaklaşık %50'sinde mide kanserine doğru ilerleyebilecek histolojik preneoplastik değişiklikler bulunmaktadır. Buna rağmen hastaların %2'sinden daha azında mide kanseri gelişmektedir(4).

Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 1994'te *H.pylori*'yi mide kanserinden sorumlu kesin ajan olarak kabul etmiştir(5). Vaka kontrollü 12 çalışmanın meta analizinde son 10 yıl içerisinde alınan örneklerde *H.pylori* enfeksiyonunun kardiya dışı mide tümörlerini 6 kat kadar arttırdığı gösterilmiştir (6). *H.pylori* hem diffüz hem de intestinal tip mide kanseri ile ilişkilidir. Diffüz mide kanserinin kronik gastrit zemininde geliştiği düşünülmektedir. İntestinal tip mide kanserinin ise kronik gastrit sonrası atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi olaylar dizisi sonrası geliştiği kabul edilmektedir. Ancak karsinogenezin moleküler patogenezi tam olarak bilinmemektedir.

Günümüzde *H.pylori* enfeksiyonu ile gelişen kronik inflamasyon sonucunda hangi komplikasyonun gelişeceği konakçının genetik özellikleri, bakteri suşunun virulans faktörleri ve çevresel faktörlere bağlı olduğu düşünülmektedir (7).

Kromozom uçları telomer adı verilen ve bu bölgeleri yıkım ve yeniden yapılandırma aktivitelerinden koruyan özel kromatin yapılarından oluşur (7). Tüm vertebralılarda telomerler TTAGGG tekrarları ve bunlara bağlı özel proteinlerden meydana gelir. Telomerler her hücre bölünmesinde DNA polimeraz enziminin yetersiz replikasyon yeteneği nedeni ile kısalmaktadır. Bu progresif kısalma

moleküler bir saat gibi çalışmakta ve kritik uzunluğa ulaştığında hücrede kromozomal dengesizlik ve yaşam kaybı ile sonuçlanmaktadır (8).

Telomer uzunluğu çeşitli insan kanserlerinde çalışılmış olup bazı tümörlerde normal dokuya göre daha kısa (kolon kanseri, glioblastoma gibi), bazı tümörlerde ise daha uzun (kordoma gibi) bulunmuştur. Mide kanserinde de telomer uzunluğunu normal mukozaya göre daha uzun, daha kısa ya da benzer bulan çalışmalar vardır (9).

Telomeraz enzimi substrat olarak telomeri kullanan ribonükleoprotein kompleksidir. Ters transkriptaz aktivitesine sahip katalitik ünite ve DNA sentezinde kalıp olarak kullanılan RNA bileşeninden oluşur. Enzim telomerin TTAGGG tekrarlarını uzatarak hücrenin büyüme ve bölünmesinin devamına katkı sağlamış olur.

Telomeraz aktivitesi tüm insan kanserlerinin %80'inden fazlasında gösterilmiştir (10). Çalışmalarda mide kanseri olan hastaların örneklerinde %85-88 oranında enzim aktivitesi tespit edilmiştir. Kanser olmayan doku örneklerinde ise %35 oranında telomeraz aktivitesi izlenmiş olup bu örneklerin hepsinde de intestinal metaplazi gözlenmiştir (11).

Bu çalışmada literatürde daha önce çalışılmayan H.pylori ile enfekte hastaların tedavi öncesi ve sonrasında mide mukozasında telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesindeki değişimin gözlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1 HELICOBAKTER PYLORI

2.1.1 Epidemiyoloji

H.pylori enfeksiyonu insanlarda en sık rastlanan kronik bakteriyel enfeksiyon olup dünya nüfusunun yaklaşık %50'sinin enfekte olduğu düşünülmektedir (12). Enfeksiyonun prevalansı ülkeler arasında ciddi farklılık göstermekte olup gelişmekte olan ülkelerde orta yaştaki erişkinlerde %80 oranında, gelişmiş ülkelerde %20-50 oranında bildirilmektedir (1). Ülkemizde H.pylori enfeksiyonu prevalansı %70-82,7 oranında bildirilmiştir (13).

Bakteri bulaşı genellikle erken çocukluk çağında oral yoldan olmaktadır. Gelişmiş ülkelerde bu geçiş kişiden kişiye tükürük, salya, gaita gibi yollarla daha fazla olurken, gelişmekte olan ülkelerde su aracılığı ile geçiş daha sık gibi görünmektedir (1).

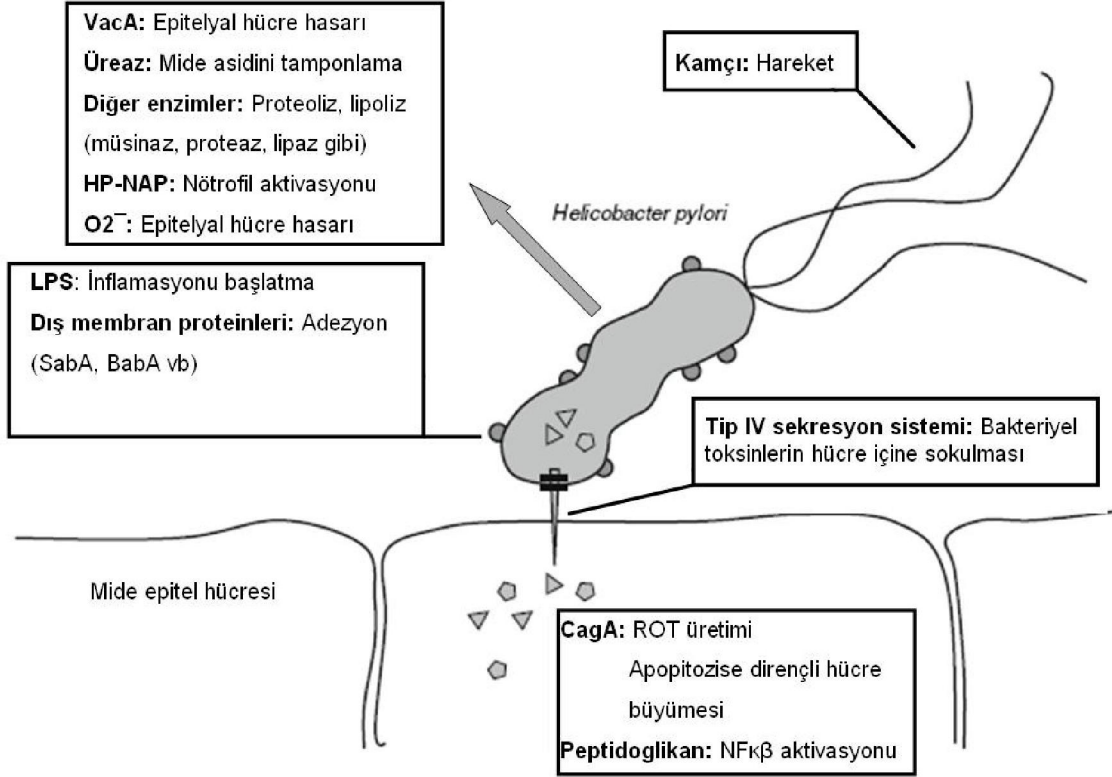
2.1.2.1 Patogenez

H.pylori spiral şekilli, gram negatif, hareketli, çok sayıda kamçı içeren bir bakteridir. Oksidaz, katalaz ve üreaz enzimlerini içermekte olup pH 6.0-7.0 arasında yaşayabilmektedir. Bakteri mukus tabakasının derin kısımlarında epitel yüzeyine yakın olarak bulunur. H.pylori ürettiği proteazlarla mide mukus tabakasını modifiye ederek, lümendeki asitin tabaka içerisine ilerlemesini azaltır. Aynı zamanda üreaz enzimi ile amonyak üreterek mide asidini tamponlar (14).

Mide mukozası bakteriyel enfeksiyonlara karşı oldukça iyi korunmuştur. Ancak H.pylori bu ekolojik ortama iyi uyum sağlamakta, mide mukus tabakası içerisine yerleşip yüzmekte, epitelyal hücrelere tutunmakta ve immün sistemden kaçarak sonuçta persistan kolonizasyon geliştirmektedir. Persistan kolonizasyon sonucu kronik aktif gastrit ortaya çıkar. Bu durum H.pylori ile enfekte tüm vakalarda izlenebilir. Kronik inflamatuvar sürecin mide içerisindeki dağılımı ve şiddeti bakteri suşuna, konakçının genetik ve immün cevabına, diyet ve asit üretim miktarına göre değişir. H.pylori ilişkili ülser, mide adenokanseri ve mide lenfoması gibi hastalıkların hepsi bu kronik inflamatuvar sürecin komplikasyonlarıdır (15).

2.1.2.1.1 Helicobacter pylori virulans faktörleri

H.pylori genomu 1500'e yakın protein kodlar. Bu proteinlerden özellikle bazıları bakterinin kolonizasyonunda ve hastalık oluşturmada önemli rol oynarlar. H.pylori virulans faktörleri şekil 1'de gösterilmiştir.



Şekil 1. H.pylori virulans faktörleri (Kaynak 69'dan modifiye edilmiştir).

HP-NAP: H.pylori nötrofil aktive edici protein

O₂⁻ : Süper oksit radikali

LPS: Lipopolisakkarit

Bab A:Kan grubu antijen bağlayıcı adezin

cag A: Sitotoksin aracılıklı gen A

vac A: Vakuolize edici sitotoksin A

Sab A: Sialik asit bağlayıcı adezin A

NFκβ: Natural faktör kappa beta

2.1.2.1.1 Sitotoksin aracılıklı gen A patojenite adası (cag PAI)

H.pylori ile enfeksiyon her zaman kronik inflamasyonla sonuçlansa da hastaların çoğunda ülser, kanser gibi diğer komplikasyonlar gelişmemektedir. Bu durum bazı bakteri suşlarının daha virulan olduğu fikrini ortaya çıkarmıştır. Bu suşlar in vitro hücre kültürlerinde daha şiddetli morfolojik değişikliklere, vakuolizasyona ve dejenerasyona yol açmaktadır. Bu durum daha sonra cag geni tarafından üretilen cagA isimli proteinle ilişkilendirilmiştir. Cag PAI bulunduran suşlar cagA⁺ olarak adlandırılırlar. Batı toplumunda cagA⁺ suşlarla enfekte hastalarda genellikle inflamatuvar cevap daha şiddetli olmakta ve komplikasyonlar (ülser, mide kanseri vb)

daha sık görülmektedir (15). CagA proteinleri epitel hücresi içerisine hücre membranında morfolojik değişikliklere yol açmakta ve T hücre apoptozunu uyararak konakçı bağışıklık sistemini de etkilemektedir (15).

2.1.2.1.2 Vakuolize edici sitotoksin (VacA)

Tüm H.pylori suşlarının yaklaşık %50'si vacA salgılamaktadır. VacA etkisini membran kanal formasyonu, endozomal ve lizozomal aktivitenin ayrışması, hücre iskelet sistemine bağlı fonksiyonlara müdahale ile apoptozisi uyararak ve bağışıklık cevabını etkileyerek gösterir (16). VacA epitelyal hücre membranında delikler açar ve konak hücreden üre ve anyonların salınmasına neden olur (17).

VacA aynı zamanda sitozole girerek mitokondrial iç membranda birikir ve endojen mitokondrial kanallarını aktive ederek apoptozisi tetikler. Sonuçta asit sekresyonu azalarak mide kanserine yatkın bir durum ortaya çıkmaktadır (18). Ortama sekrete edilen VacA doku derinliklerine ulaşır granülosit, monosit, T ve B lenfositleri ile etkileşerek antijen sunumu ve T hücre proliferasyonunu inhibe eder (19).

2.1.2.1.3 Asit Direnci

H.pylori'nin en önemli özelliklerinden biri asidofilik olmamasına rağmen midede kolonize olabilmesidir. Bakteri asit şokundan korunmak ve pH 5.5 civarında yaşayabilmek için mekanizmalar geliştirmiştir. H.pylori mide içerisine girdiğinde üre ve bikarbonat gradientini kullanarak mukus tabakasına doğru hareket eder.

H.pylori'nin aside karşı direncindeki en önemli unsurlarından biri üreaz enzimidir. Üreaz enzimi üreyi amonyak ve karbondioksite parçalar. Üreaz tüm H.pylori izolatlarında bulunsa da enzim aktivitesi bakterinin suşuna ve büyüme durumuna göre değişir. Amonyak ve bikarbonat üreaz enzimi tarafından üretilir. Amonyak hem ortam pH'ını arttırır hem de mide epitel hücrelerine sitotoksik etkilidir. Bikarbonat ise pH'ı tamponlamanın yanı sıra nitrit oksit metabolitlerinin bakterisidal etkilerini baskılar (20).

2.1.2.1.4 Adezinler- Dış membran proteinleri

H.pylori'nin mide epitel hücrelerine bağlanmasına yardımcı olan pek çok bakteriyel faktör vardır. Bu proteinler içerisinde en önemlileri H.pylori adezinleri olarak bilinen dış membran (Hop) proteinleridir. Bu proteinler birçok faz-değişken gen tarafından

kodlanır ve bakterinin motilitesini etkilerler (1). Bu proteinlerden fonksiyonları hakkında yeterli veri bulunan 3 protein aşağıda açıklanmıştır.

2.1.2.1.4.1 BabA (HopS): BabA proteini aynı isimli gen tarafından kodlanmakta olup en iyi tanımlanan H.pylori adezin molekülüdür. Bu molekül insan konak hücrelerinde Lewis b kan grubu antijenine bağlanır. Özellikle BabA2 aleli peptik ülser ve mide kanseri ile ilişkilendirilmektedir (15).

2.1.2.1.4.2 OipA (HopH): Bu protein H.pylori'nin bir başka adezyon molekülü olup kodlayan gen tüm H.pylori suşlarında bulunsa da eksprese edilmesi her suş için farklıdır (15).

2.1.2.1.4.3 SabA (HopP): SabA proteini sialik asit içeren glukokonjugatlara bağlanmaya aracılık eder. Proteinin kronik inflamasyon ve atrofik gastrit patogenezinde rolü olabileceği düşünülmektedir. SabA'nın aynı zamanda sialize karbonhidratlar taşıyan granülositlerle etkileşerek aktivasyonları üzerinde etkisi olduğu düşünülmektedir (15).

2.1.2.1.5 Lipopolisakkaritler (LPS): H.pylori suşlarının çoğu fukozile oligosakkaritlerden oluşan, yapısal ve immünolojik olarak insan kan grubu antijenleri ile yakından ilişkili olan lipopolisakkaritler eksprese eder. Bu bakteriyel antijenler Lewis antijenleri olarak adlandırılırlar. Lewis antijenleri çok sayıda antijenik varyasyon içerir ve immün cevaptan kaçışta rol aldığı düşünülmektedir (15).

2.1.2.1.6 Fagositoza direnç ve dendritik hücrelerin modifikasyonu

H.pylori enfeksiyonu ile mide mukozası lamina propriası monositik hücrelerin akınına uğrar. Bu hücreler H.pylori'nin henüz bilinmeyen yollarla etkilediği, fonksiyonel olarak yetersiz hücrelerdir. Bu durum sadece makrofajların anti H.pylori etkilerinin azalması ile kalmaz aynı zamanda H.pylori antijenlerinin aktive makrofajlarca (dendritik hücre) işlenmesi işlemini de azaltır ve değiştirir. T ve B hücrelerinin aktivasyonunda H.pylori antijenlerinin dendritik hücrelerce sunulmasına bağlı olduğundan immün sistemin cevabı etkilenir.

2.1.2.2 Helicobacter pyloriye immün cevap

Diğer mukozal enfeksiyonlarda olduğu gibi H.pylori'ye karşı koruyucu immün cevap ağırlıklı olarak antikolar ile olur. H.pylori antikoları bulunduran ve bulundurmeyen annelerin süt verdiği çocuklar karşılaştırıldığında antikor bulunduran annelerin çocuklarında enfeksiyonun olmadığı görülmüştür (21).

H.pylori enfeksiyonu her zaman ilgili suşa karşı şiddetli immün cevaba neden olsa da nadiren enfeksiyonun temizlenmesi sağlanabilir. Bu sağlansa bile H.pylori ilişkili patolojilerde bakterinin direkt aktivitesinden çok immün sistemi aktive etmesi ile olayların geliştiği kabul edilmektedir. H.pylori, immün cevabı virulans faktörleri sayesinde baskılar ve proinflamatuvar cevabın sürekliliğini sağlar.

Günümüzdeki kabullenişe göre H.pylori enfeksiyonuna bağlı gastrit ve diğer patolojiler Th1 hücreleri ve sitokinleri ile meydana gelir (22). Bu olaylarda immün cevabın başlatılması ve devamı gastrik epitel hücrelerinden çok monositler ve T hücreler aracılığıyla meydana gelir. T hücrelerinin Th1 hücrelerine farklılaşması için gereken IL-12 monositler tarafından sağlanır. H.pylorinin mide mukozasında bulunması güçlü bir IL-12 üretimine ve bunu sonucunda da çok sayıda Th1 hücre varlığına neden olur (22).

2.1.2.3 Helicobacter ve genetik polimorfizm

Günümüzde H.pylori enfeksiyonunun şiddeti ve enfeksiyona duyarlılıkta sadece patojen ajanın karakteristik özellikleri değil aynı zamanda konakçının genetik özelliklerinin de önemli olduğu bilinmektedir. Genetik polimorfizm, transkripsiyon faktörlerinin delesyonu veya üretimini etkilemekte ya da RNA'nın translasyonu veya eklenmesini etkilemek suretiyle genin son ürününü değiştirebilmektedir.

H.pylori'nin patojenik etkilerinin pek çoğu kronik aktif inflamasyon ile ilişkili olup proinflamatuvar ve antiinflamatuvar medyatörlerin karşılıklı etkileşimi ile devam ve kontrol edilir. Son zamanlardaki çalışmalarda bu inflamatuvar medyatörlerin seviyelerini etkileyen pek çok genetik polimorfizm tanımlanmıştır. Bu çalışmaların sonucunda proinflamatuvar genetik polimorfizmler, özellikle IL-1 ile ilgili olanlar mide kanseri gelişimine eğilimi arttırmaktadır (23,24).

2.1.2.3.1 IL-1

Mide asit sekresyon düzeyi ve proinflamatuvar cevabın varlığı duodenal ülser ya da atrofik gastrit gelişimine önemli katkıda bulunur. IL-1 sitokini polimorfik IL-1B (IL-1β'i kodlar) ve IL-RN'yi (IL-1 reseptör antagonistini kodlar) içeren gen kümesi tarafından

kodlanır. IL-1 β , güçlü bir proinflamatuvar sitokin olup asit sekresyonunun bilinen en güçlü baskılayıcısıdır (24). IL-1 gen kümesi IL-1 β 'nin aşırı ekspresyonuna neden olan birkaç polimorfizm içerir (IL-1B*-31C, IL-1B*-511T ve IL-1RN*2/*2 gibi). Bunun sonucunda asit sekresyonu azalır ve H.pylori'nin korpus baskın kolonizasyonu ile pangastrit, atrofik gastrit ve mide kanseri gelişme riski artar (25).

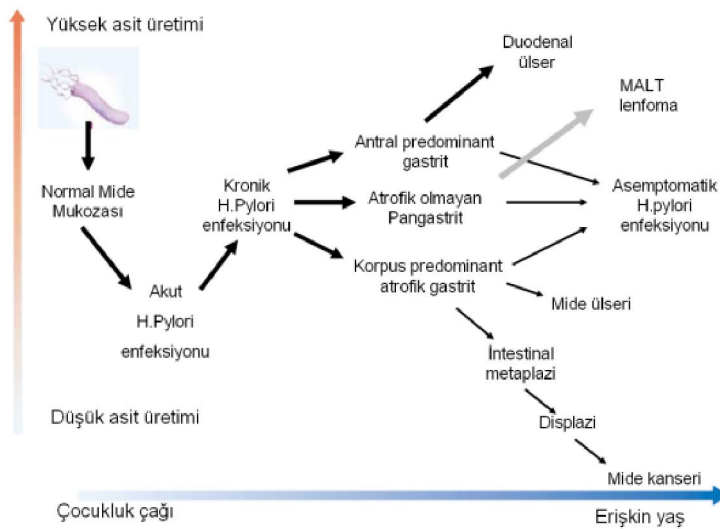
2.1.2.3.2 Diğer sitokinler

IL-10 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin genlerindeki polimorfizm IL-1 β gibi asit sekresyonunu etkileyerek H.pylori enfeksiyonu ve mide kanseri riskini arttırmaktadırlar (15).

2.1.3 Helicobacter pylori ilişkili hastalıklar

H.pylori ile kolonizasyonun kendisi direkt hastalığa neden olmasa da üst gastrointestinal sistem ve muhtemelen hepatobilier sistemin farklı hastalıklarının gelişiminde rölatif risk faktörüdür. Bu nedenle H.pylori'yi saptamaya yönelik testler bakterinin kendisi için değil peptik ülser gibi hastalıklarda etiyojijiyi bulmak ya da ailevi mide kanseri gibi olgularda hastalıktan korunmak amaçlıdır.

Midenin H.pylori ile kolonizasyonu histolojik olarak gastrite neden olsa da enfekte bireyler kendilerine özgü sonuçlar geliştirir. Kolonize olan hastaların yaşam boyu peptik ülser riski yaklaşık %10-20 iken, %1-2 hastada distal mide kanseri gelişme riski vardır (26,27). H.pylori varlığında bu hastalıkların gelişme riski bakteriye, konağa ve çevresel faktörlere bağlı olarak gelişen gastrit şiddetine göre değişir (Şekil2).



Şekil 2. H.pylori ile ilişkili hastalıklar (Kaynak 1'den Türkçeleştirilmiştir).

H.pylori ile insan mide mukozasının enfeksiyonu her zaman gastrite neden olur. Bazı vakalarda enfeksiyon kısa sürer ancak genellikle enfeksiyon hayat boyu süren ve kronik aktif gastrit olarak adlandırılan durumla devam eder. Kronik aktif gastrit, H.pylori kolonizasyonu ile ilgili birincil sonuç olup enfeksiyon ile ilişkili diğer hastalıklar bu kronik süreç sonucunda ortaya çıkar.

2.1.3.1 Akut Gastrit

H.pylori ile kolonizasyonun akut fazında dolgunluk hissi, bulantı, kusma gibi nonspesifik semptomlar ile birlikte hem proksimal hem de distal mide mukozasında yoğun nötrofil infiltrasyonu ile karakterize inflamasyon saptanır. Enfeksiyonun bu dönemi genellikle hipoklorhidri ile sonuçlanır. Bu başlangıç kolonizasyonunun nasıl spontan olarak temizlenerek gastritin gerilediği ve bu durumun hangi sıklıkta geliştiği bilinmemektedir. Ancak bu durum küçük çocuklarda yapılan takip çalışmalarında seroloji ve nefes testleri ile gösterilebilmiştir (28). Homozigotik ikizlerde yapılan çalışmalarda H.pylori durumunun ikizlerin birlikte ya da ayrı büyümelerinden bağımsız olarak benzer sonuçlandığı ancak heterozigot ikizlerde bu uyumun gözlenmediği izlenmiştir (29). Buradan anlaşılmaktadır ki bazı bireyler H.pylori enfeksiyonuna eğilimli iken bazıları kolonizasyona ya da enfeksiyonun gelişmesine karşı dirençlidir.

2.1.3.2 Kronik Gastrit

Kolonizasyon gelişip persistan hal aldığı anda, asit sekresyonu ve gastritin dağılım yeri arasında yakın ilişki vardır. Bu ilişki mide asidinin bakteri büyümesi üzerine, bakteri ve bakteri ilişkili mukozal inflamasyonun da asit sekresyonunun düzenlenmesi üzerine olan ters etkisinden kaynaklanır. Bu etkileşim H.pylori enfeksiyonunun sonuçları açısından son derece önemlidir. Şöyle ki; asit sekresyonu bozulmayan kişilerde H.pylori özellikle asit salgılayan parietal hücrelerin daha az olduğu antrumda kolonize olur. Bu kolonizasyon şekli antrum baskın gastrit olarak adlandırılır. Bu vakaların mide korpus örneklerinin histolojik değerlendirilmesinde sınırlı kronik inaktif inflamasyon ve az sayıda yüzeysel kolonize olmuş H.pylori izlenir. Asit sekresyonu bozulmuş kişilerde ise bir nedenle bakterinin kolonize olduğu alan artarak korpus ve antrum etkilenir. Korpustaki bakteriler mukozaya daha yakın yerleşirler ve korpus baskın gastrit ortaya çıkar (30). Asit salgılanmasındaki azalma, atrofik gastrit sonucu parietal hücrelerin kaybı nedeni ile ya da parietal hücre fonksiyonlarında azalmaya

eden olacak vagatomi gibi bir müdahale veya proton pompa inhibitörü (PPI) kullanımı nedeni ile olabilir. Buna paralel enfeksiyonun akut fazında IL-1 gibi lokal inflamatuvar faktörlerde parietal hücre fonksiyonunu kuvvetle baskırlar. H.pylori'ye bağı korpus gastriti ve hipoklorhidrisi olan hastalarda eradikasyon sonrası asit sekresyonu artar (31).

Korpus mukozasındaki aktif inflamasyon sonucu hipoklorhidri daha da derinleşir ve hipergastrinemi ortaya çıkar. Bu durum da mide adenokanserine yatkınlığa yol açar.

2.1.3.3 Peptik Ülser

Mide ya da duodenal ülserler muskularis mukoza tabakasına kadar ulaşan mukozal defektler olarak tanımlanırlar. Mide ülserleri genellikle küçük kurvaturada, korpus-antrum geçiş bölgesinde ortaya çıkarken duodenal ülserler genellikle mide asit salgısına en çok maruz kalan bulbusta ortaya çıkarlar. Batı ülkelerinde duodenal ülserler mide ülserlerinden 4 kat daha fazla görülürler. Duodenal ülserler genellikle 20-50 yaş arası mide ülserleri ise genellikle 40 yaş üzerinde ortaya çıkar (15).

H.pylori'nin saptandığı ilk dönemlerde duodenal ülserlerin %95'inde ve mide ülserlerinin %85'inde H.pylori varlığı gösterilmiştir. Gelişmiş ülkelerde yapılan kohort çalışmaları ile H.pylori pozitif hastalarda negatiflere göre yaşam boyu peptik ülser sıklığının 3-10 kat daha fazla olduğu gösterilmiştir. Eradikasyon tedavilerini kullanıma girmesi ile rekürren ülser hastalığının güçlü biçimde azaldığı gözlenmiştir (32).

H.pylori varlığında ülser gelişimi bazı konakçı ve bakteriyel faktörlerden etkilenir. Ülser mukozal inflamasyonun en şiddetli olduğu yerde gelişir. Mide asit sekresyonu azalmış olan kişilerde bu alan genellikle korpus-antrum geçiş bölgesindedir. Asit sekresyonu normal ya da artmış olanlarda ise inflamasyon genellikle distal mide ve proksimal duodenumda olup ülser bu alanlarda ortaya çıkar.

2.1.3.4 Atrofik gastrit, Mide kanseri

Kronik H.pylori enfeksiyonu sonucunda mide bezlerinde yıkım ve bu bezlerin yerini fibröz doku ve intestinal tip epitelin alması ile normal mide mukozal yapısı kaybolur. Bu durum H.pylori ile enfekte kişilerin yaklaşık yarısında, özellikle inflamasyonun şiddetli olduğu alanlarda izlenir (30). Atrofik gastrit gelişme riski kronik aktif inflamasyonun dağılım paternine göre değişir. Azalmış asit salınımı olanlarda atrofiye gidiş daha hızlıdır. Atrofik gastritte, atrofinin ciddiyeti ve yerleşim yerine bağı olarak bağı olarak mide kanseri riski yaklaşık 5-32 kat artar (33).

H.pylori'nin atrofi ve metaplazi sonrası mide kanseri riskini arttırdığına dair veriler H.pylori pozitif olgularda mide kanserinin enfekte olmayan hastalara göre daha yüksek olduğunu gösteren çalışmalara dayanır. Bu çalışmalara göre H.pylori ile kolonizasyonun mide kanseri riskini yaklaşık 2,6 kat arttırdığını göstermektedir (34).

H.pylori varlığında atrofi ve kanser gelişme riski bazı konak ve bakteriyel faktörlerden etkilenir. Örneğin cagA pozitif suşlarla enfeksiyon, genetik olarak IL-1 üretimi fazla olmaya meyilli kişilerde bu risk artar (24,35).

En önemli bakteri virulans faktörleri cagA proteini, VacA, BabA, OipA ve IceA'dır. İçlerinde patojenitesi en iyi anlaşılan ve muhtemelen en önemlisi cag PAI içerisindeki cag geni olarak kabul edilir. Cag PAI 30 adet gen içeren 40 kilobaz (kb) uzunluğunda bir DNA segmentidir. Cag bu genlerden birisi olup cagA'yı üretir. CagA hücre içerisine girdikten sonra tirozin kinaz aktivasyonuna neden olarak fosforillenir. Bunun sonucunda hücre iskeletinde yeniden yapılanma ve hücrede uzama meydana gelir. Hücre iskeletindeki değişiklik epitelyal hücreler arası sıkı bağlanma bölgelerinde bozulmaya neden olur. Hücrelerarası sıkı bağlanma bölgeleri hücreler arası geçirgenliğin devamı, hücre polaritesi, hücre motilitesi ve hücre proliferasyonu için önemlidir. Bu bölgedeki bozulma proinflamatuvar ve mitojenik cevaba neden olup kanser gelişiminde önemli rol alıyor olabilir (36).

2.1.3.5 Mide MALT lenfoması

Mide mukozası normalde lenfoid doku içermez. Ancak H.pylori ile kolonizasyon sonucu mide mukozasında hemen daima MALT (mucosa associated lymphoid tissue) izlenir. Nadiren bu doku monoklonal B lenfosit topluluğundan meydana gelir ve yavaşça MALT lenfoma'ya doğru proliferasyon olurlar. Hastalığın tanısı histolojik görünüm ve hücrelerin monoklonalitesinin gösterilmesi ile konulur. MALT lenfoması olan hastaların hemen hepsinde H.pylori pozitifdir (37). H.pylori pozitif olguların %1'inden daha azında MALT lenfoma gelişmektedir. H.pylori eradikasyonu ile tam remisyon bildirilmiştir (38).

2.1.3.6 Gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH)

GÖRH'nin uzun zamandır H.pylori kolonizasyonundan bağımsız olarak bakteri pozitif ve negatif hastalarda benzer sıklık ve şiddette olduğu kabul edilmekteydi. Bu görüş temellerini GÖRH'li hastalarda ve kontrol grubunda benzer H.pylori prevalansını gösteren kesitsel çalışmalardan alır (39). Ancak zamanla yapılan çalışmalarda H.pylori'nin GÖRH için koruyucu olabileceği yönünde veriler elde edilmiştir. Bu görüş

ise temellerini GÖRH'li hastalarda daha düşük sıklıkta ve daha az virulan H.pylori suşlarının saptanması, H.pylori prevalansının coğrafi dağılımının GÖRH insidansı ve komplikasyonlarının karşılaştırılması ve potansiyel olarak H.pylori eradikasyonu yapılanlarda artmış GÖRH insidansını gösteren çalışmalardan alır. Bu görüşe göre; H.pylori'nin neden olduğu korpus gastritinde asit sekresyonu azalmakta ve böylece hastalar GÖRH'ye karşı korunmaktadırlar ve bu nedenle H.pylori eradikasyonu daha önceden belirlenen kesin endikasyonlar varsa yapılmalıdır (ülser, mide kanseri vb).

Ancak yapılan çalışmalarda ne H.pylori eradikasyonu ile GÖRH geliştiği ne de var olan hastalığın kötüleştiğine dair veri yoktur (40).

2.1.3.7 Ekstragastroduodenal hastalıklar

H.pylori'nin çeşitli mide dışı hastalıklar ilişkisi mevcuttur. Bu hastalıklara örnek olarak; koroner kalp hastalığı, rozasea, idiyopatik ürtiker gibi dermatolojik hastalıklar, otoimmün tiroid hastalıklar, idiyopatik trombositopenik purpura, demir eksikliği anemisi, Raynaud fenomeni, skleroderma, migren gibi hastalıklar verilebilir. H.pylori ve bu hastalıkların ortaya çıkış mekanizmasının; kronik olarak düşük dereceli koagülasyon kaskatının aktivasyonu, aterosklerozun hızlanması ve H.pylori ile hedef dokunun antijenik benzerliği nedeni ile ortaya çıkan otoantikolar olduğu düşünülmektedir (41).

2.1.4 Helicobacter pylori tanısı

H.pylori tanısal testleri endoskopi gerektirip gerektirmediğine göre invaziv ve noninvaziv testler olarak ikiye ayrılabilir. Yine bu testler direkt (kültür ya da bakterinin mikroskopla direkt görülmesi) ve indirekt (üreaz enzimi ya da bakteriye karşı gelişen antikorlar) olarak ta ayrılabilirler. Hangi testin seçileceğini maliyet, ulaşılabilirlik, klinik durum, testin sonucunu etkileyebilecek faktörler (PPI kullanımı, antibiyotik kullanımı gibi) göz önünde bulundurularak yapılmalıdır. H.pylori tanı testleri tablo 1'de, muhtemel endikasyonları tablo 2'de belirtilmiştir.

Tablo I. H.pylori tanısal testleri

İnvaziv Testler	Noninvaziv Testler
Histopatoloji	
Fırça sitolojisi	Üre Nefes Testi
Kültür	Gaitada Antijen Testi
Üreaz Testi	
Moleküler Yöntemler	
Serolojik Testler	

2.1.4.1 Histopatoloji

Mide biyopsisi H.pylori'nin primer tanısında yardımcı olduğu gibi, enfeksiyona sekonder gelişen gastritin varlığı ve akut/kronik ayrımının yapılmasında, intestinal metaplazinin ve mukozal lenfoid dokunun değerlendirilmesinde de önemlidir. H.pylori antrumda yoğun olarak bulunsa bile korpus ve fundusta da bulunabilir. Ayrıca multifokal atrofi ve intestinal metaplazinin varlığının araştırılması için antrum ve korpustan biyopsi alınması önerilmektedir. H.pylori'nin tespiti için Hematoxilyn-Eosin, Warthin-Starry gümüş boyası ve Giemsa kullanılabilen boyalardır(42).

Histopatolojinin zayıf noktaları; bakterinin midenin farklı bölgelerinde değişik yoğunlukta bulunması nedeni ile yanlış negatif sonuç vermesi, değerlendirmeyi yapanlar arasında farklılık olabilmesi ve antisekretuar tedaviden etkilenmesi olarak sayılabilir (43).

Tablo II. H.pylori tanı testlerinin uygulanabileceği durumlar

Kesin endikasyonlar	Tartışmalı endikasyonlar
Aktif peptik ülser	Fonksiyonel dispepsi
H.pylori tedavisi almamış peptik ülser anamnezi olan hastalar	Uzun süre PPI tedavisi alacak Hastalar
Araştırılmamış dispepsi (H.pylori yüksek olan toplumlarda)	Uzun süre NSAID kullanacak hastalar
Erken evre mide kanseri nedeni ile endoskopik rezeksiyon yapılan hastalar	Mide kanseri için yüksek riskli hastalar
Mide MALT lenfoması	

2.1.4.2 Fırça sitolojisi

Fırça sitolojisi klinik kullanımda nadir olarak kullanılır. Özellikle biyopsi alınması sakıncalı olan hastalarda kullanılabilir. Fırça sitolojisinin %95 duyarlılık ve %96 özgüllüğü olduğu bildirilmiştir (44).

2.1.4.3 Kültür

H.pylori'nin kültür ortamında üretilmesi tanıda altın standart kabul edilmekte olsa da rutin kullanımı önerilmemektedir. Duyarlılığı %90-95 ve özgüllüğü %100 dür. Pahalı bir yöntem olması ve deneyim gerektirmesi dezavantajı olsa da tedaviye dirençli vakalarda antibiyotik duyarlılığının tespiti en önemli kullanım alanıdır (1).

2.1.4.4 Üreaz testi

Mide biyopsi örneğinde üreaz enzimini tespit etmeye yönelik bir testtir. Duyarlılığı %98 ve özgüllüğü %89'dur. Mideye alkaleen reflü olması, uzun süreli proton pompa inhibitörü kullanımı, mide mukozasında üreaz üreten bazı bakterilerin varlığı (Klebsiella, Proteus gibi) ile yanlış pozitif reaksiyon gelişebilir. Aklorhidri veya H.pylorini heterojen dağılımı yanlış negatif sonuca neden olabilir (45)

2.4.5 Moleküler yöntemler

Moleküler yöntemler hem bakterinin varlığı hem de tiplendirilmesinde kullanılabilir. PCR ve RT-PCR ile H.pylorinin değişik organlarda (mide, safra kesesi gibi) varlığı saptanabilir. cagA, VacA, s ve m polimorfizmi tespit edilebilir. Aynı zamanda PCR tekniği ile gaitada bakterinin aranması noninvaziv test olarak kullanılabilir (46).

2.1.4.6 Serolojik testler

H.pylori hem lokal hem de sistemik immün cevap oluşturmaktadır. Anti Hp IgM antikoru 2. haftadan itibaren serumda saptanır, akut enfeksiyonu gösterir. Ancak akut enfeksiyonun klinik pratikte, hastalığın yönetiminde anlamı yoktur. Anti Hp IgG antikoru 3. haftada ortaya çıkar. Klinikte en çok kullanılan ve üzerinde araştırma yapılan test IgG ELISA testidir. ABD ve Avrupa kılavuzlarında sadece IgG testinde söz edilmektedir. Çalışmalarda duyarlılık %90-100, özgüllük %76-96 arasında bildirilmektedir. Anti Hp IgA antikoru kişiden kişiye değişiklik gösterir ve hastaların % 80'inde serum ve vücut sıvılarında saptanır. Ancak yapılan çalışmalar IgA'ya yönelik testlerin sensitivite ve spesifitesinin IgG'ye göre daha düşük olduğu yönündedir (47).

2.1.4.7 Üre nefes testi

¹³C veya ¹⁴C işaretli ürenin oral alımından sonra üreaz enzimi ile CO₂ ve amonyağa çevrilerek, işaretli karbon atomunun ekspiryum havasında tespit edilmesi esasına dayanır. Son bir ay içinde antibiyotik kullanımı ve son bir hafta içinde asit süpresyonu yapan ilaçların kullanımı hassasiyetini azaltmaktadır. ¹⁴C radyoaktif olduğu için hamile ve çocuklarda ¹³C tercih edilmelidir. Duyarlılığı %88-95, özgüllüğü %95-100 arasındadır (48,49).

2.1.4.8 Gaitada antijen testi

H.pylorinin gaitada bulunması bakterinin bu ortamda tespiti için yollar aranmasına sebep olmuştur. Gaitadaki üreaz enzimini bakterinin varlığı için belirteç olarak kullanarak enzim immunoassay yöntemi ile poliklonal antikorlar ile geliştirilen testlerin duyarlılığı %94, özgüllüğü %86-92 arasında bildirilmiş olup bu değerler monoklonal antikor kullanan testlerde daha da yüksektir.

Gaitada H.pylori antijeninin tespiti eradikasyon tedavisi sonrasında değerlendirmede basit ve güvenilir bir yöntemdir.

İdrar ve tükürükte H.pylori'nin varlığının gösterilmesine yönelik testler geliştirilmiş olsa da histopatolojik ve serolojik testlere göre daha düşük spesifite ve sensitiviteyi nedeni ile yaygın olarak kullanılmamaktadırlar.

2.1.5 Helicobacter pylori tedavisi

H.pylori tedavisinde çok sayıda tedavi rejimi geliştirilse de optimal tedavi rejimi henüz geliştirilememiştir. Günümüzde kullanılan tedavi yöntemleri birinci, ikinci, üçüncü basamak tedavi yöntemleridir.

2.1.5.1 Birinci basamak tedavi yöntemleri

Üçlü tedavi en sık kullanılan birinci basamak tedavi yöntemidir. Tedavi PPI, Amoksisilin ve Klaritromisin'in 7-14 gün kullanılmasından oluşur. Başlangıçta %90'lara ulaşan eradikasyon oranı günümüzde özellikle Klaritromisin direnci nedeni ile %70-80'lere düşmüştür (50). Bu tedavi rejiminde penisilin alerjisi olan hastalarda Amoksisilin yerine Metronidazol kullanılabilir.

2.1.5.2 İkinci basamak tedavi yöntemleri

Birinci basamak tedavi yöntemleri başarısız olduğunda bizmut ya da levofloksasin tabanlı tedavi rejimleri en sık kullanılan kombinasyonlardır. Bizmut tabanlı dördüncü tedavi bizmut, PPI, metronidazol, tetrasiklin'den oluşmaktadır. Bu rejimin birinci basamak tedavide başarısız hasta grubunda başarısı %76 olarak bildirilmiştir (51).

Levofloksasin tedavisi bir başka ikinci basamak tedavi seçeneğidir. 10 günlük levofloksasin tabanlı kullanım ile % 77 etkinlik bildirilmiştir (52). Özellikle penisilin alerjisi olan hastalarda levofloksasin, klaritromisin ve omeprazol kombinasyonu denenebilir. Ancak giderek artan kinolon direnci levofloksasinin H.pylori eradikasyonunda kullanımını kısıtlayacak gibi görünmektedir (53).

2.1.5.3 Üçüncü Basamak - Kurtarma tedavi yöntemleri

Kurtarma tedavileri genellikle deneysel yöntemler olup haklarında henüz net bir sonuç bulunmamaktadır.

Furazolidon, amoksisilin, omeprazol kombinasyonu ile yapılan 10 hastalık çalışmada %60 oranında başarısızlık bildirilmişken furazolidon ve levofloksasin kombinasyonu birinci basamak kullanıldığında eradikasyon oranı %83, dördüncü basamak olarak kullanıldığında ise %57 olarak bulunmuştur (54).

Antitüberküloz bir ajan olan rifabutin, üçüncü basamak tedavide kullanılabilir. Rifabutin, amoksisilin, PPI kombinasyonu ile eradikasyon oranı %79 olarak bildirilmiştir (55).

Bu tedavi yöntemleri dışında özellikle klaritromisin dirençli suşların tedavisinde ardışık tedavi yöntemi de kullanılabilir. Bu tedavi yöntemi ortalama 10 gün sürmekte olup ilk beş gün PPI ve amoksisilin beraber sonraki beş ya da daha fazla gün boyunca tinidazol+omeprazol ile birlikte klaritromisin ya da levofloksasin kullanılmaktadır. Tedavi sonuçları değişken olmakla birlikte %80-96 arasında bildirilmektedir.

Eradikasyon tedavisi alan hastalarda kontrol üre nefes testi, gaitada antijen testi veya üst gastrointestinal sistem endoskopisinde alınan biyopsiler ile yapılabilir. H.pylori tedavisine rağmen dispepsisi devam eden hastalar, H.pylori'nin neden olduğu ülser, MALT lenfomalı hastalar, erken evre mide kanseri olup rezeksiyon yapılan hastalarda eradikasyon kontrolü yapılmalıdır (56).

2.2 TELOMER

2.2.1 Tanım ve Fonksiyonu

İnsanlarda telomerler birbiri ardına tekrarlayan TTAGGG dizileri ve bunlara bağlı Shelterin isimli spesifik proteinlerden oluşan ribonükleoproteinlerdir (57). Telomerler kromozomların son kısımlarında yerleşerek onları egzonükleazların etkisinden, uç uca birleşmelerini engelleyerek genetik stabilitenin korunmasını sağlarlar (58). Telomerler genetik bilgi içermeyen tekrarlardan oluşsalar da transkripsiyona uğradıkları ve oluşan telomerik RNA'nın telomeraz aktivitesini düzenliyor olabileceğine dair veriler mevcuttur (59). Telomerler TPE (telomer pozisyon etkisi) adı verilen yakınlarına yerleşik (subtelomerik bölge) genlerin eksprese edilmelerini geri

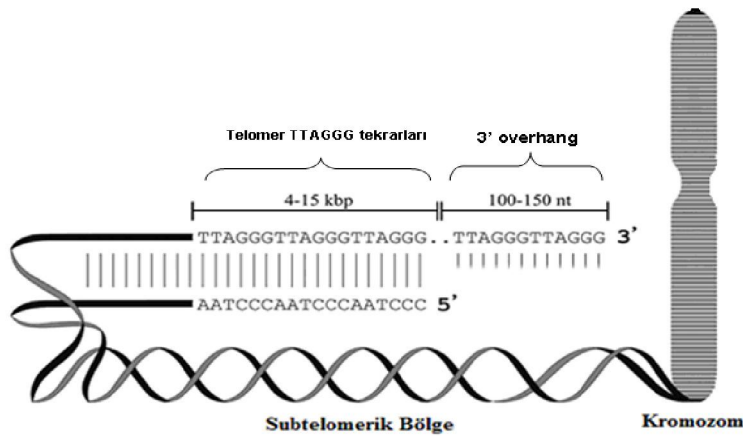
dönüşümlü olarak inhibe edebilmektedirler. Telomer kısalması bu inhibisyon etkisini ortadan kaldıracaktır. Telomerlerin fonksiyonları tablo 3'te belirtilmiştir.

2.2.2 Telomerin yapısı

Telomerik dizilerin tekrar sayısı (uzunluğu) aynı türün bireyleri arasında ve hatta kromozomlar arasında farklılık gösterir (60). İnsanlarda telomer uzunluğu 5-15 kb çifti kadardır. Hücre replikasyonu sırasında DNA polimeraz enziminin kromozom sonlarını tam olarak kopyalayamaması (replikasyon sonu problemi), nükleazlarla olan etkileşim ve diğer yıkıcı faktörler nedeni ile telomerler her hücre bölünmesinde giderek kısalırlar (58). Telomerin yapısı şekil 3'de gösterilmiştir.

Tablo III. Telomerin fonksiyonları ve kısalması sonucu gelişen disfonksiyonu (61)

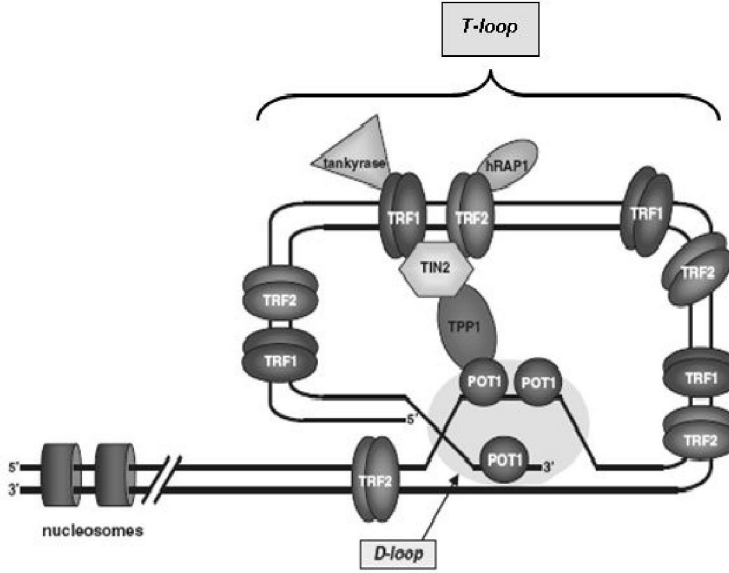
Fonksiyon	Telomer kısalması/disfonksiyonu sonuçları
Subtelomerik bölgedeki genlerin erozyonunun engellenmesi	Hüresel yaşlanma, hücre ölümü, kanserogenez
Telomerin pozisyon etkisi (TPE)	Telomere yakın bölgelerdeki genlerin reaktif olması
Kromozomları uç uca birleşmelerden korunması	Kromozom birleşmeleri, anafaz köprülerinin oluşması
T loop formasyonu ve kromozomların korunması	T loop formasyonunun bozulması nedeni ile p53 aracılıklı hücre yaşlanması ve apoptoz
Mayoz başlangıcında buket formasyonu	Bozulmuş mayoz ve germ hücrelerinin apoptozu



Şekil 3. Telomerin yapısı (Kaynak 63'den modifiye edilerek alınmıştır)

Telomerler 150-200 nükleotid uzunluğunda, G-overhang adı verilen guaninden zengin tek zincirli iplik ile sonlanırlar. Telomeraz enzimi özellikle bu bölgedeki 3'-OH

ucunu tanımakta ve telomeri bu uçtan uzatmaktadır. Tek zincirli G-overhang geriye doğru katlanarak çift zincirli DNA'ya invaze olur ve T loop (telomere loop) adı verilen büyük telomerik ilmiği meydana getirir. T loop formasyonu hem kromozom uçlarını korur hem de telomerazın telomer ile ilişkisi kısıtlanmış olur. G-overhang'ın çift zincirli DNA'ya invaze olduğu yerde D loop (displacement loop) adı verilen ikinci bir ilmek oluşur (şekil 4).



Şekil 4. Telomerin T loop-D loop yapısı (Kaynak 61'ten alınmıştır).

2.2.3 Telomerin Kısalması

1961'e kadar kültüre edilmiş insan hücrelerinin kültür şartları bozulmadığı süreçte sonsuza dek bölünecekleri düşünülmekteydi. 1961'de L.Hayflick, normal insan hücrelerinin sınırlı sayıda bölünebileceğini ortaya koydu. Buna göre akciğer fibroblastları 55 kez, kalp hücreleri 26 kez, böbrek hücreleri 40 ve deri hücreleri 43 kez bölünebiliyorlardı (Hayflick limiti) (61). 1971 ve 1972'de iki ayrı araştırmacı bu limitin mekanizmasını "replikasyon sonu problemi" ile açıkladılar. Buna göre; hücre bölünmesi sırasında DNA çift sarmal yapısı açılarak DNA polimeraz enzimi ile replikasyon gerçekleşmektedir. Ancak bu enzim sadece 5'-3' yönünde replikasyon yapabilmektedir. Bu nedenle 3'-5' yönündeki kalıp DNA zincirinde sentez kesintisiz olarak gerçekleşirken ona ters olarak 5'-3' yönünde yerleşen, tamamlayıcı DNA zinciri RNA primerleri yardımı ile kesintili olarak sentezlenir. Kesintili elde edilen DNA parçaları (Okazaki fragmanları) daha sonra birleştirilir. Ancak son üretilen RNA primeri 5'-3' egzonukleaz ile uzaklaştırıldığında DNA polimeraz enzimi ulaşılabilir 3'-OH grubu bulamadığından nükleotid ekleyemez ve telomerik DNA'nın ucunda küçük

bir bölge kopyalanamayarak telomer kısalmış olur. Replikasyon sonu problemi ile lineer kromozomlara sahip tüm ökaryotlarda hücre yaşamı sınırlanmış olur. Prokaryotlarda ise kromozom yapısı sirküler olup kromozom ucu bulunmadığından kısalma problemi yoktur.

Telomerlerde tipik olarak replikasyon sonu problemi nedeni ile her bölünmede 10 baz çifti kısalma olur. Ancak genellikle gözlenen kısalma bu değerden daha fazla olup 50-200 baz çifti kadardır (62). Buna neden olan ana faktörlerden birinin oksidatif stres olduğu düşünülmektedir (63). Telomerik DNA'nın nontelomerik DNA'ya göre daha fazla guanin içermesinden dolayı oksidatif strese karşı daha duyarlıdır.

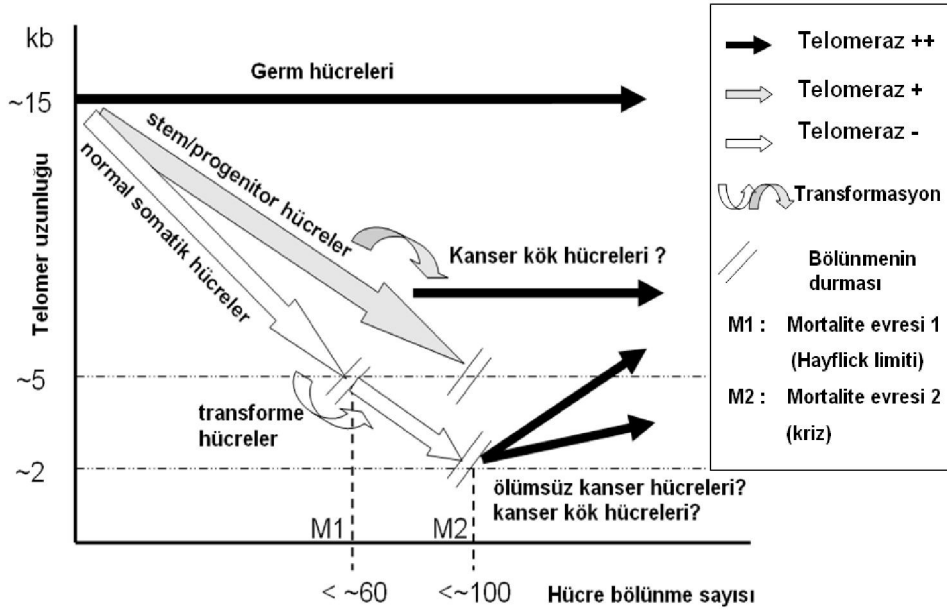
2.2.4 Telomere bağlanan proteinler

Kromozom sonlarında bulunan telomer, Shelterin adı verilen 6 adet proteinle ilişkilidir. Shelterin'ler, telomer uzunluğunun regülasyonunu ve normal kromozom uçlarının DNA kırıklarından ayırt edilerek yanlış tamir işlemlerinden zarar görmelerini engeller. Shelterin proteinler TRF1 (telomere repeat binding factor), TRF2, Tin2 (TRF1-interacting nuclear factor), Rap1 (repressor/activator protein 1), TPP1 ve Pot1 (protection of telomeres)'dir. TRF1 ve TRF2 telomerik DNA'nın çift iplikli kısmına tutunurken, Pot1 G-overhang bölgesindeki TTAGGG tekrarlarına tutunur.

TRF1 delesyonunun farelerde telomer uzunluğunda kısalma ya da telomer korunmasında defekte yol açmadığı gözlenmiştir. Ancak embriyonik ölümlere neden olmaktadır. TRF2, telomerik tek zincirli G overhang bölgesinin parçalanması ve DNA tamir aktivitelerinden korunmasında önemli role sahiptir.

2.2.5 Mortalite Mekanizmaları ve Telomer

M1 (mortalite evresi 1) ve M2 (mortalite evresi 2) olmak üzere 2 mortalite mekanizma evresi vardır. Normal hücrelerin yaşlanmadan kaçışı ve ölümsüz olabilmeleri için bu 2 mekanizmayı alt etmesi gereklidir. Normal hücreler Hayflick limiti de denilen M1 evresinde metabolik olarak aktif olsalar da bölünmeyi bırakırlar. Bu evrenin p16, p53 gibi tümör baskılayıcı genlerin inaktive olarak geçilmesi ile hücre bölünmeye devam edebilir. Ancak hücre bölünmesi M2 evresinde (kriz evresi) tekrar durur. Bu evrede pek çok telomer kritik seviyede kısalmış, kromozomlarda uç uca füzyonlar gelişmiştir. İnsan hücrelerinde M2 evresinden kaçış son derecede nadir olup ancak telomerin devamını sağlayan telomeraz enziminin aktivasyonu ya da upregülasyonu ile gerçekleşir. Daha nadir olarak ise alternatif telomer uzatma (ALT) yöntemleri ile telomerin uzatılması sağlanır. M2 evresini geçen hücreler ölümsüzdür (Şekil 5).



Şekil 5. Hücre bölünmesi ve mortalite evreleri (Kaynak 61'den türkçeleştirilmiştir.).

2.2.6 Telomer Uzatılmasını sağlayan mekanizmalar

2.2.6.1 Telomerez

Telomerez, ribonükleoprotein kompleksi olup çekirdek bölgesinde telomerez reverse transkriptaz enzimi (TERT ya da hTERT), kalıp bölgesinde de DNA'nın uzaması için kullanılan kalıp RNA (telomerez RNA - hTER) içerir. Replikasyon sonu probleminde telomerez enzimi devreye girer ve reverse transkriptaz alt birimi, RNA alt birimini kalıp olarak kullanarak TTAGGG tekrarlarını telomerin G-overhang ucuna ekler. Böylece telomerlerin kısalması önlenerek hücrenin daha fazla bölünmesi sağlanır. Yine bu sayede replikasyon sonu problemine, nükleazların etkisine veya diğer potansiyel DNA hasarı yapan nedenlere karşı koruyucu önlem alınmış olur (64).

Telomerez reverse transkriptaz aktivitesi pek çok insan hücresinde ölümsüzlük için gerekli ön şarttır. Ancak ölümsüzlük için her zaman tek başına yeterli olmayabilir. Telomerez enzim RNA'sı pek çok hücrede reverse transkriptaz aktivitesine bakılmaksızın yapısal olarak bulunur. Bu nedenle reverse transkriptaz seviyesi telomerez aktivitesini kalitatif ve kantitatif olarak ölçmek için kullanılır (61).

Telomerez aktivitesi insan kanserlerinin >%80'inde tespit edilmiştir (65). Genellikle malign lezyonlarda benign lezyonlara göre, ileri evre kanserlerde erken evre kanserlere göre, metastatik hastalıklarda lokal hastalıklara göre, kötü prognozlu

hastalarda iyi prognozlu hastalara göre telomeraz aktivitesi daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum göstermektedir ki tüm insan kanserlerinde hastalığın progresyonunun devamı telomeraz enzimine bağlıdır. Böylece enzim hem tanısal bir belirteç hem de kanser tedavisinde önemli bir hedef molekül haline gelmektedir.

İnsanlarda normal somatik hücrelerde telomeraz aktivitesi ölçülebilecek seviyede değildir. Mevcut enzim aktivitesi de telomer kısalmasını engelleyerek hücre yaşlanmasını engelleyecek düzeyde değildir (57). Ancak bu hücrelerdeki enzim aktivitesi hücre S fazında iken kromozomal yapının devam ettirilmesinde rol oynuyor olabilir (66).

Lenfositlerde, germ hücrelerinde, kendini yenileyebilen dokuların kök/progenitör hücrelerinin pek çoğunda telomeraz aktivitesinin varlığı gösterilmiştir. Bu hücreler yaşam sürelerini uzatarak antijenlere karşı olan immün cevap, kemik iliği, bağırsaklar, cilt gibi organların fonksiyonlarını devam ettirmede rol oynarlar. Ancak bu hücreler bölünmeyi bıraktıklarında ya da farklılaştıklarında telomeraz aktiviteleri kaybolur. Böylece normal somatik hücreler dengeli bir telomeraz aktivitesi ile tümör supressor genlerin kaybı ya da onkogenlerin aktivasyonu olmadan immortal hücrelere dönüşmezler.

2.2.6.1.1 Telomeraz disfonksiyonu

Telomerazı oluşturan yapılarıdaki mutasyon kök hücre disfonksiyonuna neden olur. Bunun sonucunda diskeratozis konjenita, aplastik anemi, idiopatik pulmoner fibrozis gibi hastalıklar ortaya çıkar. Bu hastalıklarda kısa ya da disfonksiyonel telomerler nedeni ile ilgili organda yenilenme kapasitesinde yetmezlik izlenir (57). Hızlanmış telomer kısalmasına bağlı gelişen kök hücre disfonksiyonu telomeraza bağlanan Dyskerin gibi yardımcı proteinlerin mutasyonu ile de gelişebilir. Telomer ilişkili bu hastalıklar göz önüne alındığında insan kanserlerinde telomerazın sadece yarısı inhibe edilebilse kanser hücrelerinin apoptoza zorlanabileceği böylece hastalığın tedavisinde önemli rol oynanabileceği düşünülmektedir (61).

2.2.6.2 Telomerin alternatif uzatma yöntemleri (ALT)

Telomerik DNA'nın her bölünmede giderek kısalması hücre çoğalma kapasitesinin sınırlanması sonucunu doğurur (61). Kanser hücreleri gibi ölümsüz hücreler bu sınırlandırmayı kaldırabilmek için telomer devamlılığını sağlayan aktif yöntemlere ihtiyaç duyarlar. Tümör hücrelerinin pek çoğunda germ ve kök hücrelerinde olduğu

gibi telomeraz enzim kompleksi bulunmaktadır. Ancak kanserlerin %10-15'inde telomeraz bağımsız alternatif telomer uzatma yöntemleri kullanılmaktadır (67).

Telomer uzunluğu insan germ hücrelerinde telomeraz aktivitesi sayesinde ~15 kb civarında tutulmaktadır. Kültüre edilmiş insan somatik hücrelerinde ise hücre bölünmesi ile telomer uzunluğu giderek kısalmakta 5-8 kb'lik uzunluğa düştüğünde (terminal restriction fragment-TRF) hücre yaşlanma durumuna ulaşılmaktadır. Bu dönemde hücre metabolik olarak aktif olsa da bölünmeyi durdurmaktadır (68). Ölümsüz hücreler ise telomeraz aktivitesi ya da ALT ile bu kısıtlamadan kurtulurlar. ALT'yi kullanan tümör hücrelerinde telomer uzunluğu, telomeraz aktivitesi gösteren hücrelerin homojen telomer uzunluğundan (genellikle < 10 kb) farklı olarak oldukça heterojen olup çok kısa (< 3 kb) ya da çok uzun (>50 kb) olabilmektedir (69).

ALT pozitif tümör ya da ölümsüz hücre serileri telomeraz aktivitesi olmasa bile pek çok hücre bölünmesinde telomer uzunluğunu devam ettirebilme yeteneğine sahiptirler. ALT hücrelerinin telomerleri normal telomerler gibi G-overhang bulunan çift iplikli TTAGGG tekrarları, Shelterin kompleksleri, T loop formasyonu gibi özelliklere sahiptirler.

ALT pozitif hücrelerin bu özelliklerinin yanı sıra kendilerine has bazı özellikleri de mevcuttur. Bunların en göze çarpanı bol miktarda, kromozomdan ayrı olarak bulunan telomerik DNA dizilerinin bulunmasıdır. Bu ekstra kromozomal telomerik DNA dizileri hücre içerisinde çift iplikli telomerik çemberler (t-circles), kısmi tek zincirli çemberler (C-circles), çizgisel çift iplikli DNA ve yüksek moleküler ağırlıklı t kompleks DNA olarak isimlendirilen formlar halinde bulunurlar (70).

ALT'nin yukarıda bahsedilen fenotipik özellikleri hücre dizilerinin ALT'ye sahip olup olmadıklarını ayırt etmede önemli rol oynar. Elimizdeki verilere göre ALT varlığını en iyi gösteren parametre C-circle'dir. Ayrıca C-circle'nin kantitatif değeri ile ALT aktivitesinin miktarı arasında ilişki var gibi görünmektedir (71).

ALT mekanizmaları hakkındaki genel kanı rekombinasyona dayandığı yönündedir. Elimizdeki en iyi ALT aktivite modeli; tek iplikli telomer ucunun çift iplikli DNA'ya invaze olması ya da tek iplikli telomerik DNA'ya pozisyon vererek onu yeni telomerik DNA'nın kalıbı olarak kullanması ve kendini uzatmasıdır. Kopya kalıbı aynı telomer olabilir (t loop formasyonu aracılığı ile) veya kardeş kromatid ya da başka bir kromozom telomeri olabilir veya ekstra kromozomal telomer formlarından biri olabilir.

ALT aktivitesi için gereken proteinler DNA rekombinasyonu ve tamir fonksiyonları içinde gerektiğinden normal hücrelerde de bulunmaktadır. Normal hücrelerin telomerlerini ALT aktivitesinden nasıl korudukları bilinmemektedir. Ancak

somatik hücre hibridizasyon çalışmalarında ALT aktivasyonu için bir ya da daha fazla baskılayıcı fonksiyonun kaybının gerektiğini göstermiştir. Bu baskılayıcı özelliklerden en önemlisi ve en sık rastlanılanı p53 gen mutasyonudur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Hasta seçimi ve tedavi

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda Şubat 2009 – Eylül 2011 tarihleri arasında yapıldı. Çalışmaya 50 hasta alındı. H.pylori negatif olan 20 hasta kontrol grubu, H.pylori pozitif olan 30 hasta çalışma grubu olarak sınıflandı. Çalışmaya alınma ve dışlanma kriterleri sırayla Tablo 4 ve 5'te belirtilmiştir.

Tablo IV. Çalışmaya alınma kriterleri

-
- 18-65 yaş aralığında olmak
 - Dispepsi nedeniyle üst gastrointestinal sistem endoskopisi istenen ve H.pylori enfeksiyonu saptanan hastalar
-

Tablo V. Çalışmadan dışlanma kriterleri

-
- Kullanılan kimyasallar 18 yaş altı, 65 yaş üzeri olmak
 - Kronik hastalığı olmak (Diabetes mellitus, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, hipertansiyon, kronik böbrek yetmezliği gibi)
 - Son 4 hafta içinde nonsteroid inflamatuvar ilaç, antibiyotik, proton pompa inhibitörü ya da H2 reseptör blokeri, sukralfat, kolestramin, prokinetik ajan kullanmak
 - Sigara kullanımı
 - Kanser
-

Eradikasyon grubu dispepsi nedeni ile üst GİS endoskopisi istenen ve H.pylori pozitif saptanan, eradikasyon tedavisi olarak H.pylori negatif hale gelen hastalar olarak tanımlandı.

Kontrol grubu dispepsi nedeni ile üst GİS endoskopisi istenen ve H.pylori negatif hastalar olarak tanımlandı.

Tüm hastalara gönüllü onam formu imzalatıldı.

Üst GİS endoskopisi en az 8 saatlik açlığı takiben Olympus Exera CV-160 video endoskop kullanılarak tek hekim tarafından yapıldı. İşlemden hemen önce orofarinkse lidokain sprey ile topikal anestezi uygulandı. İşlem sırasında saptanan endoskopik bulgular Sydney sınıflamasına uygun olarak kayıt edildi.

Hastalarda H.pylori tanısı; prepilorik antrum, incisura angularis ve antrum proksimali büyük kurvatura tarafından alınan punch biyopsilerinin üniversitemiz Mikrobiyoloji Bölümü tarafından hazırlanan hızlı üreaz testi ile konuldu.

Telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi için örnekler antrumdan dört kadran, 6 adet punch biyopsi alınarak %0,9 NaCl içerisinde laboratuara gönderildi. Burada 3000xg'de 5 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı, kalan doku örnekleri çalışılincaya kadar -80 °C'de saklandı.

H.pylori pozitif saptanan hastalara eradikasyon tedavisi olarak Tablo 6'daki tedavi protokollerinden biri verildi. Tedavi bitiminden 4 hafta sonra eradikasyon kontrolü ve telomer uzunluğu-telomeraz aktivitesindeki değişim için endoskopi tekrarı yapıldı. Tedavi protokolleri seçilirken hastanın daha önce eradikasyon amacıyla tedavi kullanma öyküsü, kullandı ise yan etki durumu göz önünde tutuldu. Daha önce klaritromisin içeren tedavi alan hastalara metronidazol içeren protokol uygulandı.

Tablo VI. Tedavi protokolleri

-
- Amoksisilin 2x1gr/gün + Klaritromisin 2x500 mg/gün + Lansoprazol 2x30 mg/gün (14 gün)
 - Tetrasiklin 4x 500 mg + Metronidazol 4x500 mg + Lansoprazol 2x30 mg + Bizmut 4x300 mg (14 gün)
-

3.2 Kullanılan Araç ve Gereçler:

1. LightCycler (Seri no: 1400879, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
2. Laminar-flow (Nuaire, Model No: Nu-425-400E)
3. Spektrofotometre (IMPLEN NanoPhotometer, Seri no: 1271,U.K.)
4. High Pure PCR template preparation kit (Cat no. 11796828001, Roche Diagnostics GmbH, Penzberg, Germany)
5. LightCycler-Control Kit DNA (Cat no. 2158833, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
6. TeloTAGGG telomere length assay kit (Cat no. 12209136001, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
7. TeloTAGGG Telomerase PCR ELISA (Cat no: 11854666910, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany)
8. Thermal cycler 2720 (Seri No:272S6052505, Applied Biosystems, USA)

3.3 Kullanılan Kimyasallar

1. SYBR Green I (Sigma-Aldrich, S9430)
2. Human Beta Globin forward ve reverse primer (19/20 b) primer çifti (Sentez no:370999/371000,Alpha DNA, Montreal, Canada 10 µM)

3. Human Beta Globin LNA Taqman probe seti (UPL17,Cat No:04686900001,Roche Diagnostics GmbH Mannheim,Germany)
4. Telomer forward primer (Iontek 100 µM)
5. Telomer reverse primer (Iontek 50 µM)

3.4 Dokulardan DNA İzolasyonu

-80 °C' de saklanan dokular çözünmeden yaklaşık 25-50 mg tartılarak sıvı azot gazı ile pulverize edildi. Pulverize edilen dokular eppendorf tüplerine aktarıldı. Pulverize edilen numunelerden protein miktar tayini yapıldı. Protein miktarının tespit edilmesinden sonra 10 µg/µL ve daha fazla protein içeren örneklerde High Pure PCR template preparation kit kullanılarak doku prosedürüne göre DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA'lar deney yapılana kadar -80 °C' de saklandı. Protein miktarı daha az olan örnekler çalışma dışı bırakıldı.

3.5 Kantitatif Real-Time PCR Metodunun Uygulanması

3.5.1. Telomer Primerlerinin Belirlenmesi

Çalışmada Richard Cawthon tarafından tasarlanan telomer primer seti kullanıldı (72).

Kullanılan telomer primer seti:

Telomer-forward:

5'-CGGTTTGTGGTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTTTGGGTT-3'

Telomer-reverse:

5'-GGCTTGCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCTTACCCT-3'

3.5.2. Standartların Hazırlanması

LightCycler-Control Kit DNA'da bulunan 15µg/mL konsantrasyondaki insan genomik DNA dilüe edilerek standartlar hazırlandı.

3.5.3. Beta Globin PCR Çalışması

Beta globin çalışması için LightCycler Control Kit DNA kullanıldı.

Beta globin standartları 15 µg/mL insan genomu kullanılarak dilüsyonla aşağıdaki konsantrasyonlarda hazırlandı.

Standart 1= 15000 pg (5000 kopya) / µL

Standart 2= 1500 pg (500 kopya) / µL

Standart 3= 150 pg (50 kopya) / µL

Standart 4= 15 pg (5 kopya) / µL

Standart 5= 1,5 pg (0,5 kopya) / µL

Bu standart ve numuneler LightCycler-Control Kit DNA ve LightCycler PCR cihazı ile çalışıldı.

3.5.4. Numunelerde Telomer PCR çalışılması

Telomer forward ve Telomer reverse primerleri (Iontek) 10 µM olarak hazırlandı.

Numuneler tablo 7'ye uygun olarak hazırlanıp PCR tüpüne konuldu. Daha sonra LightCycler'a yerleştirilip tablo 8'deki protokol uygulandı.

Tablo VII. Numunelerin PCR çalışmasına hazırlanması

Madde	Volüm	Başlangıç konsantrasyon	Final konsantrasyon
Su, PCR-grade (vial 2)	5,8 µL		
Beta globin –Prim forw	1 µL	10 µM	0,5 µM
Beta globin –Prim rev	1 µL	10 µM	0,5 µM
LNA Hydrolysis Probe	0,2 µL	10 µM	0,1 µM
LC 480 Probe Master	10 µL	2X	1X
DNA kalıbı	2 µL		

Her numune için, telomer PCR çalışması sonucunda elde edilen ürün, beta globin PCR çalışması sonucunda elde edilen ürüne oranlanarak numuneler normalize edildi. Burada beta globin, tek kopya gen (single copy gene) olarak kullanıldı. PCR verimliliği %100 kabul edildiğinde telomer/single copy gene (T/S) oranı şu şekilde formülize edilmektedir:

$$2^{Ct(\text{telomer})} / 2^{Ct(\text{beta globin})} = 2^{[Ct(\text{telomer})-Ct(\text{beta globin})]} = 2^{\Delta Ct}$$

Beta globin PCR çalışması sonucunda elde edilen ürünlerin C_T değeri, telomer PCR çalışması sonucunda elde edilen ürünlerin C_T değerinden ve kalibratör telomer standartlarının (3,9 kb, 7,4kb, 10,2 kb) C_T değerlerinden çıkarılarak ΔC_T değerleri bulundu. Daha sonra kalibratör telomer standartları ve onların ΔC_T değerleri kullanılarak MedCalc 3000 v11.4 programı ile aşağıdaki formül elde edildi:

$$\text{“Telomer uzunluğu} = -51,1356 + 50,9158 * \text{LOG}_{10}(-\Delta C_T)\text{”}$$

Bu formül ile her bir örneğin ΔC_T değerleri kullanılarak telomer uzunlukları kb cinsinden ayrı ayrı hesaplandı.

Tablo VIII. LightCycler PCR cihazında çalışma protokolü

Telomer uzunluğu için uygulama programı						
Programın adı	Hedef sıcaklık (°C)	Kazanma modu	Süre	Ramp rate (°C/sn)	Siklus	Analiz modu
Preinkübasyon	95	Yok	10 dk	4,4	1	Yok
Amplifikasyon	95	Yok	15 sn	4,4	25	Kantifikasyon
	60	Yok	10 sn	2,2		
	72	Tek	30 sn	4,4		
Soğutma	40	Yok	10 sn	1,5	1	Yok

3.6 Telomeraz aktivitesinin PCR ELISA ile çalışılması

3.6.1 Dokudan hücre ekstraktı hazırlama

-80 °C' de saklanan dokular çözünmeden yaklaşık 25-50 mg tartılarak sıvı azot gazı ile pulverize edildi. Pulverize edilen dokular eppendorf tüplerine aktarıldı. Pulverize edilen numunelerden protein miktar tayini yapıldı. 10 µg/µL ve daha fazla protein içeren örnekler lysis buffer içeren homojenizasyon tüpüne transfer edildi. Homojenizasyon sonrası buz üzerinde 30 dakika inkübe edilip oluşan lizat +4 °C'de 20 dakika 16000xg'de santrifüje edildi. Süpernatant başka bir tüpe aktarıldı ve donduruldu.

3.6.2 Negatif kontrol hazırlanması

Dokudan elde edilen supernatant +85 derecede 10 dakika inkübe edilerek telomeraz proteini inaktive edildi ve negatif kontrol elde edilmiş oldu.

3.6.3 Pozitif kontrol hazırlanması

Dokudan elde edilen supernatant 20 µl distile su ile buz üzerinde çözülerek karıştırıldı. Çözünmüş solüsyon alıquotlanarak saklandı ve reaksiyon başına 3 µl kullanıldı.

3.6.4 Telomeric Repeat Amplification Protocol (TRAP)

Numune, negatif ve pozitif kontrolleri 3 µl olacak şekilde PCR tüpüne konuldu, 50 µl'ye tamamlayacak miktarda distile su eklenerek thermal cycler'a yerleştirilip tablo 9'deki protokol uygulandı.

Tablo IX. Thermal cycler protokolü

Basamak	Süre	Sıcaklık	Siklus
Primer elongasyon	10-30 dk	25 °C	1
Telomeraz inaktivasyonu	5 dk	94 °C	1
Denatürasyon	30 sn	94 °C	1-30
Annealing	30 sn	50 °C	1-30
Polimerizasyon	90 sn	72 °C	1-30
Final elongasyon	10 dk	72 °C	1
Soğutma	1 dk	4 °C	1

3.6.5 Hibridizasyon ve ELISA protokolü

- Nükleaz free eppendorf tüpüne her bir numune için 20 µl denaturation reagent konuldu.
- Amplifiye edilmiş numuneden 5 µl eklenerek +15 - +25 °C'de 10 dk inkübe edildi.
- 225 µl hibridizasyon buffer eklendikten sonra vortekslendi.
- Kaplanmış mikropate'e karışımdan 100 µl eklenerek buharlaşmayı önlemek için folyo ile kapatıldı.
- Mikropate 37 °C'de shaker üzerinde 300 rpm'de 2 saat boyunca inkübe edildi.
- Hibridizasyon buffer tamamen boşaltılarak plate 250 µl washing buffer ile 3 kez yıkandı.
- Her bir kuyucuğa Anti-DIG POD working solüsyondan 100 µl konuldu. Plate folyo ile kaplandıktan sonra +15 - +25 °C'de shaker üzerinde 300 rpm'de 30 dk inkübe edildi.
- Solüsyon tamamen boşaltılıp plate 250 µl washing buffer ile 5 kez yıkandı.
- Oda sıcaklığına gelmiş olan TMB substrate solüsyonundan her bir kuyucuğa 100 µl konuldu.
- Mikropate +15 - +25 °C'de shaker üzerinde 300 rpm'de 10-20 dk boyunca inkübe edildi.

- Her bir kuyucuğa 100 µl stop reagent eklendi.

Stop reagent eklendikten sonra 30 dk içinde 450 nm'de ve referans dalga boyu olan 690 nm'deki absorbans değerleri spektrofotometrede okutuldu. 450 nm'deki absorbans değerinden 690nm'deki absorbans değeri çıkarılarak her bir numune için ΔA değeri bulundu. ΔA değeri $>0,2$ olan numuneler telomeraz enzim aktivitesi pozitif olarak kabul edildi.

3.7 Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi

Verilerin istatistiksel değerlendirilmesi Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı tarafından SPSS 13.0 paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadıklarına bakıldıktan sonra; normal dağılım gösteren veriler için gruplar arası karşılaştırmada student-t testi, normal dağılım göstermeyenler için Mann Whitney-U testi kullanıldı. Kategorik özellik taşıyan veriler için ki-kare testi kullanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişki Spearman'ın korelasyon katsayısı hesaplanarak değerlendirildi. İstatistiksel anlamlılık $p < 0,05$ olduğunda kabul edildi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma olarak verildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya katılan hasta örneklerinde telomeraz enzim aktivitesinin ölçümünde yeterli protein miktarı (<10µg/µL) saptanamayan kontrol grubundan 3, çalışma grubundan 9 hastanın örnekleri çalışma dışı bırakıldı. Sonuçta kontrol grubundan 17, hasta grubundan 21 hastanın örneklerinde telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesi çalışılabilir.

Kontrol grubu yaş ortalaması 37,9 ± 10,8 yıl (24-58 yıl), hasta grubu yaş ortalaması 41,8 ± 14,6 yıl (20-69 yıl) olup gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,37) (Tablo X).

Kontrol grubunun 6'sı erkek (%35,3), 11'i kadın (%64,7) idi. Hasta grubunun 12'si kadın (%57,1), 9'u erkek (%42,9) idi. Gruplar arasında cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (p=0,31) (Tablo X).

Tablo X. Çalışma gruplarının demografik özellikleri

Özellik	Hasta grubu	Kontrol grubu	p
Yaş (Ortalama ±SD, yıl)	37,4±10,8	41,8±14,6	0,37
Cinsiyet (n,%)	Kadın	6 (35,3)	0,31
	Erkek	11 (64,7)	

Kontrol grubu ve hasta grubunda H.pylori varlığı tüm hastalarda hızlı üreaz testi ile gösterildi. Hasta grubunda eradikasyon sonrası H.pylori varlığı hızlı üreaz testi ile kontrol edildi ve hepsinde negatifti.

Kontrol grubunda 7 hastada histopatolojik inceleme için antral biyopsi alınmıştı. Bu hastaların histopatolojik değerlendirilmesi tablo XI' da belirtilmiştir.

Tablo XI. Kontrol grubunda biyopsi alınan hastaların histopatolojik incelemesi

Hasta no	Kronik inflamasyon	Nötrofil aktivitesi	Glandüler atrofi	İntestinal metaplazi	H.pylori
1	+	-	-	-	-
2	++	-	+	-	-
3	+++	-	++	-	-
4	++	+	+	-	-
5	++	-	+	-	-
6	++	+	+	-	-
7	+	-	-	-	-

Hasta grubunda 13 hastada eradikasyon öncesi ve sonrasında antrumdan histopatolojik inceleme için antral biyopsi alınmıştı. Bu hastaların histopatolojik değerlendirilmesi tablo XII' de belirtilmiştir.

Tablo XII. Hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrası biyopsi alınan hastaların histopatolojik incelemesi

Hasta no	Kronik inflamasyon Eö/Es*	Nötrofil aktivitesi Eö/Es*	Glandüler atrofi Eö/Es*	İntestinal metaplazi Eö/Es*	H.pylori Eö/Es*
8**	++ / +	- / -	+ / +	- / -	+ / -
9**	++ / +	+ / +	+ / +	- / -	+ / -
10	++ / ++	++ / -	++ / ++	+ / -	++ / -
11**	+ / +	+ / -	+ / +	- / -	+ / -
12**	++ / +	++ / -	+ / +	- / -	++ / -
13**	+++ / +	+++ / -	++ / +	+ / -	++ / -
14**	++ / +	++ / -	++ / +	- / -	++ / -
15**	++ / ++	+++ / -	+ / +	- / -	+++ / -
16	++ / ++	++ / -	+ / +	- / -	++ / -
17**	++ / +	+ / +	++ / +	+ / -	+ / -
18	+ / ++	++ / +	++ / +	- / +	+++ / -
19**	+ / ++	- / -	+ / +	- / -	++ / -
20	++ / ++	+ / +	+ / +	+ / +	+ / -

* Eö/Es: Eradikasyon öncesi / Eradikasyon sonrası

** Telomer uzunluğu, telomeraz aktivitesi bakılabilen hastalar

Kontrol grubundaki hastaların hiçbiri daha önce H.pylori için eradikasyon tedavisi almamıştı.

Hasta grubundaki 21 hastanın 19'una Amoksisilin + Klaritromisin + Lansoprozol tedavi rejimi verildi. 2/19 hastada (%10,5) Amoksisilin + Klaritromisin + Lansoprozol tedavisinde başarısız olduğundan Tetrasiklin + Metronidazol + PPI tedavisi verildi. Hasta grubundaki 2 hastaya başka merkez tarafından daha önce Amoksisilin + Klaritromisin + Lansoprozol tedavisi verilmişti. Bu hastaların hepsine 14 gün boyunca Tetrasiklin + Metronidazol + PPI tedavisi sonrası 4 hafta PPI tedavisi verildi.

Kontrol grubunda telomer uzunluğu $2958,9 \pm 1345,7$ baz çifti olarak bulundu. Hasta grubunda eradikasyon öncesi telomer uzunluğu $2481,2 \pm 1823,0$ baz çifti

olarak bulundu. Kontrol grubu ile hasta grubunun eradikasyon öncesi telomer uzunluğu arasında sayısal olarak fark olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p=0,11$) (Tablo XIII).

Hasta grubunda eradikasyon sonrası telomer uzunluğu $3766,3 \pm 1608,8$ baz çifti olarak bulundu. Hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrası telomer uzunlukları karşılaştırıldığında eradikasyon sonrası telomer uzunluğunun istatistiksel olarak anlamlı derecede daha uzun olduğu saptandı ($p=0,01$) (Tablo XIII).

Tablo XIII. Çalışma grubu telomer uzunlukları, telomeraz aktiviteleri

Özellik	Hasta grubu		Kontrol grubu	P
	Tedavi Öncesi Ortalama \pm SD, bp	Tedavi Sonrası Ortalama \pm SD, bp		
Telomer Uzunluğu	2481,2 \pm 1823,0	3766,3 \pm 1608,8	2958,0 \pm 1345,7	0,11* 0,01**
Telomeraz Aktivitesi	Negatif	Negatif	Negatif	-

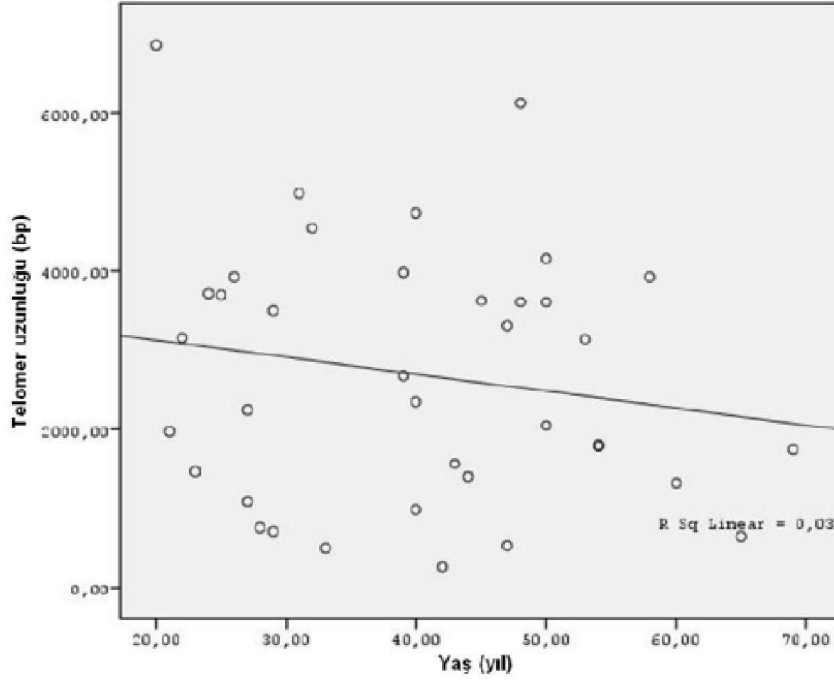
*: Hasta grubu tedavi öncesi dönem ile kontrol grubu telomer uzunluklarının karşılaştırılması

** : Hasta grubu içerisinde tedavi öncesi ve tedavi sonrası döneme ait telomer uzunluklarının karşılaştırılması

Telomer uzunluğu ile hastaların yaşları arasındaki ilişki incelendiğinde negatif korelasyon saptansa da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($r= -0,172$, $p>0,05$) (Şekil 6).

Hasta grubunda tedavi öncesi dönemde telomer uzunluğu ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır (erkeklerde $2721,3 \pm 2003,44$, kadınlarda $2161,1 \pm 1608,6$, $p>0,05$).

Çalışma grubunda histopatolojik değerlendirmesi yapılan ve telomer uzunluğu çalışılabilen 16 hastanın mikroskopik özelliklerine göre telomer uzunlukları değerlendirilmiştir. İstatistiksel değerlendirme yapılabilen özellikler ile telomer uzunluğu arasında anlamlı ilişki saptanmamıştır (Tablo XIV).



Şekil 6. Telomer uzunluğu ve yaş arasındaki ilişki

Tablo XIV. Hasta grubu (tedavi öncesi dönem) ve kontrol grubunun histopatolojik bulgulara göre telomer uzunluklarının karşılaştırılması

Özellik		Hasta grubu Ortalama ± SD, bp	Kontrol grubu Ortalama ± SD, bp	P
Kronik inflamasyon	Var	2452,4 ± 1115,7	3581,4 ± 663,9	0,59
	Yok	-	-	-
Nötrofil aktivitesi	Var	2650,6 ± 1123,1	3811,5 ± 156,4	0,22
	Yok	1461,5	3182,62 ± 952,6	*
Glandüler atrofi	Var	2452,4 ± 1115,7	3514,0 ± 826,4	0,11
	Yok	-	2983,1 ± 1041,4	**
İntestinal metaplazi	Var	2585,1 ± 1444,3	-	***
	Yok	2386,1 ± 1166,9	3362,3 ± 838,5	0,13
H.pylori	Var	2452,4 ± 1115,7	-	***
	Yok	-	3362,3 ± 838,5	**

* : Hasta grubunda 1 hasta olduğu için karşılaştırma yapılmadı.

** : Hasta grubunda hasta olmadığı için karşılaştırma yapılamadı

*** : Kontrol grubunda hasta olmadığı için karşılaştırma yapılmadı.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Telomerler kromozomların son kısımlarında yerleşerek onları egzonükleazların etkisinden, uç uca birleşmelerinden koruyan ve TTAGGG dizi tekrarlarından oluşan ribonükleoproteinlerdir (58). Telomerik TTAGGG dizilerinin tekrarlama sayısı (uzunluğu) kromozomlar ve aynı türün bireyleri arasında farklılık gösterse de insanlarda 5-15 kb civarındadır (60). Telomerler hücre replikasyonu sırasında DNA polimeraz enziminden kaynaklanan replikasyon sonu problemi nedeni ve nükleazlarla olan etkileşim nedeni ile her bölünmede yaklaşık 10 baz çifti kısalma olur. Ancak genellikle gözlenen kısalma bu değerden daha fazla olup 50-200 baz çifti kadardır (62). Buna neden olan ana faktörlerden biri oksidatif streştir (63). Telomerik DNA'nın nontelomerik DNA'ya göre daha fazla guanin içermesinden dolayı oksidatif strese karşı daha duyarlı olduğu düşünülmektedir (73).

H.pylori ile enfekte kişilerin mukozal örneklerinde artmış reaktif oksijen türleri (ROT) ve reaktif nitrozamin türleri (RNT) saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda H.pylori ile enfekte kişilerin mide mukoza örneklerinde bakteri yükü ile ROT üretimi arasında pozitif ilişki olduğu gösterilmiştir (74,75). Enfekte mide mukozasında artmış olan ROT/RNT üretiminin muhtemel kaynakları nötrofiller, vasküler endotelial hücreler, mide mukoza hücreleri ve H.pylori'nin kendisi olabilir. Ancak ana kaynağın nötrofiller olduğu düşünülmektedir (76).

Farkas ve arkadaşlarının çalışmasında H.pylori ile enfekte mide antrum epitelial hücrelerinde süperoksit dismutaz enzim aktivitesinin belirgin arttığı ve tedavi sonrasında enzim aktivitesinin anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir (77). Nagata ve arkadaşları H.pylori'nin kendisinin de O_2^- üretebildiğini göstermişlerdir. Bu üretimin mitokondriden elektron taşıma sistemi sırasında sızan elektronlarla olduğu düşünülmektedir (78).

Ding ve arkadaşlarının hücre kültürleri ve insanlarda yaptıkları bir başka çalışmada H.pylori ile enfekte mide mukoza hücrelerinde enfekte olmayan gruba göre hücre içi ROT miktarının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada cag PAI pozitif H.pylori ile enfekte hücrelerde hücre içi ROT miktarının cag PAI negatif H.pylori ile enfekte hücrelere göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (79).

Dülger ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada H.pylori pozitif hastaların total oksidan durumu, oksidatif stres indeksi ve periferik lenfosit DNA hasarı H.pylori negatif hasta grubuna göre daha yüksek olarak bulunmuştur. Bakterinin eradikasyonu sonrası aynı parametrelerin eradikasyon öncesi duruma göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (80). Nazlıgül ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise

H.pylori pozitif hastalarda eradikasyon sonrası serum myeloperoksidaz düzeyinde anlamlı azalma tespit edilmiştir (81).

ROT'lar (özellikle hidroksil radikalleri) DNA tek zincirinde kırıklara neden olmaktadır. Genomik DNA'nın aksine telomerik DNA'nın tek zincir kırıklarını tamir etmede yetersiz olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle telomerler ROT birikimine özellikle hassastırlar. Ayrıca telomerik DNA'da oksidatif strese bağlı hasarların tamiri diğer genomik DNA'ya göre daha yavaştır. Petersen ve arkadaşlarının yaptığı fibroblast çalışmalarında oksidatif strese bağlı minisatellitlerdeki tek zincir kırıklarının 1 günde iyileştiği, ancak telomer kırıklarının daha uzun sürede ve eksik olarak tamir edildiği gösterilmiştir (82).

Kinouchi ve arkadaşlarının ülseratif kolitli hastalarda yaptıkları çalışmada etkilenen mukozadaki telomer uzunluğunun normal mukozaya göre kısaldığı gösterilmiştir (83).

Biz çalışmamızda H.pylori pozitif olan hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrası telomer uzunluklarını karşılaştırdığımızda, eradikasyon sonrasında telomer uzunluklarının anlamlı derecede arttığını bulduk. Eradikasyon ile telomer uzunluğundaki değişimin 9 hastanın mukozal örneklerinin histopatolojik incelemesi ile elde edilen parametrelerle ilişkisine baktığımızda, hasta sayısının azlığı nedeni ile güvenilir bir ilişki varlığı ya da yokluğunu söyleyememekteyiz. Ancak biz bu artışın H.pylori'nin eradikasyonu ile mukozal oksidatif stresin azalmasına bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Kuniyashu ve arkadaşlarının Southern blotting yöntemi ile telomer volümüne baktığı çalışmada mukoza metaplazik olsun ya da olmasın, H.pylori ile enfekte olan grupta enfekte olmayan gruba göre telomer volümü anlamlı olarak daha kısa bulunmuştur (84).

Liu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada periferik lenfositlerde kantitatif PCR ile telomer uzunluğuna bakılmış ve hem mide kanserli vakalarda hem de kontrol grubunda H.pylori varlığının, periferik lenfosit telomer uzunluğunda istatistiksel olarak anlamlı değişikliğe yol açmadığı gösterilmiştir (85).

Craig ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada dot blot hibridizasyon ile telomerik oranlara bakılmış ve H.pylori ile enfeksiyonun ya da enfeksiyonu daha önce geçirmiş olmanın mide mukozasında telomer oranını istatistiksel olarak etkilemediği gösterilmiştir (86).

Biz çalışmamızda kontrol grubu ile hasta grubunun eradikasyon öncesi telomer uzunluğu arasında sayısal olarak fark olsa da istatistiksel olarak anlamlı fark

bulamadık. Bunun nedeni her iki grupta da telomer uzunluğunu arttıracak telomeraz aktivitesinin olmaması olabilir. Ayrıca çalışmaya alınan hasta sayısının az olmasının da sonucu etkilediğini düşünmekteyiz.

Lan ve arkadaşlarının çalışmasında insitu hibridizasyon yöntemi ile hTERT aktivitesine bakılmış ve kronik gastriti olan H.pylori pozitif 63 hasta ve H.pylori negatif 25 hastanın hiçbirinde enzim aktivitesi bulunamamıştır. Yine aynı çalışmada intestinal metaplazisi olan H.pylori pozitif 48 hasta ve H.pylori negatif olan 23 hastanın toplamda 5'inde hTERT aktivitesi saptanmıştır. H.pylori pozitif olan gruba negatif olan grup arasında enzim aktivitesi açısından fark bulunmamıştır. Mide kanseri olan H.pylori pozitif 48 hasta ve H.pylori negatif 36 hastanın 77'sinde (sırasıyla 47/48'e karşın 30/36 hasta) hTERT aktivitesi saptanmış olup H.pylori pozitif grupta negatif olan gruba göre anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (87).

Maruyama ve arkadaşlarının TRAP protokolü ile telomeraz aktivitesini araştırdıkları çalışmada normal mide mukozasında telomeraz aktivitesi saptanmamışken mide kanseri olan vakaların %89'unda (8/9 hasta) telomeraz aktivitesi saptanmıştır (88).

Kameshima ve arkadaşlarının çalışmasında mide mukozasında PCR tabanlı TRAP yöntemi ile telomeraz aktivitesine bakılmış ve kronik gastriti olan H.pylori pozitif ve negatif hastalar arasında enzim aktivitesi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamamıştır. Ancak intestinal metaplazisi olan H.pylori pozitif ve negatif hastalar arasında telomeraz aktivitesine bakıldığında, pozitif grupta istatistiksel olarak anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (89).

Yang ve arkadaşlarının çalışmasında TRAP yöntemi ile normal mide mukozasında telomeraz aktivitesi saptanamamıştır. Ancak atrofik gastrit bulunan hastalarda %24.6, intestinal metaplazisi olan hastalarda %33.3, displazisi olan hastalarda %37.5, mide kanseri olan hastaların %92,3'ünde telomeraz aktivitesi saptanmıştır (90).

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada PCR-ELISA yöntemi ile telomeraz enzim aktivitesine bakılmış ve kronik yüzeysel gastriti bulunan hastalarda enzim aktivitesi saptanmamıştır. Ancak mide kanseri olan hastaların %87.6, kronik atrofik gastriti olan hastaların %63.8, displazisi olan hastaların %64.2'sinde telomeraz aktivitesine rastlanmıştır (91).

Biz çalışmamızda kontrol grubunda, H.pylori ile enfekte hasta grubunda eradikasyon öncesi ve sonrasında PCR-ELISA yöntemi ile telomeraz enzim aktivitesini negatif olarak tespit ettik.

Ülkemizde 2002-2003 yıllarında yapılan çalışmalarda H.pylori eradikasyon oranları %56,5–76,4 aralığında bildirilmiştir (92). Çalışmamızda Amoksisilin+ Klaritromisin+PPI ile eradikasyon oranını %89,5 (17/19 hasta) olarak tespit ettik. Ancak çalışmamızda sadece ikinci kez özofagogastroduodenoskopi yapılarak eradikasyon kontrolü yapılan hastalar çalışmaya alınmış olup hasta sayısı azdır. Bu nedenle eradikasyon oranının ülkemiz ortalamalarından daha yüksek çıktığını düşünüyoruz.

H.pylori ile mide mukoza enfeksiyonu kronik inflamasyona yol açmakta ve bunu sonucunda ülser, metaplazi, kanser gibi komplikasyonlar görülebilmektedir. Günümüzde H.pylori ile mide kanseri gelişimi patogenezi tam olarak ortaya konulmasa da telomer uzunluğu ve telomeraz aktivitesindeki değişimler preneoplastik ve kanserli dokuda gösterilmiştir. Bu değişimler kanser gelişiminde bir basamak ya da neden olarak görülmektedir. Çalışmamızda bakterinin eradikasyonu sağlandığında telomer uzunluğunun arttığı gösterilmiştir. Bu bulgu mide kanseri gelişiminin önlenmesinde H.pylori eradikasyonunun önemine işaret etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Suerbaum S, Michetti P. Helicobacter pylori infection. N Engl J Med. 2002;347(15): 1175-1186.
2. Alakkari A, Zullo A, O'Connor HJ. Helicobacter pylori and nonmalignant diseases. Helicobacter. 2011;16(Suppl 1):33-37.
3. Moss SF, Sood S. Helicobacter pylori. Curr Opin Infect Dis. 2003;16(5):445-451.
4. Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process--First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. Cancer Res. 1992;52(24):6735-6740.
5. World Health Organization International Agency For Research On Cancer. Schistosomes, Liver Flukes and Helicobacter pylori Summary of Data Reported and Evaluation. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 1994;61:177-179.
6. 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(3):347-353.
7. Blasco MA. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. Nat Rev Genet. 2005;6(8):611-622.
8. Blackburn EH. Switching and signaling at the telomere. Cell. 2001;106(6):661-673.
9. Hiyama E, Yokoyama T, Tatsumoto N, et al. Telomerase activity in gastric cancer. Cancer Res. 1995;55(15):3258-3262.
10. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. Eur J Cancer. 1997;33(5):787-791.
11. Avilion AA, Piatyszek MA, Gupta J, et al. Human telomerase RNA and telomerase activity in immortal cell lines and tumor tissues. Cancer Res. 1996 Feb 1;56(3):645-50.
12. Peura, D.A., Crowe, S.E. Helicobacter pylori. Sleisneger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Pathophysiology/Diagnosis/Management, Vol.1, M. Feldman, L.S Freidman, L.J. Brandt, eds. Elsevier, Canada. 2010, pp. 833-843
13. Us D, Haşçelik G. Seroprevalence of Helicobacter pylori infection in an Asymptomatic Turkish population. J Infect. 1998;37(2):148-150.

14. G.F. Brooks, K.C. Carroll, J.S. Butel, S.A. Morse, T.A. Mietzner. *Vibrios, Campylobacters, Helicobacter & Associated Bacteria*. Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Microbiology, The McGraw-Hill Companies, USA. 2010, pp.220-225.
15. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(3):449-490.
16. Salama NR, Otto G, Tompkins L, Falkow S. Vacuolating cytotoxin of *Helicobacter pylori* plays a role during colonization in a mouse model of infection. *Infect Immun*. 2001;69(2):730-736.
17. Montecucco C, de Bernard M. Molecular and cellular mechanisms of action of the vacuolating cytotoxin (VacA) and neutrophil-activating protein (HP-NAP) virulence factors of *Helicobacter pylori*. *Microbes Infect*. 2003;5(8):715-721.
18. Kobayashi H, Kamiya S, Suzuki T, et al. The effect of *Helicobacter pylori* on gastric acid secretion by isolated parietal cells from a guinea pig. Association with production of vacuolating toxin by *H. pylori*. *Scand J Gastroenterol*. 1996;31(5):428-433
19. Molinari M, Salio M, Galli C, et al. Selective inhibition of li-dependent antigen presentation by *Helicobacter pylori* toxin VacA. *J Exp Med*. 1998 Jan;187(1):135-140
20. Kuwahara H, Miyamoto Y, Akaike T, et al. *Helicobacter pylori* urease suppresses bactericidal activity of peroxynitrite via carbon dioxide production. *Infect Immun*. 2000;68(8):4378-4383.
21. Thomas JE, Bunn JE, Kleanthous H, et al. Specific immunoglobulin A antibodies in maternal milk and delayed *Helicobacter pylori* colonization in Gambian infants. *Clin Infect Dis*. 2004;39(8):1155-1160.
22. Eaton KA, Mefford M, Thevenot T. The role of T cell subsets and cytokines in the pathogenesis of *Helicobacter pylori* gastritis in mice. *J Immunol*. 2001;166(12):7456-7461.
23. El-Omar EM. The importance of interleukin 1beta in *Helicobacter pylori* associated disease. *Gut*. 2001;48(6):743-447.
24. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature*. 2000;404(6776):398-402.

25. El-Omar EM, Rabkin CS, Gammon MD, et al. Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*. 2003;124(5):1193-1201.
26. Ernst PB, Gold BD. The disease spectrum of *Helicobacter pylori*: the immunopathogenesis of gastroduodenal ulcer and gastric cancer. *Annu. Rev. Microbiol.* 2000;54:615–640.
27. Kuipers EJ. Review article: exploring the link between *Helicobacter pylori* and gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.* 1999;13(1):3-11.
28. Granström M, Tindberg Y, Blennow M. Seroepidemiology of *Helicobacter pylori* infection in a cohort of children monitored from 6 months to 11 years of age. *J Clin Microbiol.* 1997;35(2):468-470.
29. Malaty HM, Engstrand L, Pedersen NL, Graham DY. *Helicobacter pylori* infection: genetic and environmental influences. A study of twins. *Ann Intern Med.* 1994;120(12):982-986.
30. Kuipers EJ, Uytterlinde AM, Peña AS, et al. Increase of *Helicobacter pylori*-associated corpus gastritis during acid suppressive therapy: implications for long-term safety. *Am J Gastroenterol.* 1995;90(9):1401-1406.
31. El-Omar EM, Oien K, El-Nujumi A, et al. *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology.* 1997;113(1):15-24.
32. Rauws EA, Tytgat GN. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of *Helicobacter pylori*. *Lancet* 1990;335:1233–1235.
33. Sipponen P, Kekki M, Haapakoski J, Ihamäki T, Siurala M. Gastric cancer risk in chronic atrophic gastritis: statistical calculations of cross-sectional data. *Int J Cancer.* 1985;35(2):173-177.
34. The EUROGAST Study Group. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet.* 1993;341(8857):1359-1362.
35. Kuipers EJ, Pérez-Pérez GI, Meuwissen SG, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* and atrophic gastritis: importance of the *cagA* status. *J Natl Cancer Inst.* 1995;87(23):1777-1780.
36. Konturek PC, Konturek SJ, Brzozowski T. *Helicobacter pylori* infection in gastric cancerogenesis. *J Physiol Pharmacol.* 2009;60(3):3-21.
37. Eidt S, Stolte M, Fischer R. *Helicobacter pylori* gastritis and primary gastric non-Hodgkin's lymphomas. *J Clin Pathol.* 1994;47(5):436-439.

38. Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection Clin Microbiol Rev. 2006;19(3):449-490.
39. Werdmuller BF, Loffeld RJ. *Helicobacter pylori* infection has no role in the pathogenesis of reflux esophagitis. Dig Dis Sci. 1997;42(1):103-105.
40. Qian B, Ma S, Shang L, Qian J, Zhang G. Effects of *Helicobacter pylori* eradication on gastroesophageal reflux disease. Helicobacter. 2011;16(4):255-265
41. Gasbarrini A, Carloni E, Gasbarrini G, Chisholm SA. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases--other Helicobacters. Helicobacter. 2004;9 Suppl 1:57-66.
42. Brown KE, Peura DA. Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterol Clin North Am. 1993;22(1):105-115.
43. Faigel DO, Childs M, Furth EE, Alavi A, Metz DC. New noninvasive tests for *Helicobacter pylori* gastritis. Comparison with tissue-based gold standard. Dig Dis Sci. 1996;41(4):740-748.
44. Mostaghni AA, Afarid M, Eghbali S, Kumar P. Acta Cytol. Evaluation of brushing cytology in the diagnosis of *Helicobacter pylori* gastritis. 2008;52(5):597-601.
45. Midolo P, Marshall BJ. Accurate diagnosis of *Helicobacter pylori*. Urease tests. Gastroenterol Clin North Am. 2000;29(4):871-878.
46. Westblom TU. Molecular diagnosis of *Helicobacter pylori*. Immunol Invest. 1997;26(1-2):163-174.
47. Wilcox MH, Dent TH, Hunter JO, et al. Accuracy of serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection--a comparison of eight kits. Clin Pathol. 1996;49(5):373-376.
48. Leide-Svegborn S, Stenström K, Olofsson M, et al. Biokinetics and radiation doses for carbon-14 urea in adults and children undergoing the *Helicobacter pylori* breath test. J Nucl Med. 1999;26(6):573-580.
49. Gisbert JP, de la Morena F, Abaira V. Accuracy of monoclonal stool antigen test for the diagnosis of *H. pylori* infection: a systematic review and meta-analysis. Am J Gastroenterol. 2006 Aug;101(8):1921-1930.
50. Mégraud F. *H pylori* antibiotic resistance: prevalence, importance, and advances in testing. Gut. 2004;53(9):1374-1384.

51. Hojo M, Miwa H, Nagahara A, Sato N. Pooled analysis on the efficacy of the second-line treatment regimens for *Helicobacter pylori* infection. *Scand J Gastroenterol*. 2001;36(7):690-700.
52. Gisbert JP, Bermejo F, Castro-Fernández M, et al. H. pylori Study Group of the Asociación Española de Gastroenterología. Second-line rescue therapy with levofloxacin after H. pylori treatment failure: a Spanish multicenter study of 300 patients. *Am J Gastroenterol*. 2008;103(1):71-76.
53. O'Connor A, Gisbert J, O'Morain C. Treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*. 2009;14 Suppl 1:46-51.
54. Eisig JN, Silva FM, Barbuti RC, et al. Efficacy of a 7-day course of furazolidone, levofloxacin, and lansoprazole after failed *Helicobacter pylori* eradication. *BMC Gastroenterol*. 2009;9:38.
55. González Carro P, Pérez Roldán F, De Pedro Esteban A, et al. Efficacy of rifabutin-based triple therapy in *Helicobacter pylori* infected patients after two standard treatments. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22(1):60-3.
56. McColl KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2010 29;362(17):1597-1604.
57. Donate LE, Blasco MA. Telomeres in cancer and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2011;366(1561):76-84. .
58. Zvereva MI, Shcherbakova DM, Dontsova OA. Telomerase: structure, functions, and activity regulation. *Biochemistry (Mosc)*. 2010 Dec;75(13):1563-1583.
59. Azalea CM, Reichenbach P, Khorauli L, Giulotto E, Lingner. Telomeric repeat containing RNA and RNA surveillance factors at mammalian chromosome ends. *J. Science*. 2007;318(5851):798-801.
60. Monaghan P. Telomeres and life histories: the long and the short of it. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1206:130-142.
61. Hiyama K. *Telomeres and telomerase in cancer*. Humana Press, New York. 2009.
62. Takai H, Smogorzewska A, de Lange T. DNA damage foci at dysfunctional telomeres. *Curr Biol*. 2003;13(17):1549-1556.
63. Houben JM, Moonen HJ, van Schooten FJ, Hageman GJ. Telomere length assessment: biomarker of chronic oxidative stress? *Free Radic Biol Med*. 2008;44(3):235-446.

64. Dong CK, Masutomi K, Hahn WC. Telomerase: regulation, function and transformation. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005;54(2):85-93.
65. Shay JW, Bacchetti S. A survey of telomerase activity in human cancer. *Eur J Cancer*. 1997;33(5):787-791.
66. Masutomi K, Yu EY, Khurts S, et al. Telomerase maintains telomere structure in normal human cells. *Cell*. 2003;114(2):241-253.
67. Bryan TM, Englezou A, Gupta J, et al. Telomere elongation in immortal human cells without detectable telomerase activity. *EMBO J*. 1995;14(17):4240-4248.
68. Martens UM, Chavez EA, Poon SS, et al. Accumulation of short telomeres in human fibroblasts prior to replicative senescence. *Exp Cell Res*. 2000;256(1):291-299.
69. Counter CM, Avilion AA, LeFeuvre CE, et al. Telomere shortening associated with chromosome instability is arrested in immortal cells which express telomerase activity. *EMBO J*. 1992;11(5):1921-1929.
70. Nabetani A, Ishikawa. Unusual telomeric DNAs in human telomerase-negative immortalized cells. *F.Mol Cell Biol*. 2009;29(3):703-713.
71. Cesare AJ, Reddel RR. Alternative lengthening of telomeres: models, mechanisms and implications. *Nat Rev Genet*. 2010;11(5):319-330.
72. Cawthon RM. Telomere measurement by quantitative PCR. *Nucleic Acids Res*. 2002 May 15;30(10):e47
73. Kawanishi S, Oikawa S. Mechanism of telomere shortening by oxidative stress *Ann N Y Acad Sci*. 2004;1019:278-284.
74. Davies GR, Simmonds NJ, Stevens TR, et al. *Helicobacter pylori* stimulates antral mucosal reactive oxygen metabolite production in vivo. *Gut*. 1994;35(2):179-85.
75. Zhang QB, Nakashabendi IM, Mokhashi MS, et al. Association of cytotoxin production and neutrophil activation by strains of *Helicobacter pylori* isolated from patients with peptic ulceration and chronic gastritis. *Gut*. 1996;38(6):841-845.
76. Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in *Helicobacter pylori*-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med*. 2002;33(3):323-336.

77. Farkas R, Pronai L, Tulassay Z, Selmeçi L. Relationship between eradication of *Helicobacter pylori* and gastric mucosal superoxide dismutase activity. *Anticancer Res.* 2005;25(6C):4763-4767.
78. Nagata K, Yu H, Nishikawa M, Kashiba M, et al. *Helicobacter pylori* generates superoxide radicals and modulates nitric oxide metabolism. *J Biol Chem.* 1998;273(23):14071-14073.
79. Ding SZ, Minohara Y, Fan XJ, et al. *Helicobacter pylori* infection induces oxidative stress and programmed cell death in human gastric epithelial cells. *Infect Immun.* 2007;75(8):4030-4039.
80. Dulger AC, Aslan M, Nazligul Y, et al. A. Peripheral lymphocyte DNA damage and oxidative status after eradication therapy in patients infected with *Helicobacter pylori*. *Pol Arch Med Wewn.* 2011;121(12):428-32.
81. Nazligul Y, Aslan M, Horoz M, et al. The effect on serum myeloperoxidase activity and oxidative status of eradication treatment in patients *Helicobacter pylori* infected. *Clin Biochem.* 2011;44(8-9):647-649.
82. Petersen S, Saretzki G, von Zglinicki T. Preferential accumulation of single-stranded regions in telomeres of human fibroblasts. *Exp Cell Res.* 1998;239(1):152-160.
83. Kinouchi Y, Hiwatashi N, Chida M, Nagashima F, Takagi S, Maekawa H, Toyota T. Telomere shortening in the colonic mucosa of patients with ulcerative colitis. *J Gastroenterol.* 1998;33(3):343-348.
84. Kuniyasu H, Kitadai Y, Mieno H, Yasui W. *Helicobacter pylori* infection is closely associated with telomere reduction in gastric mucosa. *Oncology.* 2003;65(3):275-82.
85. Liu X, Bao G, Huo T, Wang Z, He X, Dong G. Constitutive telomere length and gastric cancer risk: case-control analysis in Chinese Han population. *Cancer Sci.* 2009;100(7):1300-1305.
86. Craig WL, McKinlay A, Vickers MA. Cellular turnover of normal gastrointestinal epithelium assessed by changes in telomeric: total DNA signal ratios. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2003;15(11):1195-1201.
87. Lan J, Xiong YY, Lin YX, et al. *Helicobacter pylori* infection generated gastric cancer through p53-Rb tumor-suppressor system mutation and telomerase reactivation *World J Gastroenterol.* 2003;9(1):54-58.

- 88.** Maruyama Y, Hanai H, Fujita M, et al. Telomere length and telomerase activity in carcinogenesis of the stomach. *Jpn J Clin Oncol.* 1997 Aug;27(4):216-20.
- 89** Kameshima H, Yagihashi A, Yajima T, et al. Helicobacter pylori infection: augmentation of telomerase activity in cancer and noncancerous tissues. *World J Surg.* 2000;24(10):1243-1249.
- 90.** Yang SM, Fang DC, Luo YH, Lu R, Battle PD, Liu WW. Alterations of telomerase activity and terminal restriction fragment in gastric cancer and its premalignant lesions. *J Gastroenterol Hepatol.* 2001;16(8):876-882.
- 91.** Zhang GX, Gu YH, Zhao ZQ, et al. Coordinate increase of telomerase activity and c-Myc expression in Helicobacter pylori-associated gastric diseases. *World J Gastroenterol.* 2004;10(12):1759-1762.
- 92.** Uzunismail H. Türkiye’de Helicobacter pylori sorunu. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Gastroenterolojide klinik yaklaşım sempozyum dizisi 2004;38:33-41