

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

***H. pylori* ENFEKSİYONU OLAN NONÜLSER DİSPEPSİ VE PEPTİK
ÜLSER HASTALARINDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZM PROFİLLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEBNEM GÜCÜYETER

HAZİRAN 2007

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

***H. pylori* ENFEKSİYONU OLAN NONÜLSER DİSPEPSİ VE PEPTİK
ÜLSER HASTALARINDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZM PROFİLLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ŞEBNEM GÜCÜYETER

HAZİRAN 2007

TRABZON

**KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MİKROBİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI**

***H. pylori* ENFEKSİYONU OLAN NONÜLSER DİSPEPSİ VE PEPTİK
ÜLSER HASTALARINDA SİTOKİN GEN POLİMORFİZM PROFİLLERİNİN
KARŞILAŞTIRILMASI**

ŞEBNEM GÜCÜYETER

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih:

Tezin Sözlü Savunma Tarihi:

Tez Danışmanı:

Jüri Üyesi:

Jüri Üyesi:

Enstitü Müdürü:

HAZİRAN 2007

TRABZON

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen, her zaman ilgi ve manevi desteğini gördüğüm Yard. Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA'ya, bilgi, tecrübe ve çalışma disiplini ile bize örnek olan Prof. Dr. Murat ERTÜRK'e ayrıca eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini bize aktararak bizi yetiştiren sayın hocalarım Doç. Dr. Faruk AYDIN'a, Yard. Doç. Dr. İlknur TOSUN'a, Yard. Doç. Dr. Gülçin BAYRAMOĞLU'na, bu tezin ortaya çıkmasında hoşgörüsü ve her türlü desteğini esirgemeyen, mantıklı, akılcı yaklaşımı ile bana daima yol gösteren sayın hocam Yard. Doç. Dr. C. Kurtuluş BURUK'a,

Bu araştırmanın yapılmasında, materyal temininde büyük emeği geçen Uzman Dr. A. Remzi AKDOĞAN'a,

Birlikte uyum ve hoşgörü içinde çalıştığım, yardımlarını benden hiçbir zaman esirgemeyen değerli asistan, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma, mikrobiyoloji laboratuvarı, kan bankası çalışanlarına,

Bana her konuda tüm hayatım boyunca her zaman manevi desteğini ve sevgisini esirgemeyen sevgili aileme,

Sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmamı Yard. Doç. Dr. Neşe KAKLIKKAYA yönetimindeki 2004.114.001.02 nolu proje ile destekleyen Karadeniz Teknik Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu'na teşekkür ederim.

ŞEBNEM GÜCÜYETER

TRABZON 2006

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ VE AMAÇ
2. GENEL BİLGİLER
 - 2.1. Tarihçe
 - 2.2. *Helicobacter pylori*'nin Genel Özellikleri
 - 2.2.1. Sellüler Morfoloji
 - 2.2.2. Koloni Morfolojisi
 - 2.2.3. Ultrastrüktürel Özellikleri
 - 2.2.4. Biyokimyasal Özellikleri
 - 2.2.5. Kültürel Özellikleri
 - 2.2.6. Makromoleküler Özellikleri
 - 2.2.7. Antijenik Yapı, Virulans ve Patojenite
 - 2.2.8. Saklama Koşulları
 - 2.2.9. Patogenezi
 - 2.3. Sınıflandırma
 - 2.4. Epidemiyolojisi
 - 2.4.1. Enfeksiyöz Doz
 - 2.4.2. Bulaşma Yolları
 - 2.4.3. *Helicobacter pylori* Virulans Genleri
 - 2.4.3.1. Vakuolizasyon Sitotoksin Geni (Vac A)
 - 2.4.3.2. Sitotoksin İle İlişkili Gen (Cag A)
 - 2.4.3.3. Ice A
 - 2.4.4. *Helicobacter pylori*'ye Karşı Oluşan İmmün Yanıt
 - 2.4.4.1. Humoral İmmün Yanıt

- 2.4.4.2. Hücresel İmmün Yanıt
- 2.4.5. *Helicobacter pylori* Konak Etkileşimi
- 2.4.6. Korunma
- 2.4.7. Tedavi
- 2.5. *Helicobacter pylori* 'nin Tanısı
 - 2.5.1. İnvaziv Testler
 - 2.5.1.1. Hızlı Üreaz Testi
 - 2.5.1.2. Histopatolojik İnceleme
 - 2.5.1.3. Kültür
 - 2.5.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)
 - 2.5.1.5. Üre Nefes Testi
 - 2.5.1.6. Dışkı Antijen Testleri
 - 2.5.1.7. Serolojik Testler
- 2.6. *Helicobacter pylori* İle İlişkili Gastrik Hastalıklar
 - 2.6.1. Gastrit
 - 2.6.2. Duodenal Ülser
 - 2.6.3. Mide Ülseri
 - 2.6.4. Non Ülser Dispepsi
 - 2.6.5. Mide Kanseri
 - 2.6.6. MALT Lenfoma
- 2.7. Sitokinler
 - 2.7.1. İnterlökin-1 (IL-1)
 - 2.7.2. İnterlökin-2 (IL-2)
 - 2.7.3. İnterlökin-4 (IL-4)
 - 2.7.4. İnterlökin-6 (IL-6)
 - 2.7.5. İnterlökin-10 (IL-10)
 - 2.7.6. İnterlökin-12 (IL-12)
 - 2.7.7. İnterferon Gamma (IFN γ)
 - 2.7.8. Tümör Nekrozis Faktör α (TNF α)
 - 2.7.9. Tümör Gelişim Faktörü β 1 (TGF β 1)

2.8. Polimorfizm

2. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Grubu

3.1.2. Kullanılan Gereçler

3.1.3. Kullanılan Besiyeri, Kimyasallar ve Kitler

3.2. METOD

3.2.1. Çalışma Planı

3.2.2. Mikrobiyolojik İnceleme

3.2.2.1. Kültür

3.2.2.2. Direkt Mikroskopi

3.2.2.3. Üreaz Testi

3.2.2.4. Gaitada HpSA Antijeni Saptanması

3.2.2.5. Biyokimyasal Testler

A) Oksidaz Testi

B) Katalaz Testi

3.2.3. Mononükleer Hücre Ayırımı

3.2.4. DNA İzolasyonu

3.2.5. DNA'nın Spektrofotometrede Konsantrasyonunun Ölçümü

3.2.6. İzole Edilen DNA'da Beta Actin Geninin Bakılması

3.2.7. Sitokin Gen Polimorfizminin Tespiti için PCR Yapılması

3.3. İstatistiksel Analizler

3. BULGULAR

4. TARTIŞMA

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

6. ÖZET

7. SUMMARY

8. KAYNAKLAR

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa No

- Tablo 1: *H. pylori*'nin virulans ve patojenitesi
- Tablo 2: Helikobakter türleri ve izole edilen konaklara göre dağılımı
- Tablo 3: FDA tarafından önerilen tedavi protokolleri ve eradikasyon oranları
- Tablo 4: Beta actin gen analizinde bir hasta için gerekli mastermiks miktarı
- Tablo 5: Beta actin geni için PCR döngü programı
- Tablo 6: Sitokin genleri analizinde bir hasta için gerekli mastermiks miktarı
- Tablo 7: Sitokin genleri için PCR döngü programı
- Tablo 8: İnvitrogen sitokin gen poliformizmi analiz cetveli
- Tablo 9: Nonülser dispepsi ve ülser hastalarında cinsiyete göre yaş ortalaması
- Tablo 10: Nonülser dispepsi ve ülser hastalarının biyopsi örneklerinde
ürezaz ile *H. pylori* tespit edilme oranları
- Tablo 11: Nonülser dispepsi ve ülser hastalarının biyopsi örneklerinde kültür
ile *H. pylori* tespit edilme oranları
- Tablo 12: Kadın ve erkek nonülser dispepsi ve ülser hastalarının biyopsi
örneklerinde mikroskopi ile *H. pylori* tespit edilme oranları
- Tablo 13: Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında HpSA antijen testi
ile gaitada *H. pylori* tespit edilme oranları
- Tablo 14: Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının sitokin gen
polimorfizm sonuçlarının karşılaştırılması

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Çalışma planı ve işlemlerin yürütülme şeması

Şekil 2: Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda

H. pylori'nin görünümü

Şekil 3: Biyopsi örneklerinde üreaz ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Şekil 4: Biyopsi örneklerinde kültür ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Şekil 5: Kadın ve erkek hastaların biyopsi örneklerinde mikroskopi ile

H. pylori tespit edilme oranları

Şekil 6: Hastaların gaitalarında HpSA antijen testi ile *H. pylori* tespit edilme

oranları

Şekil 7: Sitokin gen polimorfizminin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

Şekil 8: Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sitokin gen

polimorfizmi dağılımı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori dünya nüfusunun yarısını enfekte eden peptik ülserden adenokarsinomaya kadar geniş ölçüde gastrointestinal hastalıklara neden olan Gr negatif, hareketli, zorunlu mikroaerofil bakteridir. Tanı ve tedavisinin kolay olması hem hastalığın tedavisi hem de ileride oluşabilecek patolojilerin önüne geçilmesi açısından değer taşımaktadır (1, 2, 3, 4).

Helicobacter pylori doğal yaşam ortamı olan mide mukozasına yerleşir. Burada mukus içinde asit ortamdan korunarak yaşamını sürdürür. Asitle birlikte ülser oluşumunda en önemli etkidir. Ağızdan alınarak mide mukozasına ulaşan bakteri hem epitele yapışarak hem de lökositleri uyararak sitokinlerin salınımına neden olur. Bunlardan IL-1, IL-6, IL-8, TNF, IFN gibi bazı sitokinler vücutta farklı mekanizmaları etkileyerek doku yıkımına neden olurlar ve epitel hücre erozyonu, ülserasyonu ve çeşitli hastalık tablolarını oluştururlar (2).

Bakterinin neden olduğu enfeksiyon çoğu hastada latent olarak kalmaktadır ve yalnız enfekte kişilerin %20'sinde peptik ülser ve gastrik malignite gelişmektedir (3, 4). Birçok araştırmada *H. pylori* ile peptik ülser hastalıkları, gastrik adenom, gastrik kanser, gastrik hiperplastik polip, MALT lenfoma arasında yakın ilişki gösterilmiştir (5). *Helicobacter pylori* enfeksiyonu olan hastalarda sitokin gen polimorfizmi üzerine yapılan birçok çalışma vardır. Bu çalışmaların çoğunda sitokin gen polimorfizmi ile gastrik kanser arasındaki ilişki araştırılmıştır. *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda peptik ülser ve nonülser dispepsi gelişiminde sitokin gen polimorfizminin etkisi ile ilgili ise sınırlı sayıda çalışma mevcuttur.

Bu çalışmada nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sitokin gen polimorfizimleri araştırıldı. Araştırmada iki hasta gurubunun mide biyopsi örneğinde ve gaitada mikrobiyolojik inceleme ile *H. pylori* varlığı araştırılması, hasta kanında sitokin gen polimorfizmlerinin belirlenmesi, bunların karşılaştırılarak analizlerinin

yapılması ve böylece iki hasta grubu arasında sitokin gen polimorfizmleri açısından oluşan farkların ortaya konulması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Gastrik ülser 1586 yılında bir İtalyan doktor tarafından tanımlanmış ve 1688 yılında İsveçli Johannes von Muralt otopsiyle ilk duedonal ülseri rapor etmiştir (6). 1875 yılında Bottcher ve Letture gastrik ülserli alanlarda bakteriyi keşfetmiş ve ilk hipotez olarak bakterinin ülsere neden olduğunu öne sürmüştür (7).

1881'de Rappin gastrik spiral bakteriyi ve 1893'de Bizzozero köpek midesinde ilk spiral bakteriyi tanımlamıştır. Bir İtalyan patolojist olan Salomon 1896'da kedi ve fare midesinde benzer bulguları rapor etmiştir (8). 1906'da insan midesinde ilk spiral bakteri gösterilmiş ve 9 yıl sonra midesinde spiral mikroorganizma olan hastalarda duedonal ülserasyon ve gastrit rapor edilmiştir (9).

1938'de 242 otopsi vakasının %43'ünün midesinde hematoksin ve eosin boyasıyla spiroketler gösterilmiştir (10). 1939'da gastrik ülser ya da karsinomalı hastaların gastrik rezeksiyon örneklerinin % 37'sinde spiroketler rapor edilmiştir (11).

1975 yılında gastrik ülserasyonlu hastaların rezeke mide örneklerinin %80'inde bakteri varlığı bildirilmiştir (12). 1979'da gastrik ülser hastalarının epitelyal hücrelerinin luminal yüzeyinde spiral bakteri tanımlanmış ve zaman peptik ülser patogeneğinde gastrik bakterilerin rolü tekrar ilgi konusu olmuştur (13).

Helicobacter pylori için modern çağ hekim Barry Marshall ve histopatolojist Robin Warren'in Batı Avusturalya'da klinik araştırmalarıyla başlamıştır. Warren gastrik biyopsi örneklerini Warthin-Starry boyasıyla boyamış ve mukozal bakterilerin varlığını göstermiştir (14). 1982 Nisan ayına kadar basil tüm çalışmalara rağmen kültürde üretilmemiştir. Çoğu *Campylobacter*'ler uygun koşullarda 48 saatte ürerken

bu koloniler 3 gün geçmesine rağmen görünür hale getirilememiştir. Paskalya haftası boyunca istemeden 5 gün inkübe edilen playtlerde koloniler görülmüştür (15, 16). Gastrit yapan bu bakteriyle ilgili bilgiler 22 Ekim 1982'de Royal Australian College of Physicians Dergisinde ilk kez sunulmuş ve 1983 yılında yayımlanmıştır. Bu mikroaerobik, kavisli, Gram negatif, hem morfolojik hem de guanin/sitosin DNA içeriğiyle diğer *Campylobacter*'lere benzer bakteriye *Campylobacter pyloridis* denilmiştir (16). 1984'de *H. pylori* enfeksiyonunun gastrik mukozadaki enflamasyon ve polimorfonukleer hücre infiltrasyonu ile yakın ilişkili olduğu saptanmıştır (17). 1989'da *C. pylori*'nin *Campylobacter* genusuna ait olmadığı gösterilerek yeni bir genus ismi önerilmiştir (18, 19). *Helicobacter* ismi organizmanın in vivo helikal in vitro basil benzeri olan iki morfolojik özelliğini göstermesi açısından kabul edilmiştir. Epidemiyolojik çalışmaları kolaylaştırıcı seroloji, hızlı üreaz testi, üre nefes testi gibi güvenilir tanı testleri geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır (20, 21, 22, 23).

1991'de *H. pylori* enfeksiyonu ile gastrik kanserin ilişkili olduğu yönünde çalışmalar yayımlanmıştır (24).

1994'de *H. pylori* 1. derece karsinojen olarak tanınmış ve National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement tarafından gastrit yada duodenal ülser ile birlikte *H. pylori* enfeksiyonu olan tüm hastaların bakteri eradikasyon tedavisi almasının gerekliliği belirtilmiştir (24, 25). 1997'de Avrupa konsensus panelinde *H. pylori* enfeksiyonu ve peptik ülser, düşük derece MALT lenfoma, ciddi makroskopik ya da mikroskopik gastrit ya da rezeke erken gastrik kanser hastalarında proton pompa inhibitörüyle beraber üçlü tedavinin enfeksiyonun eradikasyonu için kullanılması önerilmiştir (26). 1997'de *H. pylori*'nin genomu çözümlenmiştir. Bu keşif bilim adamlarını bakteriyi daha iyi tanımaya ve bakteriyiyle savaşmak için daha etkili ilaç tedavisine yönlendirmiştir (25, 27).

Gastrit ve peptik ülserle ilişkili bu bakteriyi bulmak ve antibiyotikler ile tedavisini sağlamak Marshall ve Warren'e 2005 yılında fizyoloji ve tıp alanında Nobel Ödülünü kazandırmıştır (28).

2.2. *H. pylori*' nin Genel Özellikleri

2.2.1. Sellüler Morfoloji

Helicobacter pylori gastrik biyopsi örneklerinde spiral yada S şeklinde, mikroaerofilik, Gram negatif basildir (29, 30). Katı besiyerinde kültürü yapıldığında spiral şekli ortadan kalkar ve basilimsi yapıda görülür (31). Gastrik biyopsi örneklerinde *H. pylori* organizmaları 2.5-5.0 µm uzunluğunda ve 0.5-1.0 µm genişliğinde hareket için tek ucunda dört ya da altı flagellası olan bakteridir (29, 31). Her flagella yaklaşık 30µm uzunluğunda ve 2.5 nm kalınlığındadır (31, 32).

2.2.2. Koloni Morfolojisi

Helicobacter pylori kolonileri çeşitli maddeler eklenmiş kanlı agarda 37 °C'de ortalama 3-5 günde 1-2 mm çapında yuvarlak, konveks ve saydam olarak görülür. Kanlı agarda koloniler etrafında hafif hemoliz oluşmaktadır. Bu hemoliz nedeniyle koloni etrafında gri bir zon görülebilir (33).

2.2.3. Ultrastrüktürel Özellikleri

Gastrik biyopsi örneklerinde tannik asit sabitleyici olarak kullanıldığında *H. pylori*'nin dış membranındaki glikokaliks benzeri yapısı görülebilir. Glikokaliksin iplik benzeri uzantıları ile bakteri gastrik epitelyal mikrovililere tutunur (29).

2.2.4. Biyokimyasal Özellikleri

Helicobacter pylori üreaz, katalaz, DNAaz, alkalin fosfat, lösinaminopeptidaz, oksidaz, gamaglutamil aminopeptidaz enzimleri salgılayabilir (34). Bazı örneklerde üreaz ve katalaz negatif ola suşlar da bildirilmiştir. Hippurat

hidrolizi, H₂S üretimi, nitrat redüksiyonu, indol formasyonu, %1 ve %3.5'lik NaCl'de üreme ve indoksilat hidrolizi ise negatiftir (33).

2.2.5. Kültürel Özellikleri

Katı besiyerine mikroaerofil ekim yapıldıktan 3-5 gün sonra küçük renksiz koloniler görülür. Laboratuvar ortamında aerobik koşullarda canlılığını 7 saat kadar koruyabilir. %5-10 koyun yada at kanı eklenmiş Columbia base agar gibi zenginleştirilmiş besiyerlerinde, %5O₂- %5-10 CO₂ içeren ortamda ortalama 37⁰C'de 3-5 günde ve pH 6,9-8,0 arasında iyi ürer (35). *H. pylori* de Skirrow's (vankomisin, trimetoprim ve polimiksin B) (36) ya da Dent's ilavesi (vankomisin, trimetoprim, cefsulodin ve amfoterisin) (37) olarak adlandırılan seçici antibiyotikler besiyerine eklenir. *H. pylori* ile kontaminant arasındaki fark saptayabilmek için katı besiyerine %0.4 triphenyltetrazolium chloride eklenebilir. Böylece küçük renksiz *H. pylori* kolonilerinin etrafında 'golden' kristalleri denilen presipitasyonlar görülür ve kontaminant ile *H. pylori* ayırımı yapılır (38).

2.2.6. Makromoleküler Özellikleri

Helicobacter pylori'nin komple gen dizi sırası (genom sequence) Tomb ve arkadaşları tarafından 1997 yılında açıklanmıştır (38). *H. pylori* genom büyüklüğü 1.6-1.73 Mb ortalama 1.67 Mb, tek, sirkülerdir (30-35). G/C oranı 34.1-37.5 ortalama %35.2 moldür (39). Toplam gen sayısı 1590 olup her biri ortalama 1091 baz çifti taşımaktadır (38).

2.2.7. Antijenik Yapı, Virulans ve Patojenite

Tablo 1'de gösterilen özellikler *H. pylori*'nin virulans ve patojenitesinde önemli role sahiptir. Flagellar antijenleri *Campylobacter* ile ortak yapıdadır. Ayrıca "vakuol yapıcı sitotoksin" *H. pylori*'lerin %65'inde vardır ve epitel hücresinde vakuol oluşumu

ile ilgili hasar yapmaktadır (40). Tablo 1’de *H. pylori*’nin virulans ve patojenite özellikleri verilmiştir.

Tablo 1. *H. pylori*’nin virulans ve patojenitesi

Özellik	Etki
Spiral şekil	Mukus içinde motiliteyi sağlar.
Flagella	Hareketin etkin oluşunu sağlar.
Lipopolisakkaridler GM3 gangliozid ve Lewis B antijenlerine özgül bağlanmayı sağlayarak	Gastrik mukus sekrete eden hücrelere selektif kolonizasyonu sağlar.
Üreaz A ve B	Gastrik ortamda yaşamını sürdürmeye yardımcı olur.
Katalaz	Gastrik ortam ve fagositik vakuollerde yaşamaya yardımcı olur.
Fosfolipaz A ve B	Mukusun epitelyal hücre membranının sindirimi, mukus ıslaklığının artışı sağlar.
Proteaz	Mukusun ve epitelyal hücre membranının sindirimi, mukusun eriyebilirliğinin artışına neden olur.
Vakuol yapıcı sitotoksin (Vac A)	Epitelyum hücre zararlanmasına neden olur.
Düşük molekül ağırlıklı kemoakraktif proteinler (porinler)	Nötrofil ve mononükleer hücreleri kendine çekerek reaktif oksijen bileşikleri ve interlökinlerin salınmasını sağlar.
Cag A (Cytotoxin Associated gen A)	Sitotoksin oluşumu ve peptik ülserle ilişkili olduğu düşünülüyor.
Isı şok proteinleri (Hsp A ve B)	Otoimmünitede rol oynar.

2.2.8. Saklama Koşulları

Helicobacter pylori en iyi -80 °C’de %10 glycerol içeren Brucella sıvı, fetal sıgır serumu içeren Brucella sıvı ve herhangi bir koruyucu olmaksızın Brucella sıvı’da iyi saklanır. Ayrıca -196 °C’de likit nitrojende, -70’de %10 nutrient sıvı (NB), beyin kalp infüzyon sıvıda (BHIB) da saklanabilir (41).

2.2.9. Patogenezi

Helicobacter pylori'nin insan organizmasında en iyi yaşayabildiği yer mide mukozasıdır. Mide salgıları ile tükürük ve safrada da bu bakteriye rastlanır. Mukus salgısı olan yerlerde kolay üreyebilmesi nedeniyle bakterinin en sevdiği yer midenin antrum mukozasıdır. Burada doku invazyonu yapmadan yüzeye tutunarak çoğalır ve yaşar. Mide mukozasını örten mukus tabakasındaki nötrale yakın pH, mikroorganizmanın yaşamasını olanaklı kılar. *H. pylori* mide salgı bezlerinin derinliklerinde de üreyebilir, ancak intestinal mukozada üreyebilme yeteneği yoktur. Mukozalarda üreyerek mukozal değişikliklere ve kronik aktif gastrit ve peptik ülser neden olur. Etkenin epidemi şeklinde hipoklorhidri ve akut gastrit yaptığı da bildirilmiştir (42, 43). *H. pylori*'nin oluşturduğu kronik aktif gastritte mukoza yüzeyinde bakteri kolonizasyonunun neden olduğu polimorf çekirdekli lökosit infiltrasyonu vardır. Bakteriye nötrofiller içinde fagosite edilmiş şekilde de rastlanabilir (44, 45). *H. pylori*, salgıladığı üreaz enzimiyle karbondioksit (CO₂) ve amonyak (NH₄) oluşturarak kendini mide sıvısı içindeki düşük pH'dan korur. Öte yandan NH₄, mide epitel hücreleri için toksiktir; hücreler arası tutunmayı azaltır, etkenin salgıladığı sitotoksinlerin etkisini artırır. Gastrit oluşumu ve bu oluşumun kronikleşmesi, ülser oluşumunu provoke eder. Aynı zamanda, mukus salgılayan hücreler üzerindeki sitotoksik etki, koruyucu mukus salınımını azaltır. Bunda bakterinin ürettiği müsinaz enziminin de doğrudan etkisi vardır. Böylece, sindirim enzimleri doğrudan mukoza üzerine etki etme olanağı bulurlar. *H. pylori*'nin duodenumda nasıl ülser yaptığı tam açıklık kazanmamıştır. Antrum mukozasında yerleşen mikroorganizmanın duodenal bikarbonat salınımını engellediği, salgıladığı mediyatörler aracılığı ile de mukoza kayıplarına yol açtığı kabul edilmektedir (46, 47).

2.3. Sınıflandırma

Günümüzde bilinen 18 helikobakter türü vardır. Bunların 7'si gastrik orjinli olup 11'i hayvan türlerinin intestinal sistemlerinin farklı bölgelerinde bulunmaktadır

(48, 49). Hayvanlarda en sık görülen helikobakter türü *Gastrospirillum hominis* ya da *H. heilmannii* 'dir. İnsanlarda ise en sık görülen tür *H. pylori*'dir. Tablo 2'de helikobakter türleri ve doğal konakları gösterilmiştir (48).

Tablo 2. Helikobakter türleri ve izole edilen konaklara göre dağılımı

Helicobacter Türleri	Esas Konak	Orijin
<i>H. pylori</i>	İnsan	Gastrik
<i>H. mustelae</i>	Yaban Gelinciği	Gastrik
<i>H. nemestrinae</i>	Makak maymunu	Gastrik
<i>H. acinonychis</i>	Kedi, köpek	Gastrik
<i>H. bizzozeronii</i>	Köpek	Gastrik
<i>H. salomonis</i>	Köpek	Gastrik
<i>H. heilmannii</i>	İnsan, kedi, köpek, domuz	Gastrik
<i>H. cinaedi</i>	İnsan, hamster	İntestinal
<i>H. fenneliae</i>	İnsan, hamster	İntestinal
<i>H. muridarum</i>	Tavşan, fare	İntestinal
<i>H. canis</i>	Köpek	İntestinal
<i>H. pullorum</i>	Kanatlılar	İntestinal
<i>H. pametensis</i>	Deniz kırlangıcı	İntestinal
<i>H. hepaticus</i>	Fare	İntestinal
<i>H. bilis</i>	Fare	İntestinal
<i>H. cholecytus</i>	Hamster	İntestinal
<i>H. trogontum</i>	Tavşan	İntestinal
<i>H. rodentium</i>	Fare	İntestinal

2.4. Epidemiyolojisi

Helicobacter pylori enfeksiyonu dünyada yaygın olarak görülür. Duodenal ülserli hastaların %95'inde, mide ülserli hastaların %70-80'inde *H. pylori* saptanmıştır. Nonülser dispepsili (NÜD) hastalarda ise *H. pylori*, yaklaşık %50 oranında görülmektedir. *H. pylori* enfeksiyonu taşıyan bireylerde *H. pylori* negatif olanlara göre

daha fazla peptik ülser gelişme riski vardır. Prospektif ve retrospektif çalışmalarda gastrik kanser ve gastrik lenfomalı hastaların %90 *H. pylori* tespit edilmiştir (50, 51, 52).

Helicobacter pylori enfeksiyonunun seroprevalansı, yaşla birlikte artma göstermektedir. İlk veriler, enfeksiyonun yatay olarak geçebildiğini düşündürmektedir. *H. pylori* enfeksiyonunun ne zaman ve nasıl edinildiği tam olarak bilinmemektedir. Aynı ülkedeki değişik topluluklar arasında da yaşa özgü seroprevalansta farklılık görülmektedir (53).

Helicobacter pylori rastlanma oranı, sosyo-ekonomik düzeyi düşük toplumlarda daha fazla bulunmuştur (54, 55). Batılı ülkelerde 40 yaşın altındaki kişilerin %20'si, 60 yaşın üzerindekielerde %50'si *H. pylori* ile enfektedir. 20 yaşın altında prevalans %20'nin altındadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise prevalans %80'e ulaşmaktadır (56).

Helicobacter pylori'nin farklı popülasyonlardaki dağılımını sosyoekonomik durumlar (özellikle çocukluk çağı), genetik özellikler, hijyen seviyeleri, aile içi yaşam alışkanlıkları etkilemektedir (57).

Ülkemizde de *H. pylori* enfeksiyonu oldukça sık rastlanmaktadır. Özden ve arkadaşlarının ülkemizde *H. pylori* seroloji pozitifliğinin yaş gruplarına göre dağılımını şu şekilde bulmuşlardır: 7-12 yaş grubunda %79, 13-18 yaş grubunda %83, 19-24 yaş grubunda %75, 25-29 yaş grubunda %96, 30-34 yaş grubunda %91, 35-39 grubunda %83, 40-65 yaş grubunda ise %94 (58).

Helicobacter pylori prevalansının son yıllarda yapılan çalışmalarda azalmakta olduğu ileri sürülmüştür. Bunun nedeni tam olarak bilinmemekle birlikte, sağlık, hijyen, sosyoekonomik koşulların iyileşmesi ve antibiyotik kullanımına bağlı olabileceği düşünülmektedir (56).

Kaklıkkaya ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise erkek hastaların %69,74'ünde, kadın hastaların % 60,63'ünde *H. pylori* pozitif saptanmıştır (59).

2.4.1. Enfeksiyöz Doz

Gönüllüler üzerinde yapılan bir çalışmada sıvı gıdalarla 10^9 , bir gece aç kaldıktan sonra mide pH'ı 1.7 iken 4×10^7 ve antiasit kullanımından sonra 3×10^5 bakterinin midede enfeksiyon oluşturduğu saptanmıştır (60).

2.4.2. Bulaşma Yolları

Helicobacter pylori'nin doğal kaynağı henüz bilinmemektedir. *H. pylori* için doğal zoonotik bir rezervuara dair kanıtlar bulunamamıştır (61). Günümüzde *H. pylori*'nin majör rezervuarının insan olduğu düşünülmektedir. Bulaşmada olası yollar fekal–oral ve oral–oral yollardır (62). *H. pylori*'nin dışkı, dental plak ve tükürükten izole edilmesi bu yollarla bulaşmayı desteklemektedir (63).

H. pylori'nin su kaynaklı enfeksiyonlarda görülmesi ve feçesten izole edilmesi fekal-oral bulaşı doğrular. *H. pylori* enfeksiyonunda genetik yatkınlık da söz konusudur. *H. pylori* eşler arasında ve aile içi yakın temasla bulaşabilir. Üst gastrointestinal endoskopilerde %1-3 oranında geçiş olduğu gösterilmiştir. Mesleki risk grupları olarak da gastroenterologlar, endoskopistler ve son yıllarda diş hekimleri de sayılmaktadır (64, 65). *H. pylori* sudan izole edilememiştir fakat *H. pylori*'nin sularda canlılığını koruyabilmesi, arıtılmamış kanalizasyon atıklarında ve sularda özgül nükleik asit sekanslarının saptanması, suyun bulaşmadaki rolünü destekleyen önemli kanıtlardır (66, 67).

2.4.3. *Helicobacter pylori* Virulans Genleri

2.4.3.1. Vakuolizasyon Sitotoksin Geni (VacA)

Helicobacter pylori vakuolizasyon sitotoksininin kodlandığı gen Vac A'dır. Vakuolizasyon sitotoksini insan ve diğer memeli hayvanların başta mide olmak üzere tüm epitel hücrelerinde asidik vakuolizasyona neden olan bir toksindir. VacA toksini

90kDa büyüklüğünde oligomerik yapıda bir protoksindir. *H.pylori* suşlarının tamamında toksini kodlayan *vacA* geni bulunmasına rağmen genomdaki farklılıklar nedeniyle ancak bazı suşlar toksin üretebilmektedir (68).

VacA geni suşları arasında, farklılıklar göstermektedir. *VacA* sinyal dizilerine göre S1a, S1b, S1c ve S2 olmak üzere üç, orta dizi farklılıklarına göre de m1 ve m2 olmak üzere iki subtipi bulunmaktadır. M1 ve m2 toksin etkinliğinin başlıca belirleyicisidir. M1 allelli suşlar M2 allelli suşlara göre daha toksijeniktir. Ayrıca mide epitel hasarının düzeyiyle ilişkilidir. S1a, S1b, S1c ve S2 ise midedeki inflamasyon düzeyiyle ve duodenum ülseri prevalansı ile ilişkilidir (69).

VacA pozitif suşlarının çoğu *cagA* toksini yönünden de pozitiftir. Bu toksini salgılayan *H.pylori* suşlarının, bu aktiviteyi göstermeyenlere kıyasla daha sıklıkla peptik ülserli vakalardan izole edilmesi, bu proteinin virulansla ilgisini göstermektedir (70).

2.4.3.2. Sitotoksin İle İlişkili Gen A (Cag A)

VacA üreten suşların hemen tamamında görülen ancak vakuol oluşumuna yol açmayan 128 kDa ağırlığında oldukça immunojen bir hidrofilik toksindir. Bu toksin *cagA* patolojik gen adası için bir göstergedir (69).

Bu geni taşıyan *H.pylori* suşları, bu geni taşımayanlara kıyasla peptik ülser ve mide kanserini vakalarıyla daha sık ilişkili bulunmaktadır. *CagA* geni bakterideki *cag* patojenisite (patojenik gen) adasının bir belirteci olarak kullanılır. *CagA* geni, *cag* patojenite adası genleriyle birlikte yüksek oranda iltihabi reaksiyonlarla ilişkilidir (70).

2.4.3.3. IceA

Genetik yapı bakımından restriksiyon endonükleaza benzer. Allel varyantları IceA1 ve IceA2'dir. IceA1 sıklıkla peptik ülserli hastalarda gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar *CagA*, *VacA* S1/m1, IceA1 geni taşıyan *H. pylori* suşlarının daha

virulan olduğu ve peptik ülserli hastaların sıklıkla bu suşlar ile enfekte olduğunu ortaya çıkarmıştır (69).

2.4.4. *Helicobacter pylori*'ye karşı oluşan immün yanıt

2.4.4.1. Humoral İmmün Yanıt

Helicobacter pylori konakta spesifik ve nonspesifik bir dizi yanıt oluşmasına sebep olur. Mukus, sindirim enzimleri, lizozim, laktoferrin ve oral kavite ile midedeki diğer antimikrobial bileşenler nonspesifik savunma mekanizmalarıdır. *H. pylori* mide mukozasına ulaşınca epitel hücrelerinin bağlantı yerlerine yapışır. Polimorfonükleer lökositler ve makrofajlar aktive olurlar ve IL1, IL6, IL8 ve TNF β salınır. *H. pylori*'ye karşı ilk antikor yanıtı olarak IgM oluşur ve birkaç ayda kaybolur. Daha sonra ise IgA ve IgG oluşur. IgA lokal yanıtın bir parçasıdır ve daha uzun süre kalır. IgA bakterinin mide epiteline yapışmasını engellerken IgG kompleman fiksasyonu ve aktivasyonunda rol oynar (63).

2.4.4.2. Hücresel İmmün Yanıt

Mide mukozasının lamina propria kısmında ve epitel hücrelerin içinde dağınık T lenfositler bulunur. *H. pylori* enfeksiyonunda büyük bölümü yardımcı T hücreleri olmak üzere tüm sitokinlerin yapımı artar. Aktive T lenfositler kronik enflamasyonun genişlemesine neden olur. Enflamasyon kontrol altına alınamazsa epitel hasarı devam eder ve atrofik gastrit gelişir. Bu inflamatuvar yanıt *H. pylori*'yi eradike etmede etkisizdir. Bunun nedeni *H. pylori*'nin süperoksit dismutaz ve katalaz üreterek kendini nötrofillerin fagositik vakuelleriyle yok edilmekten koruması olabilir (62, 63).

2.4.5. *H. pylori* Konak Etkileşimi

Ağız yoluyla vücuda alınan bakteri mukus tabakasını delerek epitelyum hücrelerin uç kısımlarına bakteriyel Bab A ve Cag A yoluyla ile yerleşir ve bu hücrelere yapışarak çoğalır. NF- κ B ve AP-1 bu aşamada hücre içi mesaj taşıyıcı olarak görev alırlar. Böylece IL-8 ve diğer sitokinlerin salınımı gerçekleşir. IL-8 üretimine katkıda bulunan makrofajlar proinflamatuvar sitokinlerin özellikle Th hücrelerinden salınmasına neden olurlar. Bu da daha çok Th1 cevabı niteliğindedir. Th1 tip sitokinler epitelyal hücrelerden MHC sınıf II ve aksesuar moleküllerin ekspresyonunu artırır ve bu da hücrelerin antijen sunumu bakımından daha etkili hale getirir (2, 71).

Ayrıca epitelyum hücresinin kendisi ya da bakterinin kendisi de lökositleri uyararak IFN, TNF, IF-1, IF-6, IF-8 salgılanmasına neden olur. *H. pylori* tarafından salgılanan kemotaktik faktörler ile salgılanan sitokinler başta nötrofil olmak üzere inflamatuvar hücrelerin migrasyonuna ve aktivasyonuna neden olurlar. Diğer taraftan epitelyum hücrelerinin membranındaki mikroorganizma antijenleri MHC sınıf II vasıtasıyla yardımcı T hücreleri ve sitotoksik T hücreleri tarafından tanımlanır. Bunun sonucu olarak ortama daha fazla sitokin salınır ve B hücreleri spesifik antikor üreten plazma hücrelerine dönüşür. Antikorlar antijenlerle reaksiyona girerek otoimmün bir cevap ve doku yıkımı başlar. Nötrofillerden salınan O₂ metabolitleri ve proteazlar gibi sitotoksik maddeler de epitelyum yıkımına neden olur. Sitotoksik T hücreleri de doğrudan epitelyum hücrelerine zarar verir. Böylece epitel hücre erezyonu ve ülserasyonu oluşur (2, 71, 72).

2.4.6. Korunma

Helicobacter pylori'ye karşı aşılama, hayvan modellerinde gerçekleştirilebilmiştir. Başarı ile denenen *H. pylori* immunojenleri arasında bütün hücre ekstreleri, üreaz (üreA ve üreB), VacA, ve ısı şoku proteinleri vardır. Bağışıklama yalnızca enfeksiyonu önlemede değil, hastalığa karşı tam şifa sağlamada

da etkili olduğundan *H. pylori* enfeksiyonunu ortadan kaldırmada umut verici bir girişim gibi görünmektedir (73).

2.4.7. Tedavi

1994 yılında yapılan “The National Institutes of Health Consensus Development Conferance” da *H. pylori* enfeksiyonuna yönelik olarak ilk kez ulusal tedavi kılavuzu önerilmiş, kılavuz 1997 yılında güncellenmiştir (74).

Tablo 3. FDA tarafından önerilen tedavi protokolleri ve eradikasyon oranları

Tedavi protokolü	Doz	Tedavi süresi	Eradikasyon oranı (%)
Bizmut içeren üçlü terapi			
Tetrasiklin HCl	500 mg x 4/günde	2 hafta	85
Metranidazol plus	250 mg x 4/günde		
Bizmut subsalisilat	2 tablet x 4/günde		
İkili terapi			
Klaritromisin	500 mg x 3/günde	2 hafta	74
Omeprazol yada	40 mg/ günde		
Klaritromisin plus	500 mg x 3/günde	2 hafta	82
Ranitidin bizmut sitrat	400 mg x2/günde		
Üçlü terapi			
1. seçenek			
Metronidazol yada	500 mg x 2/günde	1 hafta (2 hafta da olabilir.)	90
Amoksisilin plus	1 g x 2/günde		
Klaritromisin plus	500 mg x 2/günde		
Omeprozol yada	20 mg x 2/günde		
Lanzoprazol	30 mg x 2/günde		
2. seçenek			
Ranitidin bizmut sitrat plus	400 mg x 2/günde	2 hafta	90
Klaritromisin plus	500 mg x 2/günde		
Amoksisilin	1 g x 2/günde		

2.5. *Helicobacter pylori*'nin Tanısı

Tanı için kullanılan testler iki grupta incelenir. İnvaziv testler; biyopsi materyalinin histolojik ve mikrobiyolojik incelemeleri, hızlı üreaz testi ve polimeraz zincir reaksiyonunu içerir. Non–invaziv testler ise üre nefes testi, serolojik testler ve *H. pylori* dışkı antijen testidir (75).

2.5.1. İnvaziv Testler

2.5.1.1. Hızlı Üreaz Testi

Bakterinin üreaz aktivitesinden yararlanarak yapılır. Endoskopik biyopsi gerektirir. Alınan doku örneği, içinde pH'yı gösteren bir belirteç (en sık fenol kırmızı) bulunan bir üre jeli veya sıvı besi yerine konulur. Üreaz enzimi ile üreden amonyak (NH_3) oluşur. Çevredeki hidrojen iyonlarının varlığı ile NH_4 'e dönüşerek ortamın pH'sını yükseltir. pH artışını renk değişikliği olarak yansıtırlar (76, 77, 78). Sonuçlar 30 dakikada alınabilmektedir. Testin duyarlılığı %90-98, özgüllüğü %97-100 olarak bildirenler vardır (79, 80). Doku örneğinde bakteri sayısının azlığına, sonuçların erken okunması bağlı olarak yalancı negatif sonuçlar alınabilmektedir. Üreaz testleri hızlı incelemeler arasında sınıflandırılır. (81).

2.5.1.2. Histopatolojik İnceleme

Antrumdan alınan biyopsi materyalinin HematoksilenδEozin, Giemsa, Warthin–Starry gibi boyama yöntemleriyle boyanıp ışık mikroskopunda *H. pylori*'nin taranması temeline dayanır (63, 82). Bu incelemeyle gastroduodenal patolojinin düzeyi ve premalign değişiklikler de saptanabilir.

İmmünohistokimyasal boyamada ise *H. pylori*'ye karşı monoklonal veya poliklonal floresan antikolar kullanılır. Oldukça duyarlı ve özgül bir yöntemdir fakat maliyeti yüksektir (82). Kullanılan antibiyotik ajanlar, bizmut ve omeprazol gibi

ilaçların düzensiz ve yetersiz kullanımı, bakteri sayısını azaltmakta ve antrum mukozasının histolojik görünümünü kısmen düzeltmekte, ancak enfeksiyonu tedavi edememektedir, bu yüzden bu hastalarda antral mukoza örneklerinin yanında korpus mukozasından da biyopsi önerilmektedir (83).

2.5.1.3. Kültür

Kültür patojen hakkında en kapsamlı bilgiyi sağlama ve yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olma nedeniyle, enfeksiyonu saptamada en yüksek standardizasyona sahip yöntemdir. Suşa ve hastaya özel antibiyogram olanağı sağlar. Histopatolojik incelemeye göre daha zor ve pahalıdır. (84).

Oksijene duyarlı olan bakterinin laboratuara ulaştırılması ve ekimi uygun koşullarda ve hızlı olmalıdır. Serum fizyolojik ve ticari olarak hazırlanmış besiyerleri taşıyıcı besiyeri olarak kullanılmaktadır. *H. pylori* kültürünün başarısı biyopsi örneğinin alımıyla ekimi arasındaki süreye ve oksijenle temasına bağlıdır. Alınan örnekler en fazla dört saat içinde ekilmeli, bu süre boyunca +4°C’de bekletilmelidir. Örnek hemen ekilemeyecekse -70°C’de saklanabilir, bu işlem kültürde üretmeyi %40 azaltacaktır. *H. pylori* seçici (antibiyotik içeren) ve seçici olmayan besiyerlerinde, mikroaerofilik ortamda 3-10 günde üretilmektedir. %5-10 yalancı negatif sonuç alınmaktadır (85). Mikroaerofil ortam, çeşitli ticari kitler kullanılarak, anaerop kavanozda sağlanabilir. Üreyen suşlar Gram boyama, üreaz, katalaz, oksidaz reaksiyonlarına göre konvansiyonel yöntemlerle değerlendirilerek tanı konur. Kültürde üretilen *H. pylori*’ye antibiyotik duyarlılık testi uygulanabilir, tiplendirme yapılabilir (86).

2.5.1.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR)

Dışkıda, mide sıvısında ve biyopsi örneklerinde PCR ile *H. pylori* tesbit edilebilir. Duyarlılığı ve özgüllüğü % 95’in üzerindedir (83).

Test oldukça duyarlı ve özgüldür. Bakteriye özgü 16S ribozomal RNA'nın amplifikasyonu temeline dayanır. Bu yöntemle CagA ve VacA genleri, bu genlerin birliktelik gösterdiği hastalıklar ve antibiyotik direnci araştırılabilir (63).

2.5.1.5. Üre Nefes Testi

Test *H. pylori* güçlü üreaz aktivitesine sahip olma temele dayanır. ^{14}C veya ^{13}C ile işaretlenmiş üre içeren solüsyon hastaya içirilir. Üre mide mukozasından emilir ve *H. pylori* ile karşılaşır, üreaz üreyi amonyak ve işaretli CO_2 'ye parçalayarak birkaç dakika içinde nefeste belirir. Hasta solüsyonu içtikten sonra CO_2 toplayıcı aparata nefes verir. Kullanılan madde ^{14}C ise sintilasyon sayacı ile, ^{13}C ise kütle spektrometresi ile ölçüm yapılarak *H. pylori* saptanır. ^{14}C ucuz ve radyoaktif, ^{13}C 'ün radyoaktivitesi yoktur fakat pahalıdır.

Testin duyarlılığı ve özgüllüğü %90–95'tir. Mide cerrahisi geçirenlerde ve proton pompa inhibitörü veya ranitidin kullananlarda güvenilir olmadığı bildirilmiştir (87).

2.5.1.6. Dışkı Antijen Testleri

Test, insan dışkısında *H. pylori* antijenlerinin immun kromotojenik yöntemlerle aranması esasına dayanan çeşitli testler vardır. Semptomatik hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun tanısı ve tedavi sonrası yanıtın izlenmesi amacıyla kullanılabilir.

Taze veya dondurulmuş dışkı örnekleri kullanılır. Örnek mümkün olduğunca çabuk test edilmelidir. Test hemen yapılamayacaksa, dışkı örneği 2-8 °C de 3 gün ya da (-20)-(-80) °C de çalışılınca kadar saklanabilir. Örnekler en fazla iki kez dondurulup çözülebilir. Bu testler dışkı örneği sulandırılmak dışında bir işleme tabi tutulmaz. Bu test, laboratuvarda kolayca uygulanabilir.

Kullanımı kolay, ucuz ve hızlı sonuç veren bir yöntemlerdir. Ayrıca hem güvenilir hem de hastalar tarafından daha çok tercih edilmektedir. Hamilelerde ve çocuklarda kolaylıkla uygulanabilir. Yapılan çalışmaların çoğunda, tedavi öncesi ve

sonrası bu yöntemin duyarlılık ve özgüllüğü yüksek bulunurken; birkaç çalışmada daha düşük tespit edilmiştir. Eradikasyon tedavisinin tamamlanmasından 4 hafta sonra bu test önerilmektedir (88, 89, 90).

2.5.1.7. Serolojik Testler

Helicobacter pylori ile mide mukozasının enfeksiyonu serumda spesifik IgG ve IgA; midede salgısal IgM ve IgA düzeyinin artışına neden olur. Antikorlar enfeksiyona karşı koruyucu olmaktan çok tanı değeri taşımaktadır (2). Bireyin *H. pylori* enfeksiyonu ile ilişkisinin araştırılmasında kanda anti-*H. pylori* IgG, IgM ya da IgA antikorlarının aranması yararlı, ucuz ve hızlı testlerdendir. Serolojik yöntemler, özellikle epidemiyolojik çalışmalarda ve tedavinin izlenmesinde yararlı olabilir. ELISA testlerinin çoğunun duyarlılığı %100'e, özgüllüğü ise %95'e ulaşmaktadır (2, 91).

2.6. *Helicobacter pylori* İle İlişkili Gastrik Hastalıklar

2.6.1. Gastrit

Gastrit, gastrik mukozanın kronik inflamasyonudur. Histolojik bir teşhistir. Akut gastrit; bazı zararlı maddelerce (NSAİ, alkol, safra vs.) gastrik mukozanın irritasyonunun sonucu oluşur ve histolojik olarak ılımlıdır. Ancak *H. pylori*'nin akut enfeksiyonunda histolojik olarak belirgin bir enflamasyon vardır ve klinik olarak nadiren tanınabilir (92).

İmmün yanıt hastaların çoğunda akut evrenin devamında *H. pylori*'yi ortadan kaldırmaya yeterli olmaz. Gastrit kronik hale geçer, bu durum genellikle ömür boyu devam eder ve genellikle asemptomatiktir (63, 65). Kronik gastritin nedeni hemen her zaman *H. pylori* enfeksiyonudur ve enfeksiyon tedavi ile kaybolur (92).

2.6.2. Duodenal Ülser

Duodenal ülser hastalarının %90'ından fazlasında *H. pylori* enfeksiyonu vardır. Araştırmalarda asit baskılayıcı tedavilere antibiyotik eklenmesinin ülser iyileşmesini hızlandırdığı ve *H. pylori* eradikasyonu sağlandığında daha az nüks görüldüğü bulunmuştur. Bu da *H. pylori*'nin duodenal ülser patogenezindeki rolünü kesin olarak açıklamaktadır (63, 65, 92).

2.6.3. Mide Ülseri

Mide ülseri *H. pylori*'ye duodenal ülsere göre daha az oranda bağlıdır (% 50–80) (65). Gastrik ülser patogenezinde, duodenal ülsere göre, *H. pylori* dışındaki faktörlerin daha fazla rol oynadığı öne sürülmüştür (93).

2.6.4. Non Ülser Dispepsi

Üç hafta veya daha uzun süredir dispeptik semptomlar olmasına rağmen endoskopik, radyolojik veya biyokimyasal olarak herhangi bir patolojinin bulunmaması halidir. *H. pylori* sıklığı yüksek oranda pozitif bulunmuştur (63).

2.6.5. Mide Kanseri

Gastrik adenokarsinomun yüksek oranda gözlendiği bölgelerde *H. pylori* insidansının yüksek olduğu gözlenmiştir (94). Kronik *H. pylori* enfeksiyonu midede asit salgılayan bölgeleri etkileyerek hipo veya aklorhidri ve gastrik atrofi oluşturur. Mukozal koruyucu faktörlerin kaybına bağlı olarak gastrik ülserasyon gelişir. Uzun süreli gastrik atrofi midede intestinal metaplazi ve mide kanserine yol açabilir (93). Mide kanseri oluşumunda *H. pylori* kadar çevresel iritan maddeler, nitritler ve beslenme yetersizliğinin de rolü vardır (63).

2.6.6. MALT Lenfoma

Mide lenfomalarının çoğu B lenfositlerinden kaynaklanır ve mukoza ile ilişkili lenfoid doku lenfoması olarak adlandırılır. *H. pylori* enfeksiyonunun bu tümör tipiyle yakın ilişkisi vardır. Retrospektif biyopsi araştırmalarında MALT lenfomasının %90'ının *H. pylori* ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. İleri olmayan evrelerde *H. pylori* eradikasyonunun tümör histolojisinde düzelme sağladığı gösterilmiştir (65, 95, 96).

2.7. Sitokinler

İmmün ve enflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılmasını sağlayan, uyarılmış lenfositler, monositler, makrofajlar ile diğer bazı hücrelerde sentezlenen 20-30 kD molekül ağırlığında peptid ya da glikoprotein yapısında çözünebilen maddelerdir.

Sitokinler salındıkları hücre çevresindeki hücelere (parakrin), salındıkları hücre üzerine doğrudan (otokrin) etki yaparak ya da dolaşıma salınarak uzaktaki hücelere (endokrin) etki yaparlar (97).

Sitokin salınımı kısa, kendini sınırlayan bir olgudur. Genel olarak sitokinler öncül moleküller olarak depolanmazlar ve sentezleri yeni gen transkripsiyonu ile başlatılır. Bu aktivasyon genellikle geçici olup, sitokinleri kodlayan mRNA'lar stabil değildir. Bu nedenle sitokin salınımı geçicidir ve bir kez sentezlendiğinde, sitokinler hızla salınırlar. Sitokinler çeşitli hücelere tarafından üretilir. Yani bu moleküllere lenfokin ya da monokin gibi sellüler kökenlerini belirtmeden sadece sitokin demek daha uygundur. Birçok farklı hücre tiplerine etki ederler. Bu özelliğe *pleiotropizm* denir (98).

Sitokinlerin aynı hedef hücrede farklı birçok etkileri vardır. Bazı etkiler aynı anda meydana gelirken, bazı etkiler farklı zaman aralıklarıyla oluşabilir (dakikalar, saatler, günler) (99).

Sitokin etkinliği genellikle gerektiğinden fazladır. Sitokinler diğer sitokinlerin sentezini etkilerler. İki sitokin birbirini antagonize ya da bazı durumlarda sinerjik etki

gösterebilirler. Sitokinler, diğer polipeptid hormonlarda olduğu gibi hedef hücrenin yüzeyindeki özel membran reseptörlerine bağlanarak etkilerini başlatırlar. Bu reseptörler transmembran proteinler olup, ekstrasellüler domainleri vardır ve özel olarak sitokinleri ve büyüme faktörlerini tanır ve bağlarlar. Biyolojik etki oluşturabilmek için çok küçük miktarlarda sitokin yeterlidir. Sitokinlere verilen hücresel yanıtların çoğu yeni mRNA ve protein sentezini gerektirmektedir. Birçok hedef hücre için sitokinler hücre bölünmesini düzenlerler yani büyüme faktörü gibi etki eder (98, 99).

Sitokinler enfeksiyon, immun yanıt, enflamasyon ve travma gibi durumlarda konak yanıtının düzenleyicisidir. Bu tür durumlarda bazı sitokinler inflamasyonu arttırırlar ve bunlara proinflamatuvar sitokinler denir. Bir kısım sitokinler ise proinflamatuvar sitokinlerin aktivitesini baskılamakla görevlidir. Bunlara da sitokinler denilmektedir. Örneğin; IL-4, IL-10 ve IL-13 güçlü bir B lenfosit aktivatörleridir ve aynı zamanda güçlü bir antiinflamatuvar ajandır. IL-1, TNF ve kemokinler ise proinflamatuvar sitokinlerdendir ve antiinflamatuvar sitokinlerin etkilerini baskırlarlar (97).

Başlıca proinflamatuvar sitokinler IL-1, TNF α , IL-6, IL-8, IL-11, IL-12 ve kemokinlerdir. Bunların başlıca sistemik etkileri hücre aktivasyonu ve çoğalması, nötrofili, ateş ve akut faz proteinlerinin indüksiyonu, kapiller geçirgenliğin artması, kompleman aktivasyonu, hipotansiyon ve şoktur.

Antiinflamatuvar sitokinler IL-4, IL-10, IL-13, IL-16, IFN α 'dır. Antiinflamatuvar sitokinlerin başlıca görevleri proinflamatuvar sitokinlerin aktivitelerini baskılamaktır (100).

2.7.1. İnterlökin-1 (IL-1)

En çok makrofajlar tarafından salgılanan, immunolojik reaksiyonların ve inflamasyonun başlaması için önemli bir mediatör olan IL-1, 17,5 kD ağırlığında α ve β olarak kodlanan iki farklı gen yapısındadır (101). T hücre aktivasyonu ve B hücre proliferasyonunu sağlar (97). İnterlökin-1 (IL-1) hemen hemen tüm doku ve organ

sistemlerinde etkili olan polipeptid yapıda bir sitokindir (99). İmmünolojik ve hematolojik yanıtlarda ve çeşitli savunma mekanizmalarında görev alır. IL-1'in biyolojik fonksiyonları bağlandığı hücreyi uyarıp hücre içinde hedef genleri eksprese ettirme veya baskılama olarak açığa çıkar. IL-1'in eksprese ettiği veya baskıladığı genler arasında sitokinler, büyüme faktörleri (GF) ve çeşitli proteinler bulunur. Pro-inflamatuar interlökin 1'in etkisiyle endotel hücreleri ve dolasımdaki lökositler etkilesir, monosit ve makrofaj aktivasyonu ve proliferasyonu indüklenir. IL-1'in immünolojik fonksiyonları dışında sıtma, bakteriyel enfeksiyonlar, letal radyasyon, inflammatuar bağırsak hastalıklarına karşı koruyucu etkileri bulunur (101).

2.7.2. İnterlökin-2 (IL-2)

Antijenle uyarılmış lenfosit kültürü sıvılarında bu hücrelerce sentezlenen ve çeşitli T lenfosit alt tiplerinin çoğalmasını sağlayan stimüle edici bir madde tespit edilmiş ve buna "T cell growt factor" denilmiştir. 1979 yılında bu maddeye IL-2 adı verilmiştir (102). IL-2 lenfositlerin alt grubu olan Th1 Th2 tarafından üretilir. T ve B lenfositlerini uyarır. Epitelyum hücrelerin onarımını hızlandırır. (2) NK ve nötrofillerin aktivasyonundan sorumludur (97). IL-2, kendisini üreten hücrelere etki edip kendi oluşumunu sağlar, bu onun otokrin büyüme faktörü işlevini gösterir. Ayrıca parakrin büyüme faktörü olarak da etkisi mevcuttur (99).

2.7.3. İnterlökin-4 (IL-4)

T_H lenfositleri, NK ve mast hücreleri tarafından salgılanan IL-4 B lenfositleri gelişme faktörüdür (101) Daha önceden "B cell growt factor" olarak bilinirdi (101, 102). Makrofajları aktive eder, mast hücrelerini farklılaştırır ve IgE salınımını arttırmaları. TNF ve IL-1 gibi inflammatuar mediatörlerin salgılanmasını engellerken, IL-1RA'yı uyarır (101). 20 kD ağırlığında bir glikoproteindir. Temel fizyolojik etkisi allerjik olayları düzenlemektir. Antijenle stimüle olmuş CD4+ T lenfositlerinden

özellikle TH2 alt grubundan kaynaklanırlar ve B ve T lenfositlerinin büyüme, etkinlik ve farklılaşmasından sorumludurlar (99).

2.7.4. İnterlökin-6 (IL-6)

IL-6 mononükleer fagositik hücreler, vasküler endotel hücreleri, fibroblastlar ve IL-6'ya ve TNF'ye duyarlı hücreler tarafından sentezlenen 26 kD moleküler ağırlığında bir sitokindir (102). TNF, IL-1, trombosit gelişme faktörü, antijenler ve bakteriyel endotoksinleri etkiler. Akut faz proteinlerinin sentezlenmesine neden olur (101). Diğer sitokinlerin sentezlenmesinde kofaktör olarak görev alır (102). IL-6'nın reseptörü 60 kD.luk bağlayıcı bir protein ile 130 kD'luk sinyal ileten alt birimden oluşur. IL-6'nun en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerindedir. 2) IL-6, B lenfositlerinin immunglobulin salınımı için bir kofaktör olarak rol oynar. Yani B lenfositleri için büyüme faktörü olarak rol oynar. Benzer şekilde malign plazma hücreleri için de (plasmositoma ya da myelom) büyüme hücresi rolü oynar ve kendi kendine büyüyen plazmasitom hücreleri otokrin büyüme faktörü olarak IL-6'yı salgılar (98). IL-6 diğer sitokinlerle birlikte kemik iliği hemopoetik ana hücreleri için erken dönemde büyüme kofaktörü olarak etki gösterir (99).

2.7.5. İnterlökin-10 (IL-10)

18 KD.luk bir sitokin olup CD4+ yardımcı hücrelerinin TH2 alt grubu tarafından üretilir. Ayrıca bazı aktive B hücreleri, TH1 hücreleri, aktive makrofajlar ve bazı non-lenfositik hücre tipleri (keratinositler) tarafındanda üretilir. IL-10'un iki önemli etkisi vardır. Birincisi; makrofajlar tarafından sitokinlerin (örn: TNF, IL-1, IL-12, kemokin) üretimini engellemek, ikincisi ise makrofajların T hücresi aktivasyonundaki işlevlerini engellemektir. Bu etkilerin sonucunda, T hücresi aracılığı ile gelişen bağışıklık yanıtı inhibe edilir. Makrofajlar üzerine inhibitör etkilerine ek olarak, IL-10'nun B lenfositleri üzerine uyarıcı etkileri vardır (98).

IL-10'un temel biyolojik etkinliği, T hücrelerinden sitokin yapımını baskılamak olduğu için orjinal "sitokin sentez inhibitörü" olarak bilinir (103).

2.7.6. İnterlökin-12 (IL-12)

T ve B lenfositler, NK hücreleri ve monositler dahil birçok hücre tarafından üretilir. (97, 103). NK hücreleri ve T lenfositlerine etkisi nedeniyle IL-12 hücrel bağışıklık yanıtının önemli bir düzenleyicisidir. IL-12 bilinen en güçlü NK hücresi uyarandır. NK hücreleri tarafından IFN- γ 'nın transkripsiyonunu tetikler ve IL-2 ile kuvvetli bir sinerjizm gösterir. NK hücrelerinin sitotoksik aktivitesini artırır ve bu hücrelerin büyüme faktörü olarak rol oynar. Ayrıca IL-12, olgunlaşmamış CD4+ T hücrelerinin TH1 alt grubunun farklılaşmasını uyarır. CD8+T hücrelerinin, olgun işlevsel olarak aktif sitolitik T lenfositlere farklılaşmasını uyarır. Bu etki nedeniyle dissemine kanser tedavisinde etkilidir (98).

2.7.7. İnterferon Gamma (IFN γ)

21-24 kD.moleküler ağırlığında bir glikoproteindir. IFN- γ , hem TH0, TH1 CD4+ yardımcı T hücreleri hem de tüm CD8+ T hücreleri tarafından üretilir. IFN öldürücü hücreler (NK) tarafından da üretilir (101, 103). IFN- γ , antiviral etkiyi artırır, antiproliferatif etkiyi aktive eder. 1) IFN- γ mononükleer fagositlerin güçlü bir aktivatörüdür. Temel Makrofaj Aktive edici Faktör (MAF.) dür ve T hücrelerinin makrofajları aktive etmesini sağlar. IFN- γ , class- I MHC molekül ekspresyonunu artırır. Direkt olarak T ve B lenfositlerine etkiyle farklılaşmalarına yardımcı olur. Nötrofilleri aktive eder ve damar endotel hücrelerinin aktivatörüdür (99).

2.7.8. Tümör Nekrozis Faktör α (TNF α)

Konak hücrenin gram negatif bakterilere karşı esas mediatörüdür. Diğer enfeksiyöz organizmalara karşı yanıtta da rol oynar. TNF'nin hücrel kaynağı lipopolisakkarit (LPS) ile aktive olan mononükleer fagositlerdir. T hücreleri, aktive NK hücreleri ve aktive mast hücreleri de bu proteini salgılar. İki çeşit TNF vardır.

Bunlar, genellikle aktif makrofajlardan salınan TNF- α (orjinal olarak kaşektin de denir) ile aktif T hücrelerinden salınan TNF- β (Lenfotoksin)dır (98).

TNF α 17 kD moleküler ağırlıktadır ve makrofajlar, T/B lenfositler, fibroblastlar, endotel hücreleri tarafından üretilirler. Tümör nekrozundan başka lokal olarak nötrofil infiltrasyonu, T ve B lenfosit proliferasyonu ve makrofaj aktivasyonuna neden olur. Koloni stimulan faktörün sentezini hızlandırır (100). TNF düşük yoğunluklarda lökosit ve endotel hücreleri için lokal olarak parakrin ve otokrin düzenleyicidir. TNF, IL-1, IL-6, kemokinler ve TNF'nin kendisini üretmek üzere mononükleer fagositleri ve diğer hücre tiplerini uyarır. IL-6 ile sinerjik etki gösterir. TNF, virüslere karşı interferon benzeri koruyucu etki gösterir (99).

2.7.9. Tümör Gelişim Faktörü β 1 (TGF β 1)

Kemik, böbrek, plasenta gibi organlarda, trombositler, makrofajlar ve T/B lenfositleri tarafından yapılan 25 kD molekül ağırlığında bir sitokindir. T/B lenfosit proliferasyonu, lenfokin ve immunoglobulin yapılmasını inhibe eder. NK hücrelerinin aktivasyonunu durdurur ve kemik dokuda osteoklast aktivasyonunu sağlar (100). TGF- β çok yönlü bir sitokindir. Hücre proliferasyonu, başkalaşma ve diğer işlevlerini modüle etmede rolü vardır. TGF- β 'nın immun etkisi inhibisyon şeklindedir (99).

2.8. Polimorfizm

Genomdaki hayati öneme sahip DNA dizileri sürekli korunmaktadır. Buna karşın bazı DNA dizilerinde ise kısıtlı değişiklikler oluşabilmektedir. Bu tür değişikliklerin gözlemlendiği DNA dizileri polimorfik bölge, bu kısımdaki DNA dizisi ise polimorfizm olarak adlandırılmaktadır (104). Normal bir popülasyonda bir karakter için iki ya da daha fazla fenotip bulunması ve fenotiplerin her birinin popülasyondaki bireylerin %1'inde olması gerekmektedir. Polimorfizmi mutasyondan ayıran en önemli fark değişikliğin protein sentezine yansımamasıdır. Mutasyonlar polimorfizme göre çok daha nadir olmaktadır ve sonuçları itibarıyla organizmaya zararlı olabilmektedirler. Tek nükleotid polimorfizmi ve kısa DNA dizilerinin dublikasyonu

ile orta sıklıkta tekrarlanan DNA dizileri polimorfizmleri olmak üzere iki tür polimorfizm vardır. Polimorfizmler genetik varyasyonların %90'ından sorumludurlar. Birçok genin kodlayıcı bölgelerinde polimorfizm vardır. Fakat kodlama yapmayan bölgelerde polimorfik değişikliklere daha sık rastlanmaktadır. Hücre fonksiyonlarını genel olarak etkilemezler fakat etkenlere verilen yanıtları değiştirebilirler ve kuşaktan kuşağa geçerler. Son yıllarda tek nükleotid değişikliği ile hastalık duyarlılığı arasında ilişki olduğu bulunmuştur. Örneğin; *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda . IL-1 β -511 ve -31 pozisyonlarda iki allelik poliformizm saptanmıştır. IL-1 β gastrik asit sekresyonunu güçlü bir şekilde baskılamaktadır. IL-1 β -511 ve -31 ve IL-1RN pozisyonlarındaki polimorfizmler hipokloridi ve gasrik kanser gelişimi ile ilişkili bulunmuştur (105, 106).

3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışma Grubu

Bu çalışmaya KTÜ Tıp Fakültesi Gastroenteroloji BD polikliniğine gastrointestinal sistem şikayetleriyle başvuran ve uzman bir doktor tarafından yapılan fizik muayene ve değerlendirme sonucu üst gastrointestinal endoskopisi yapılan nonülser dispepsi ve peptik ülser tanısı almış 50 hasta alındı. Bu hastalardan alınan kan, biopsi ve gaita örnekleri KTÜ Tıp Fakültesi mikrobiyoloji laboratuvarında değerlendirildi. Özefagus ve mide cerrahisi yapılan, özefagus ya da mide kanseri olan, endoskopiye reddeden ve daha önce *H. pylori* eradikasyon tedavisi almış olan hastalar çalışma dışı bırakıldı.

3.1.2. Kullanılan Gereçler

Otoklav, inkübatörler, ışık mikroskobu, anaerobik kavanozlar, santrifüj, lam, mikrosantrifüj, manyetik karıştırıcı, hassas terazi, pH ölçer, buzdolabı, -20 ve -80'lik derin dondurucular, vorteks, çalkalayıcı, cam petri kutuları, çeşitli tüpler, enjektörler, otomatik pipetler, otomatik pipet uçları, pastör pipetleri, güç kaynağı, elektroforez tankı, UV ilüminatör spor, pastör fırını, ependorf tüpler, therma cyclers, spektrofotometre, deiyonize su sağlayıcı, buz makinesi, mikrodalga fırın, distile su cihazı, etüv.

3.1.3. Kullanılan Besiyeri, Kimyasallar ve Kitler

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler, kitler ve sarf malzemeleri çeşitli firmalardan temin edildi. Trimetoprim, vancomisin, Trisma-base, ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA), ethidium bromide, (Sigma), ficoll (Biochrom) borik asit, bromphenol blue (Fisher), hydrochloride acid (HCl), glycerol, Xylene cyanole (Merck), Brucella Agar (Criterion), Brucella Broth (Becton Dickinson), Brain-Heart Infusion Agar (Acumedia), Urea Agar Base (Lab M), agaroz (Seakem LE), amphotericin B (Bristol Mayers), taq DNA polimerase, deoksinükleotit primerleri (dNTP's) (Promega), Cytokine Genotyping Kit (İnvitrogen), Campy Pak Plus (BBL) (Becton Dickinson)

Solüsyonlar

1. Mononükleer hücre ayırım solüsyonları

1. Fikoll

2. PBS

1X çalışma solüsyonu

137 mM NaCl

2,7 mM KCL

4,3 mM Na_2HO_4

1,47 mM KH_2PO_4

2. Agaroz Jel Elektroforezi Solüsyonları

1. TBE elektroforez tamponu (Tris-borik asit-EDTA)(pH~8.0)

10X stok solüsyonu (1L)

108 g Tris base

55 g Borik asit

40 ml 0,5 M EDTA (pH 8.0)

0,5X çalışma solüsyonu (1L)

44,5 mM Tris base

44,5 mM Borik asit

1 mM EDTA

2. Etidium bromide solüsyonu (10mg/ml)

3. Yükleme tamponu

%02 Bromphenol blue

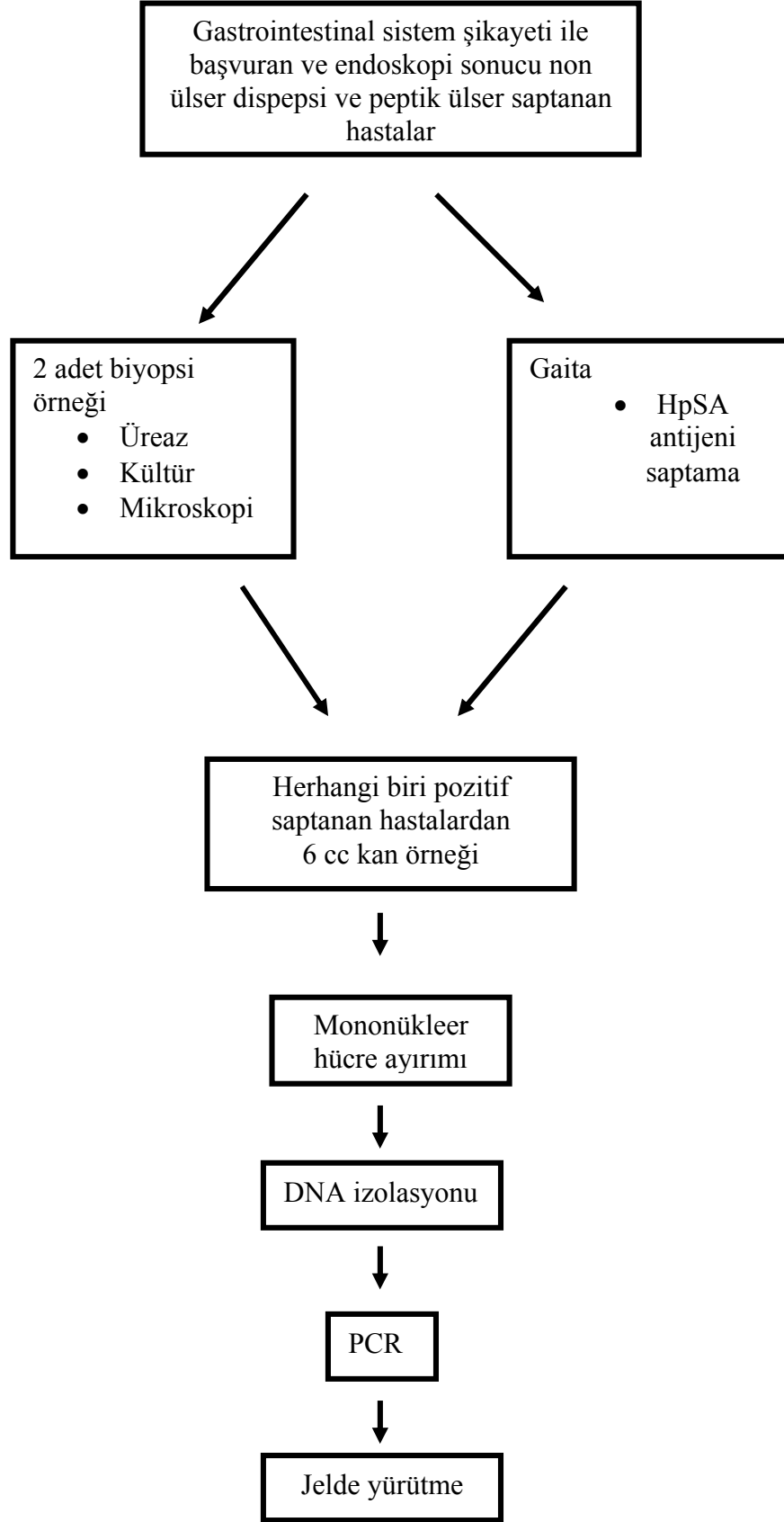
Xylene cyanole

%30 gliserol

3.2. METOD

3.2.1. Çalışma Planı

Rutin fizik muayene ve değerlendirme sonucu nonülser dispepsi ve peptik ülser tanısı almış hastalardan iki adet biyopsi örneği alındı. Örneklerden biri ile üreaz bakılırken diğer örnekler kültür için Brucella agara ekildi ve direkt mikroskopide incelenmek üzere biri yedek olmak üzere iki lam hazırlandı. Ayrıca hastaların gaita örneklerinde HpSA antijeni arandı. Üreaz, kültür, direkt mikroskopi veya gaitasından herhangi biri pozitif saptanan hastalar değerlendirilmeye alındı. Bu hastalardan EDTA'lı tüpe 6 cc kan alınarak önce mononükleer hücre ayırımı yapıldı. Ayrılan bu hücreler DNA izolasyonu yapılana kadar -20°C 'de saklandı. Mononükleer hücrelerden DNA izolasyonu yapıldı. PCR yapılarak sonuçlar yorumlandı.



Şekil 1: Çalışma planı ve işlemlerin yürütülme şeması

3.2.2. Mikrobiyolojik İnceleme

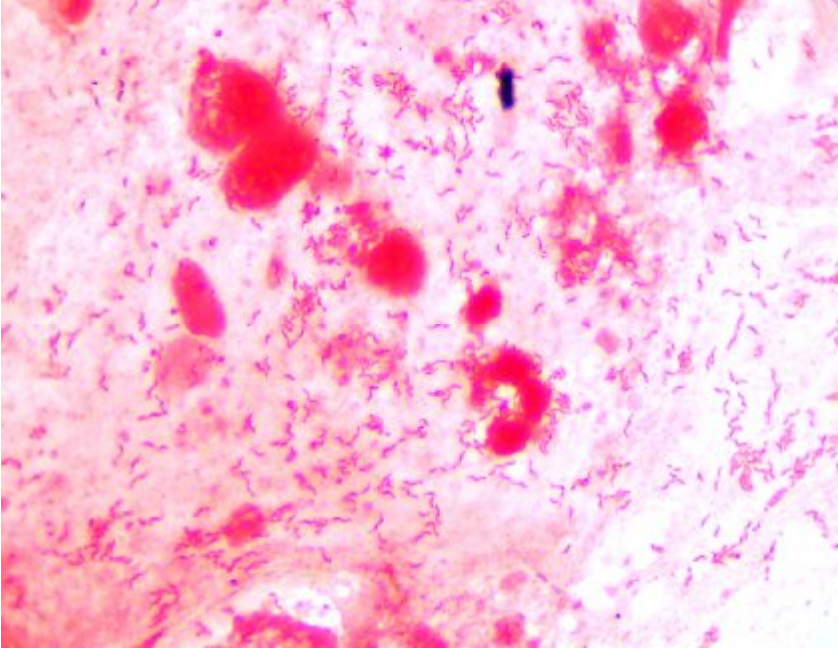
3.2.2.1. Kültür

Kültür için Brucella agar kullanıldı. Besiyerine %5 koyun kanı veya insan kanı, 10mg/L vankomisin, 5mg/L trimetoprim, 1mg/L amfoterisin B eklendi. Üreyenlerde antibiyogram yapabilmek için büyük petrilere besiyerleri antibiyotiksiz olarak hazırlandı. Serum fizyolojik içerisinde transfer edilen biyopsi örnekleri steril bir penset yardımı ile, mukuslu kısmı besiyerine sürülerek ekim yapıldı. Ekim yapılan besiyerleri bir anaerobik kavonoz içerisinde, CampyPak Plus mikroaerofilik sistem veya özel olarak hazırlanmış, %85 N, %10 CO₂, %5 O₂ içeren gaz karışımı ile muamele edilerek 37⁰C’de inkübe edildi. Sonuçlar 48-96 saat içerisinde değerlendirildi. Üreme saptanan kültürlerden alınan kolonilerden Gram boyama, hızlı üreaz, oksidaz ve katalaz testleri yapıldı.

Gram negatif, üreaz, oksidaz ve katalaz pozitif olan bakteriler *H. pylori* olarak belirlendi.

3.2.2.2. Direkt Mikroskopi

Kültürü yapılan gastrik biyopsi örneği penset yardımı ile steril iki lama sürülerek preparat hazırlandı. Preparatlardan biri Gram boyama ile boyanarak immersiyol mikroskopunda incelendi. Diğer preparat ise birinci preparattan sağlıklı sonuç alınmadığında kullanılmak üzere saklandı. Preparatlarda mukus tabakası içerisine yerleşmiş, gram negatif, kıvrık, martı kanadı şeklinde bakteriler saptandığında *H. pylori* pozitif olarak değerlendirildi.



Şekil 2: Gastrik biyopsi örneklerinden hazırlanan preparatlarda *H. pylori*'nin görünümü

2.2.3. Üreaz Testi

Üreaz testi için; Urea agar base kullanıldı. Distile su içerisinde çözülerek 121 °C'de 15 dak. otoklavlanarak steril edildi. 45-55 °C'ye kadar soğutuldu. Ayrı bir yerde %40'lık üre hazırlandı ve filtreden geçirilerek steril edildi. Bu çözelti hazırlanan besiyerine son konsantrasyonu %2 olacak şekilde eklenerek steril pleytlere döküldü. Pleytler steril bisturi ile küçük parçalara ayrıldı. Bunlar steril bir penset yardımıyla alınarak lam üzerine aktarıldı. Şüpheli bakteriler ya da biyopsi örnekleri bu ortama batırıldı ve 37°C'de inkübe edildi. Sarıdan pembeye renk dönüşümünün olması testin pozitif olduğu şeklinde yorumlandı.

3.2.2.4. Gaitada HpSA Antijeni Saptanması

Rapid Strip HpSA kiti kullanılarak hastalardan alınan gaita örneklerinde *H. pylori* antijeni arandı. Örnekler test edilene kadar 2-8 °C'de transport kabı içerisinde saklandı. Gaitanın 3 farklı alanına kitin toplama probu batırıldı ve 1ml sample diluent içerisine bırakıldı. Hafifçe vortekslenerek kitin stribine 4 damla damlatıldı. 5 dakika

bekletildikten sonra yorumlandı. Sonuç penceresinde sadece bir bant görülmesi negatif çift bandın görülmesi pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.5. Biyokimyasal Testler

a) Oksidaz Testi

Oksidaz testi için; N, N-dimethyl-1, 4- phenylen diammonium-dichloridin distile sudaki %1'lik çözeltisi (oksidaz ayıracı) hazırlandı. Ayıraç ışık ve oksijene dayanıksız olduğu için küçük hacimlere bölündü ve alüminyum folyo ile sarılarak kullanılmaya kadar -20⁰C'de saklandı. Şüpheli koloni filtre kağıdı üzerine alınarak ezildi. Üzerine bir damla oksidaz ayıracı damlatıldı. Kolonilerin olduğu bölgede mor renk oluşumunun olması oksidaz pozitif olarak değerlendirildi.

b)Katalaz Testi

Katalaz testi için; steril distile su ile %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisi (katalaz ayıracı) hazırlandı. Bu çözelti koyu renkli şişelerde 4⁰C'de saklandı. Steril bir özeyele temiz bir lam üzerine bir miktar bakteri alındı. Üzerine 1-2 damla katalaz ayıracı damlatıldı. Köpürme şeklinde gaz çıkışının gözlenmesi katalaz pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.3. Mononükleer Hücre Ayırımı

15 ml'lik falkon tüplerine 3 ml fikol konuldu ve üzerine hastadan alınan 6cc tam kan tüpün yanından yavaşça süzdürülerek eklendi. 2600 rpm'de 25 dak. santrifüj edildi. Santrifüj sonrası plazma ile fikol arasında kalan buğulu görünen kısım başka bir falkon tüpüne aktarıldı. Üzeri PBS ile 12 cc'ye tamamlanarak 2000 rpm'de 10 dak. santrifüj edildi ve üst kısmı döküldü. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı. Tüpün dibine

Çöken mononökleer hücrelerin üzerine 0,5 cc PBS eklenerek pastör pipetiyle karıştırıldı ve endorf tüpe aktararak kullanılıncaya kadar -20°C 'de saklandı.

3.2.4. DNA İzolasyonu

DNA izolasyonu için MagNA Pure LC (Roche) cihazı ve MagNA Pure Total Nucleic Acid İsolation Kiti (Roche) kullanıldı.

3.2.5. DNA'nın Spektrofotometrede Konsantrasyonunun Ölçümü

MagNA Pure ile izole edilen DNA'ların 260 nm boyundaki absorban değerleri okundu. DNA 1/10 oranında sulandırılarak okunan absorban değerlerinden örneklerdeki DNA konsantrasyonu hesaplandı. Polimeraz zincir reaksiyonunda (PCR) kullanılmak üzere DNA'lar steril deiyonize su ile 75-125 ng/µl olacak şekilde sulandırıldı.

3.2.6. İzole Edilen DNA'da Beta Actin Geninin Bakılması

Beta actin hücrenin hareketini ve yapısını korumakla görevli ve her hücrede bulunan housekeeping bir proteindir. Testlerde internal kontrol olarak kullanılır. Housekeeping genlerin sentezi tüm nükleuslu hücre tiplerinde vardır ve bunlar hücrenin hayatta kalması için gereklidirler. İzole edilen DNA'larda aynı zamanda beta actin geninin varlığı per ile araştırılarak örnekte yeterli DNA olup olmadığı saptandı. Bunun için beta actin genine spesifik (ATCATGTTTGAGACCTTCAA ve CATCTCTTGCTCGA AGTCCA 320 bp) primerler kullanıldı. Tablo 4'de belirtilen miktarda her hasta için master miks hazırlandı. Hafifçe vortekslenerek her bir hasta için küçük endorflara 40'ar µl bölündü. Üzerine 10µl hasta örneği eklenerek tablo 5'de belirtilen PCR döngüsü programında amplifiye edildi. Amplifiye edilen PCR ürünlerinin jel elektroforezde yürütmek için 0,5X TBE tamponlu %2'lik agaroz jel

hazırlandı. Örnekler agaroz jele yüklenerek 85V'da 30 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Sonuçlar UV transilluminatörde değerlendirildi.

Tablo 4. Beta actin gen analizinde bir hasta için gerekli mastermiks miktarı

Buffer	5 µl
dNTP mix (10mM)	2 µl
MgCl (25 mM)	3 µl
Primer mix (10pM)	5 µl
Taq polimeraz	0.25 µl
Ddw	24.75 µl
Template	10 µl

Tablo 5. Beta actin geni için PCR döngü programı

1. Adım	Başlangıç Denatürasyon	94°C	5 dakika	
2. Adım	Denatürasyon	95°C	1 dakika	20 döngü
	Annealing	60°C	1 dakika	
	Extansiyon	72°C	1,5 dakika	
3. Adım	Ekstansiyon	72°C	7 dakika	
4. Adım	Bekletme	72°C		

3.2.7. Sitokin Gen Polimorfizminin Tespiti İçin PCR Yapılması

Sitokin gen polimorfizminin tespiti için İnvitrogen firmasından temin edilen PCR-SSP sitokin gen paneli 13 farklı sitokin çeşidinin tespitinde kullanıldı. İnvitrogen sitokin gen paneli 2 ayrı bileşenden (1. oligonükleotid primerleri emdirilmiş 96'lı pletler, 2. buffer) oluşmaktadır. Her bir hastanın PCR-SSP amplifikasyonu için 522,3 µl topla hacimli master miks ve DNA karışımı (Buffer 140µl, genomik DNA 50µl, deiyonize su 329µl, Taq Pol. (5U/µl) 3,3µl) hazırlandı. (Tablo 8)Hazırlanan master miksler hafifçe vortekslenerek her bir hasta için pletlerdeki 48 kuyucuğa 10'ar µl bölündü. Tablo 7'de verilen PCR döngü programında amplifiye edildi. Amplifiye edilen PCR ürünlerinin jel elektroforezde yürütmek için 0,5X TBE tamponlu %2'lik

agaroz jel hazırlandı. Örnekler, her bir hasta için 24'lük 2 ayrı jele yüklenerek 0,5X TBE'li tampon ortamında 85V, 35 dakika elektroforeze tabi tutuldu. Sonuçlar UV transilluminatörde değerlendirildi. Her bir kuyucukta bulunan pozitif kontrollerin çalışıp çalışmadığı kontrol edilerek çift bant gösteren kuyucuklar pozitif olarak kabul edildi ve fotoğraflandı. Şekil 10. İnvitrogen sitokin gen polimorfizm analiz cetveline işaretlenerek değişimler saptandı (Tablo 8). Tablo 6 ve 7' de master miks bileşenleri ve PCR döngü programı verildi.

Tablo 6. Sitokin genleri analizinde bir hasta için gerekli mastermiks miktarı

PCR buffer	140µl
Taq DNA pol.(5U/µl)	3,3 µl
ddw	329 µl
DNA (75-125 ng/µl)	50 µl

Tablo 7. Sitokin genleri için PCR döngü programı

1. Adım	Başlangıç Denatürasyon	94°C	2 dakika	
2. Adım	Denatürasyon	94°C	15 saniye	10 döngü
	Annealing	65°C	1 dakika	
3. Adım	Denatürasyon	94°C	15 saniye	20 döngü
	Annealing	61°C	50 saniye	
	Extansiyon	72°C	30 saniye	
4. Adım	Bekletme	4°C	Süresiz	

3.3. İstatistiksel Analizler

Sitokin gen polimorfizminin istatistiksel analizi SPSS Windows 9.0 programı kullanılarak yapıldı. Gruplar arasındaki istatistik önemlilik χ^2 testi ile hesaplandı.. Ortalama değerler Student's *t*-testi kullanılarak karşılaştırıldı. Yaş, cinsiyet ve eşlik eden hastalıklar univariate analiz ile değerlendirildi. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 8. İnvitrogen sitokin gen poliformizmi analiz cetveli

1. Pleyt	2. Pleyt	Sitokin Geni	Allelik özellik	Baz uzunluğu	İnternal kontrol
1	49	IL-1 α	T at pos -889	220	440
2	50	IL-1 α	C at pos -889	220	440
3	51	IL-1 β	C at pos -511	215	440
4	52	IL-1 β	T at pos -511	215	440
5	53	IL-1 β	T at pos +3952	336	440
6	54	IL-1 β	C at pos +3952	336	440
7	55	IL-1R	C at pos pst1 1970	288	440
8	56	IL-1R	T at pos pst1 1970	288	440
9	57	IL-1RA	T at pos mspa1 11100	297	440
10	58	IL-1RA	C at pos mspa1 11100	297	440
11	59	IL-4Ra	G at pos +1902	143	440
12	60	IL-4Ra	A at pos +1902	143	440
13	61	IL-12	C at pos -1188	802	440
14	62	IL-12	A at pos -1188	802	440
15	63	IFN- γ	A at pos -874	277	440
16	64	IFN- γ	T at pos -874	277	440
17	65	TGF- β	C at Codon10;G at Codon25	80	440
18	66	TGF- β	C at Codon10;C at Codon 25	80	440
19	67	TGF- β	T at Codon10;G at Codon 25	80	440
20	68	TGF- β	T at Codon10;C at Codon 25	80	440
21	69	TGF- β	C at Codon 10	195	440
22	70	TGF- β	T at Codon 10	195	440
23	71	TNF- α	G at pos -308;G at pos -238	110	440
24	72	TNF- α	A at pos -308;G at pos -238	110	440

TABLO 8'in devamı

2. Pleyt	2. Pleyt	Sitokin Geni	Allelik özellik	Baz uzunluğu	İnternal kontrol
25	73	TNF- α	G at pos -308;A at pos -238	110	440
26	74	TNF- α	A at pos -308;A at pos -238	110	440
27	75	IL2	T at pos -330;G at pos +166	562	89
28	76	IL2	G at pos -330;G at pos +166	564	89
29	77	IL2	G at pos -330;T at pos +166	569	89
30	78	IL2	T at pos -330;T at pos +166	569	89
31	79	IL4	T at pos -1098;T at pos -590	557	89
32	80	IL4	T at pos -1098;C at pos -590	557	89
33	81	IL4	G at pos -1098;T at pos -590	557	89
34	82	IL4	G at pos -1098;C at pos -590	557	89
35	83	IL4	T at pos -590;T at pos -33	610	89
36	84	IL4	T at pos -590;C at pos -33	610	89
37	85	IL4	C at pos -590;T at pos -33	610	89
38	86	IL4	C at pos -590;C at pos -33	610	89
39	87	IL6	G at pos -174;G at pos nt565	427	89
40	88	IL6	C at pos -174;G at pos nt565	426	89
41	89	IL6	G at pos -174;A at pos nt565	428	89
42	90	IL6	C at pos -174;A at pos nt565	428	89
43	91	IL10	G at pos -1082;C at pos -819	305	89
44	92	IL10	G at pos -1082;C at pos -592	530	89
45	93	IL10	A at pos -1082;C at pos -819	305	89
46	94	IL10	A at pos -1082;T at pos -819	305	89
47	95	IL10	G at pos -1082;C at pos -592	530	89
48	96	IL10	A at pos -1082;A at pos -592	530	89

4. BULGULAR

Bu çalışma KTÜ Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Ve Klinik Mikrobiyoloji Anabilim Dalı ve Gastroenteroloji BD'nda Mart 2007 ile Haziran 2007 tarihleri arasında gerçekleştirildi. Bu süre içerisinde biyopsi veya gaita örneklerinden en az biri pozitif olan 25 nonülser dispepsi ve 25 peptik ülser hastası olmak üzere 50 hastanın kan örnekleri alındı.

Hastaların yaşları 17-72 arasında değişiklik gösteriyordu. Hastaların yaş ortalaması 41,52 idi. Her iki hastalık grubunda cinsiyetlere göre yaş ortalaması incelendiğinde kadın nonülser dispepsi hastalarının yaş ortalaması 48,63 olarak saptanırken erkek hastalarda 38,12 olarak tespit edilmiştir. Peptik ülser hastalarında ise kadınlarda yaş ortalaması 44,27 iken erkeklerde 39,42 olarak tespit edilmiştir. Tablo 9'da iki hastalık grubunda hastaların cinsiyetlerine göre yaş ortalaması verilmiştir. Cinsiyete göre yaş ortalamalarının hastalıklara dağılımında istatistiksel olarak bir fark yoktur.

Tablo 9. Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında cinsiyete göre yaş ortalaması

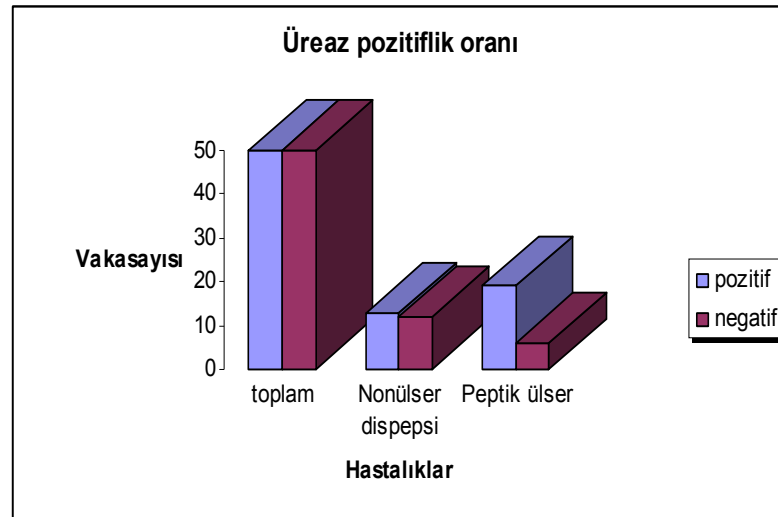
	Kadın	Erkek
Nonülser dispepsi	48,62	38,12
Peptik ülser	44,27	39,42

Hastalardan alınan biyopsi örnekleri *H. pylori* açısından üreaz testi ile değerlendirildiğinde; örneklerden nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında

sırasıyla 13'ünde (%52) ve 19'unda (%76) üreaz ile *H. pylori* pozitif tespit edildi. *H. pylori*'yi tanımlama açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanamadı. (p=0,141) (Tablo 10)

Tablo 10. Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının biyopsi örneklerinde üreaz ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Toplam vaka sayısı n	Nonülser dispepsi		Peptik ülser	
	mikroskopi(+)	%	mikroskopi (+)	%
50	13	52	19	76

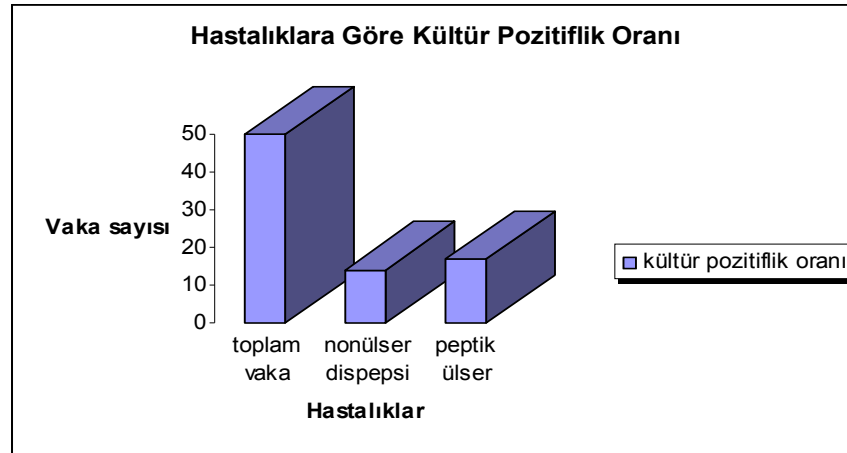


Şekil 3: Biyopsi örneklerinde üreaz ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Biyopsi örneklerinde yapılan kültürlerin pozitiflik oranı 25 nonülser dispepsi ve peptik ülser örneğinde sırasıyla 14 (%56), 17 (%68) olarak tespit edilmiştir. (Tablo 11) İki hastalık arasında kültür pozitifliği açısından istatistiksel olarak fark saptanamadı. (p=0,560)

Tablo 11. Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının biyopsi örneklerinde kültür ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Toplam vaka sayısı n	Nonülser dispepsi		Peptik ülser	
	Kültür (+)	%	Kültür (+)	%
50	14	56	17	68

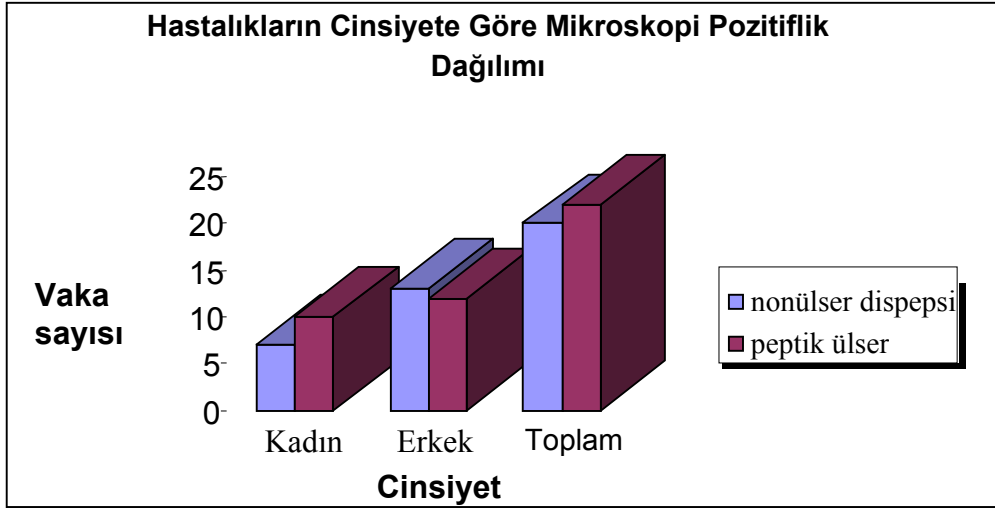


Şekil 4: Biyopsi örneklerinde kültür ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Nonülser dispepsi hastalarının 17'si erkek, 8'i kadın iken ülser hastalarının 14'ü erkek, 11'i kadındır. Mikroskopik incelemede pozitiflik oranı kadın ve erkek nonülser dispepsi hastalarında sırasıyla 7 (%35) ve 13 (%55) olarak tespit edilirken peptik ülser hastalarında 10 (%45,45) ve 12 (%45,45) olarak tespit edilmiştir (Tablo 12).

Tablo 12. Kadın ve erkek nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının biyopsi örneklerinde mikroskopi ile *H. pylori* tespit edilme oranları

	Kadın		Erkek		Toplam	
	Mikroskopi (+)	%	Mikroskopi (+)	%	Mikroskopi (+)	%
Nonülser dispepsi	7	35	13	55	20	100
ülser	10	45,45	12	54,55	22	100

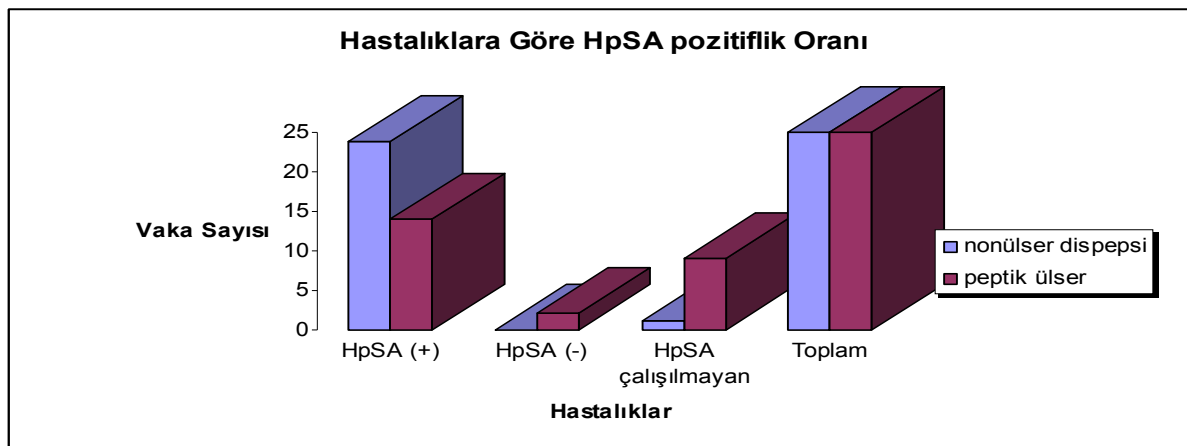


Şekil 5: Kadın ve erkek hastaların biyopsi örneklerinde mikroskopi ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Gaitada HpSA antijen araştırılması nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sırasıyla 24 ve 14 olarak tespit edilmiştir. 1 nonülser dispepsi ve 9 peptik ülser hastasının gaitasında HpSA antijeni araştırılmamıştır (Tablo 13).

Tablo 13. Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında HpSA antijen testi ile gaitada *H. pylori* tespit edilme oranları

	HpSA (+)		HpSA (-)		HpSA çalışılmayan		Toplam	
	n	%	N	%	n	%	n	%
Nonülser dispepsi	24	96	0	0	1	4	25	100
ülser	14	56	2	8	9	36	25	100

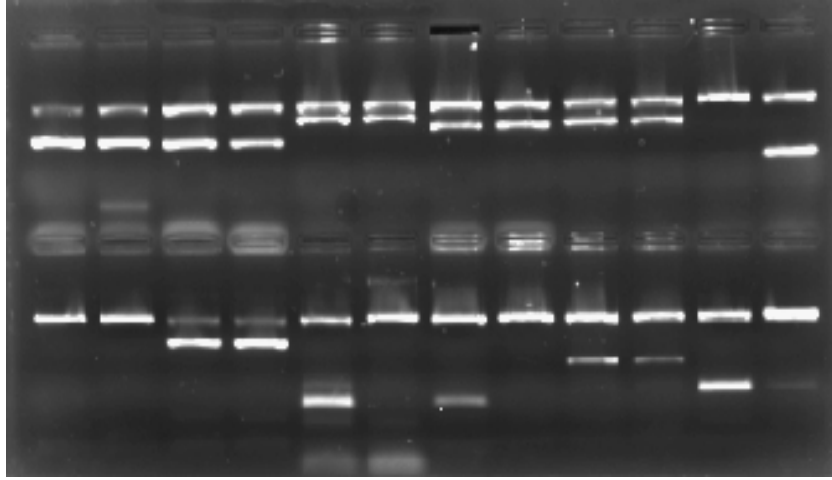


Şekil 6: Hastaların gaitalarında HpSA antijen testi ile *H. pylori* tespit edilme oranları

Nonülser Dispepsi ve Peptik Ülser Hastalarında Sitokin Gen Polimorfizm İle İlgili Bulgular

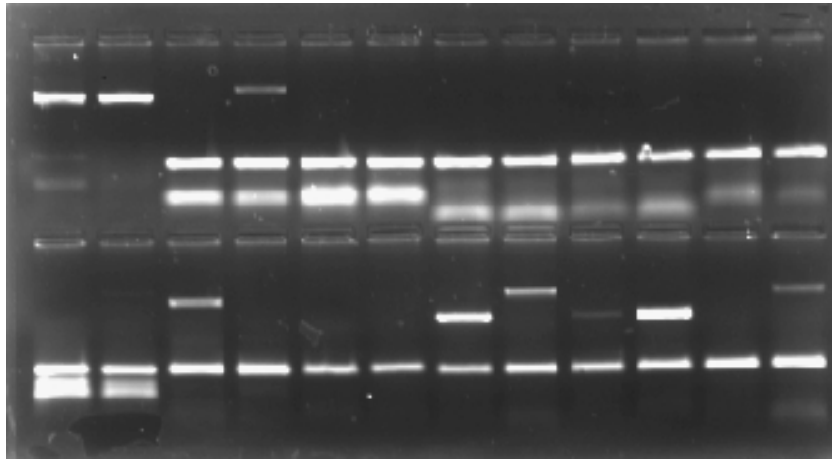
Nonüler dispepsi ve peptik ülser hastalarının sitokin gen polimorfizmleri karşılaştırıldığında; **TNF- α** -308 G -238 A ($p=0,009$), **IL6** -174 C; nt565 G($p=0,049$) ve **IL10** -1082 G; -592 C ' de ($p=0,032$) istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı. **TNF- α** -308 G -238 A polimorfizmi 5 nonülser dispepsi hastasında pozitif saptanırken 15 peptik ülser hastasında pozitif saptanmıştır. **IL6** -174 C; nt565 polimorfizmi 1 nonülser dispepsi hastasında pozitif saptanırken 7 peptik ülser hastasında pozitif saptanmıştır. **IL10** -1082A; -592 C polimorfizmi ise 13 nonülser dispepsi hastasında pozitif saptanırken 21 peptik ülser hastasında pozitif saptanmıştır. Diğer polimorfizmlere baktığımızda ise **IL-1 α** -889 T, **IL-1 α** -889 C, **IL-1 β** -511 C, **IL-1 β** -511 T, **IL-1 β** +3952 T, **IL-1R** pst1 1970 C, **IL-1RA** mspal 11100 T, **IL-4Ra** +1902 A, **TNF- α** -308 G; -238 G, **IL10** -1082 G; -819 C ve **IL10** -1082 A; -819C de her iki hasta grubumuzda da aynı anda %80'in üzerinde pozitiflik ile en yüksek pozitiflik oranı saptanmıştır. Bunun aksine **IL-12** -1188 C, **TGF- β** 10 kodon C; 25 kodon C, **TNF- α** -308 A; -238 A, **IL2** -330 G; +166 T, **IL4** -1098 G; -590 T, **IL4** -1098 G; -590 C, **IL4** -590 T; -33 C, **IL4** -590 C; -33 T ve **IL6** -174 G; nt565 A her iki grupta aynı zamanda %20'nin altında pozitiflik

saptanmıştır. TGF- β Codon10 T; Codon 25 C'de ise her iki grupta hiçbir hastada pozitiflik saptanmamıştır (Tablo 14).



(1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9,
10, 12)

(15, 16, 17, 19, 21, 22,
23, 24)



(25,28)

(39, 43, 44, 45, 46, 48)

(Çift bantlar pozitifdir)

Şekil 7: Sitokin gen polimorfizminin %2'lik agaroz jeldeki görüntüsü

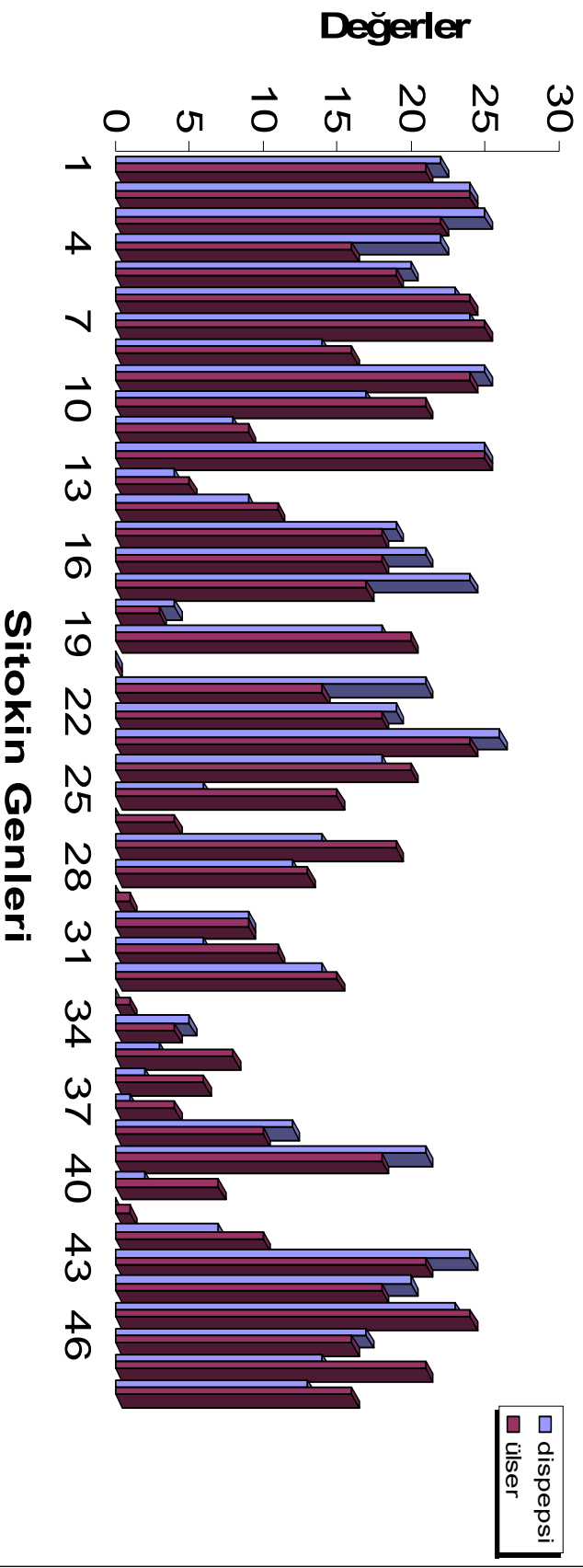
Tablo 14. Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının sitokin gen polimorfizm sonuçlarının karşılaştırılması

	Sitokin Geni	Allelik özellik	bp	Nonülser dispepsi		Peptik ülser		P değeri
				n	%	n	%	
1	IL-1 α	T at pos -889	220	21	84	21	84	1,000
2	IL-1 α	C at pos -889	220	23	92	24	96	1,000
3	IL-1 β	C at pos -511	215	24	96	22	88	0,609
4	IL-1 β	T at pos -511	215	21	84	16	64	0,196
5	IL-1 β	T at pos +3952	336	19	76	19	76	1,000
6	IL-1 β	T at pos +3952	336	22	88	24	96	0,609
7	IL-1R	C at pos pst1 1970	288	23	92	25	100	0,490
8	IL-1R	T at pos pst1 1970	288	14	56	16	64	0,773
9	IL-1RA	T at pos mspa1 11100	297	24	96	24	96	1000
10	IL-1RA	C at pos mspa1 11100	297	16	64	21	84	0,196
11	IL-4Ra	G at pos +1902	143	7	28	9	36	0,762
12	IL-4Ra	A at pos +1902	143	24	96	25	100	1,000
13	IL-12	C at pos -1188	802	4	16	5	20	1,000
14	IL-12	A at pos -1188	802	9	36	11	44	0,773
15	IFN- γ	A at pos -874	277	19	76	18	72	1,000
16	IFN- γ	T at pos -874	277	20	80	18	72	0,741
17	TGF- β	C at Codon10;G at Codon25	80	23	92	17	68	0,074
18	TGF- β	C at Codon10;C at Codon 25	80	4	16	3	12	1,000
19	TGF- β	T at Codon10;G at Codon 25	80	18	72	20	80	0,741
20	TGF- β	T at Codon10;C at Codon 25	80	0	0	0	0	000
21	TGF- β	C at Codon 10	195	20	80	14	56	0,130
22	TGF- β	T at Codon 10	195	19	76	18	72	1,000
23	TNF- α	G at pos -308;G at pos -238	110	25	100	24	96	1,000
24	TNF- α	A at pos -308;G at pos -238	110	17	68	20	80	0,519

	Sitokin Geni	Allelik özellik	bp	Nonülser dispepsi		Peptik ülser		P değeri
				n	%	n	%	
25	TNF- α	G at pos -308;A at pos -238	220	5	20	15	80	0,009
26	TNF- α	A at pos -308;A at pos -238	220	0	0	4	16	0,110
27	IL2	T at pos -330;G at pos +166	215	13	42	19	76	0,141
28	IL2	G at pos -330;G at pos +166	215	11	44	13	52	0,777
29	IL2	G at pos -330;T at pos +166	336	0	0	1	4	1,000
30	IL2	T at pos -330;T at pos +166	336	9	36	9	36	1,000
31	IL4	T at pos -1098;T at pos -590	288	5	20	11	44	0,130
32	IL4	T at pos -1098;C at pos -590	288	13	52	15	60	0,776
33	IL4	G at pos -1098;T at pos -590	297	0	0	1	4	1,000
34	IL4	G at pos -1098;C at pos -590	297	5	20	4	16	1,000
35	IL4	T at pos -590;T at pos -33	143	3	12	8	32	0,171
36	IL4	T at pos -590;C at pos -33	143	1	4	6	24	0,098
37	IL4	C at pos -590;T at pos -33	802	1	4	4	16	0,349
38	IL4	C at pos -590;C at pos -33	802	11	44	10	40	1,000
39	IL6	G at pos -174;G at pos nt565	277	21	84	18	72	0,496
40	IL6	C at pos -174;G at pos nt565	277	1	4	7	28	0,049
41	IL6	G at pos -174;A at pos nt565	80	0	0	1	4	1,000
42	IL6	C at pos -174;A at pos	80	6	24	10	40	0,363

		nt565						
43	IL10	G at pos -1082;C at pos -819	80	23	92	21	84	0,667
44	IL10	G at pos -1082;C at pos -592	80	19	76	18	72	1,000
45	IL10	A at pos -1082;C at pos -819	195	22	88	24	96	0,609
46	IL10	A at pos -1082;T at pos -819	195	16	64	16	64	1,000
47	IL10	A at pos -1082;C at pos -592	110	13	52	21	84	0,032
48	IL10	A at pos -1082;A at pos -592	110	12	48	16	64	0,393

Sitokin Gen Polimorfizm Dağılımı



Şekil 8: Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sitokin gen polimorfizmlerinin dağılımı

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori nüfusun yarısından fazlasında pozitif saptanan bir bakteridir. Dünya genelinde *Helicobacter pylori* enfeksiyon oranları Meksika, Orta – Güney Amerika %70-90, Afrika %70-90, Asya %70-80, Doğu Avrupa %70, Batı Avrupa %30-50, Amerika Birleşik Devletleri – Kanada %30, Avustralya %20 olarak belirtilmiştir (107). Ülkemizde 20-29 yaş grubunda % 85, 60-69 yaş grubunda % 88 *H. pylori* pozitif bulunur (108).

Çalışma grubumuzu oluşturan 50 hastanın yaşları 17-72 arasında dağılım gösteriyordu. Hastaların yaş ortalaması 41,52 idi. Her iki hastalık grubunda cinsiyetlere göre yaş ortalaması incelendiğinde kadın nonülser dispepsi hastalarının yaş ortalaması 48,63 olarak saptanırken erkek hastalarda 38,12 olarak tespit edilmiştir. Peptik ülser hastalarında ise kadınlarda yaş ortalaması 44,27 iken erkeklerde 39,42 olarak tespit edilmiştir (tablo 11)

Hastaların tanılarının cinsiyete göre dağılımını incelediğimizde kadın 19, erkek 31 olarak karşımıza çıkmıştır.

H. pylori nin mikrobiyolojik incelemesine baktığımızda üreaz pozitifliği %64, kültür pozitifliği %62, mikroskopi pozitifliği %84, ve HpSA pozitifliği %79,17 olarak saptanmıştır. Kültür *H. pylori* için altın standart olarak kabul edilmektedir. Mikroskopisi pozitif olarak tespit edilen örneklerin %73,80'inde kültür pozitif olarak saptanmıştır. Biyopsinin alınma şartları taşınma süresi ve ortamı, ekilme şartları, üreme ortamının uygun olup olmadığı gibi konular dikkate alındığında kültür oranının başarısı gayet iyi olarak karşımıza çıkmaktadır. Şafak ve ark.larının yaptığı bir araştırmada örneklerin %40 üreme tespit edilmiş ve %54.9'unda HpSA pozitifliği saptandı. Kültür ile karşılaştırıldığında HpSA sensitivitesi % 100, spesifitesi % 78.5 olarak tespit edildiği bildirilmiştir (109).

Çalışmamızda mikrobiyolojik incelemede üreaz negatif olarak bulunan 12 dispepsi hastasının 6'sında mikroskopi pozitif olarak bulunmuştur. Üreaz negatif bulunan 6 peptik ülser hastasının ise 2'sinde mikroskopi pozitif bulunmuştur. Erdener ve ark. larının yaptığı çalışmada gastritisli 30 hastanın % 76'sında direkt boyama, % 66 hızlı üreaz ile pozitiflik, duodenitisli 25 hastanın % 64 direkt boyama, % 68 hızlı üreaz ve gastritis+duodenitisli 46 hastanın %67 direkt boyamasında, % 80 hızlı üreaz testinde pozitiflik saptandığı rapor edilmiştir **(110)**.

Çalışmamızdaki sitokin gen polimorfizm sonuçlarını irdelediğimizde IL-1'de her iki grup arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmadığını görmekteyiz. Ancak genel olarak baktığımızda her iki grupta da %80'lerin üzerinde IL-1'de pozitiflik saptandığı görülmektedir. Literatür çalışmasında özellikle IL-1 β -511T 'nin çok fazla irdelendiği görülmüştür. Almanya'da yapılan bir çalışmada ciddi lenfositik infiltrasyon (L₃), ciddi granülositik infiltrasyon (G₃), intestinal metaplazi (IM) ve atrofik gastriti (AG) olan hastalar üzerinde yapılan çalışmada bu hasta grupları ile IL-1 polimorfizmi arasında yakın ilişki saptanmıştır. Özellikle IL-1 β -511T taşıyıcılarında L₃, G₃, IM ve AG'nin gelişme riskinin arttığı rapor edilmiştir **(111)**. Bizim çalışmamızda IL-1 β -511T nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sırasıyla %84, %64 oranında pozitif saptanmıştır. Çin popülasyonunda da IL-1 β -511T taşıyıcıları ile gastrik intestinal metaplazi arasında pozitif korelasyonda risk olduğu tespit edilmiştir **(112)**.

IL-2, IL-4, IFN- γ , TGF- β 'da gruplar arasında istatistiksel olarak bir fark saptanamamıştır. IL-2'nin polimorfizmlerine baktığımızda her iki grupta da birbirine yakın oranlarda pozitiflik saptanmıştır. Yalnız IL2 -330 G; +166 T nonülser dispepsi'de hiç pozitif saptanmazken peptik ülser hastalarından yalnızca 1'inde pozitif tespit edilmiştir. Japonya'da yapılan bir araştırmada IL-2 genotiplerinin seropozitif grupta seronegatif gruba göre atrofik gastrit görülmesi açısından aralarında önemli bir ilişki olduğu gösterilmiştir. IL-2 gen polimorfizminin gastrik mukozal kanser gelişimiyle yakından ilişkili olduğu belirtilmiştir **(113)**.

IL-4 e baktığımızda çalışmamızda iki hasta grubu arasında polimorfizm açısından fark saptanamamıştır. IL4'de en fazla -1098 T; -590 C'de sırasıyla %52 ve %60 oranında nonülser dispepsi ve peptik ülser de polimorfizme rastlanmıştır.

TGF- β 'da iki grup arasında istatistiksel olarak bir farka rastlanmamıştır. TGF- β Codon10 T; Codon 25 C polimorfizmlerine her iki grupta da pozitiflik saptanmamıştır.

Çalışmamızda TNF- α ile ilgili bulgularımıza baktığımızda TNF- α -308G; -238 A'da sırasıyla nonülser dispepsi ve peptik ülser oranları sırasıyla %20 ve %80'dir. Bu iki grup arasında TNF- α -308G; -238 A istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. (p=0,009) Japonya'da peptik ülser ve gastrit hastaları üzerinde yapılan araştırmada TNF- α polimorfizminin yüksek oranda bu hastalık gruplarıyla ilişkili olduğu saptanmıştır **(114)** Bu araştırmanın sonucu bizim çalışmamız ile paralellik göstermektedir. Çalışmamızda peptik ülser hastalarında %80 oranında polimorfizm saptandı. TNF- α -308A; -238 A'da nonülser dispepsi ile peptik ülser hastalarında sırasıyla 0 ve 4 hastada pozitiflik saptanmış ama istatistiksel olarak anlamlı sonuç elde edilememiştir. (p=0,110)

IL-6'da -174 C; nt565G pozisyonlarında çalışmamızda istatistiksel olarak fark görülmüştür. (p=0,049) Bulgularımızda nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarında sırasıyla %4 ve %28 oranında pozitiflik saptanmıştır. Yapılan araştırmalarda bu pozisyondaki polimorfizmde yüksek oranda IL-6 üretimi saptanmıştır. *H. pylori*'nin mukoza seviyesindeki bu artışın *H. pylori* ile ilişkili gastrit oluşumuyla bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Brezilyalı hastalarda yapılan araştırma sonucu IL-6'da özellikle -174'de olan polimorfizmde kronik gastrit ve inflamatuvar süreci içeren olayların oluştuğuna dair pozitif veriler elde edilmiştir **(115)**. Bu veriler ile bizim çalışmamızı karşılaştırdığımızda aynı doğrultuda sonuçlar aldığımız görülmektedir.

Çalışmamızdaki IL-10 sonuçlarına baktığımızda IL10 -1082A; -592 C pozisyonundaki polimorfizmlerde iki hastalık grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmıştır. (p=0,032) IL10 -1082 A; -592 C nonuser dispepsi de hastaların %52'sinde saptanırken peptik ülser hastalarının %84'ünde saptanmıştır. Yapılan diğer çalışmalarda IL-10 ile gastrik kanser arasında ilişki saptanmıştır. El-Omar'ın yaptığı bir çalışmada IL-10 gibi anti-enflamatuvar sitokinler non-kardiak gastric kanser oluşumunda iki kat daha fazla etki göstermektedir **(105)**.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmaya alınan nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının yaş ortalamaları 41,52 olarak saptandı. Cinsiyete göre ayırımında ise en düşük yaş ortalaması nonülser dispepsili erkek hastalarda (38,12) iken en yüksek yaş ortalaması ise yine nonülser dispepsili kadın hastalarda (44,27) olarak saptanmıştır.

Hastalardan alınan biyopsi örneklerindeki üreaz pozitifliği nonülser dispepsi hastalarında %52 iken peptik ülser hastalarında %76 olarak bulunmuştur.

Nonülser dispepsi hastalarının %56'sında biyopsi örneklerinde kültür pozitif saptanırken peptik ülser hastalarının %68'inde kültür sonucu pozitif saptanmıştır.

Mikroskopi sonuçlarında nonülser dispepsi hastalarının 20'sinde, peptik ülser hastalarının 22'sinde pozitiflik gösterilmiştir.

HpSA antijen testi 50 hastanın 40'ında çalışılmış ve bunların 38'inde pozitif bulunmuştur.

İki hasta grubunda TNF- α -308 G -238 A'da sitokin gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda *H. pylori* pozitif kişilerde TNF α polimorfizmi gastrik kanser ve gastrik ülser gelişmesinde bir risk olarak görülmektedir.

IL-6 -174 C; nt565 G pozisyonlarında nonülser dispepsi ve peptik ülser hastaları arasında sitokin gen polimorfizminde istatistiksel olarak fark saptanmıştır.

Her iki hasta grubunda bakılan diğer sitokin gen polimorfizmleri arasında istatistiksel olarak bir anlam saptanamamıştır.

Çalışma grubumuzda 50 hasta alınmıştır. Hasta sayısı artırılarak istatistiksel olarak daha anlamlı sonuçların elde edilmesi mümkündür.

Çalışma grubumuzla birlikte kontrol grubunun da olması daha sağlıklı sonuçlara ulaşmamıza yardımcı olacaktır.

Çalışmaya alınan bireyler uzun süre incelenerek *H. pylori* ve sitokin gen polimorfizmine bağlı olarak oluşabilecek patolojilerin incelenmesiyle daha anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

7. ÖZET

Bu çalışma nonülser dispepsi ve peptik ülser tanısı almış hastaların sitokin gen polimorfizmlerinin profillerini tespit etmek ve iki hasta grubu arasında sitokin gen polimorfizmlerinin profilleri arasında fark olup olmadığı belirlemek amacıyla gerçekleştirildi.

Gastrointestinal şikayetlerle KTÜ Farabi Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğine başvuran nonülser dispepsi ve peptik ülser tanısı alan hastalardan *H. pylori* için biyopsi örneği alınarak üreaz, mikroskopik analiz ve kültür yapıldı. Ayrıca hastaların gaitalarında HpSA antijeninin varlığı da araştırıldı. Bunlardan herhangi biri pozitif olan 25 nonülser dispepsi ve 25 peptik ülser olmak üzere toplam 50 hasta çalışmaya alındı.

Çalışmaya dahil edilen hastalardan 6cc kan alındı. Alınan kan örneklerinden mononükleer hücre izolasyonu daha sonra da DNA izolasyonu yapıldı. Sitokin gen polimorfizm kiti kullanılarak PCR yöntemi ile hastaların sitokin gen polimorfizmleri tespit edildi ve iki grup arasındaki sitokin gen polimorfizm profilleri karşılaştırıldı.

Nonülser dispepsi ve peptik ülser hastalarının sitokin gen polimorfizm profillerinin karşılaştırılmasında TNF- α -308G; -238A'da, IL-6'da -174C; nt565G'da ve IL10 -1082G; -592C' de farklar saptanmıştır ve elde edilen sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur.

Araştırılan diğer sitokin gen polimorfizm profillerinin karşılaştırılmasında ise iki hasta grubu arasında istatistiksel olarak bir fark saptanamamıştır.

8. SUMMARY

In this study, we aimed to determine an association between the patients with nonulcer dyspepsia and peptic ulcer disease, infected with *H. pylori* by using cytokine gene polymorphism.

Biopsy samples from patients applied to KTU Farabi Hospital Dept. of Gastroenterology polyclinic and diagnosed as nonulcer dyspepsia or peptic ulcer by endoscopy for the presence gastrointestinal complaint and were examined for the presence of *H. pylori* by urease, microscopy analysis and culture. In addition, *H. pylori* antigens were investigated in stool samples by HpSA in these patients.

50 patients, positive for *H. pylori* by at least one of above four tests were chosen to the study. Twenty-five of the patients were nonulcer dyspepsia and the other half of them were peptic ulcer.

Six ml of blood were taken from the patients. PBMC's were isolated from these blood samples. After DNA isolation, profiles of cytokine gene polymorphism of the patients were determined by PCR using a commercial kit. Then, cytokine gene polymorphism profile of two groups compared.

Genotype frequencies of TNF- α -308G; -238 A , IL-6 -174 C; nt565G and IL10 -1082G; -592 C polymorphisms between two groups have statistical value (P= 0.009, 0.049, 0.032 respectively).

Other cytokine gene polymorphism profile results didn't have statistical value.

9. KAYNAKLAR

1. Tünger, A., Çavuşoğlu, C., Korkmaz, M.: Asya Mikrobiyoloji. 4. baskı. Asya Tıp Kitabevi, 2005.
2. Ustaçelebi, Ş.: Temel ve Klinik Mikrobiyoloji. Güneş Kitabevi, 1999.
3. Hsu, P.I., Li, C.N., Tseng, H.H., Lai, K.H., Hsu, P.N., Lo, G.H., Lo, C.C., Yeh, J.J., Ger, L.P., Hsiao, M., Yamaoka, Y., Hwang, R., Chen, A.: The *Interleukin-1 RN* Polymorphism and *Helicobacter pylori* Infection in the Development of Duodenal Ulcer. Blackwell Publishing Ltd., *Helicobacter*, 9: 605–613, 2004.
4. Kim, N., Cho, S., Yim, J.Y., Kim, J.M., Lee, D.H., Park, J.H., Kim, J.S., Jung, H.C., Song, I.S.: The Effects of Genetic Polymorphisms of *IL-1* and *TNF-A* on *Helicobacter pylori*-Induced Gastroduodenal Diseases in Korea. Blackwell Publishing Ltd., *Helicobacter*, 11: 105–112, 2006.
5. Uemura, N., Okamoto, S., Yamamoto, S.: *Helicobacter pylori* infection and the development of gastric cancer. *N. Engl. J. Med.*, 345:78, 2001.
6. Khuori, R., Frexinos, J.: References des grandes etapes en hepatogastroenterologie. Paris: Editions Louis Pariente, 1995.
7. Warren, J.R.: Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet*, 1273, 1983.

8. Salomon, H.: Uber das Spirillum des Säugetiermagens und sein Verhalten zu den Belegzellen. Zentbl. Bakteriologie. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt 1, 19:422-441, 1898.
9. Luck, J.M., Seth, T.N.: The physiology of gastric urease. Biochem J, 18:357-65, 1924.
10. Doenges, J.L.: Spirochaetes in gastric glands of Macacus rhesus and human without definite history of related disease. Proc Soc Biol Med., 38:536-8, 1938.
11. Freedberg, A.S., Baron, L.E.: The presence of spirochaetes in human gastric mucosa. Am J Dig Dis., 7:443-5, 1940.
12. Ster, H.W.: Ultrastructure of cell migration through the gastric epithelium and its relationship to bacteria. J Clin Pathol., 28:639-46, 1975.
13. Fung, W.P., Papadimitriou, J, M., Matz, L, R.; Endoscopic, histologic and ultrastructural correlations in chronic gastritis. Am J Gastroenterol., 71:269-79, 1979.
14. Marshall, B.: Histoire de la decouverte de *Helicobacter pylori*. In: Megraud F, Lamouliatte H. eds. *Helicobacter pylori*, Vol 1, Epidemiologie, Pathogenie, Diagnostic. Paris: Elsevier, 35-4, 1996.
15. Marshall, B.J., Royce, H., Anear, D.L.: Original isolation of Campylobacter pyloridis from human gastric mucosa. Microbiol Lett., 25:83-8, 1984.
16. Marshall, B, J., Warren, J.R.: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet, 1311-1315, 1984.

17. Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori* and the pathogenesis of gastroduodenal inflammation. *J. Infect. Dis.*, 161:626-633, 1990.
18. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A., Chilvers, T.: Transfer of *Campylobacter pylori* and *Campylobacter mustelae* to *Helicobacter* gen. nov. as *Helicobacter pylori* comb. nov. and *Helicobacter mustelae* comb. nov., respectively. *Int J System Bacteriol*, 39:397-405, 1989.
19. Editorial. *Campylobacter pylori* becomes *Helicobacter pylori*. *Lancet*, 1019-1020, 1989.
20. Marshall, B.J., McGeachie, D.B., Francis, G.J.: Ultley PJ. *Pyloric Campylobacter* serology. *Lancet*, 28, 1984.
21. Borromeo, M., Lambert, J.R., Pinkart, K.J.: Evaluation of CLO-test to detect *Campylobacter pyloridis* in gastric mucosa. *J Clin Pathol*, 40:462-8, 1987.
22. Graham, D.Y., Klein, P.D., Evans, D.J.: *Campylobacter pylori* detected non-invasively by the 13 C-urea breath test. *Lancet*, 1174-7, 1987.
23. Bell, G.D., Weil, J., Harrison, G.: 14 C-urea breath analysis; a non-invasive test for *Campylobacter pylori* in the stomach. *Lancet*, 367-8, 1987.
24. Infection with *Helicobacter pylori* in: IARC Working Group on the evaluation of carcinogenesis risk to humans. Shistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC monographs on evaluation of carcinogenic risks to humans. IARC Lyon: 61:177-240, 1994.
25. NIH Consensus Development Panel on *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 272:65-9, 1994.

26. Malfertheiner, P., Megraud, F., O'Morain, C.: Current European concepts in the management of *H. pylori* infection-The Maastricht Consensus Report. *Eur J Gastroenterol Hepatol.*, 9:1-2, 1997.
27. Tomb, J.F., White, O., Kerlavage, A.R.: The complete genome sequence of the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 388:539-547, 1997.
28. Megraud, F.: A humble bacterium sweeps this year's Nobel Prize. *Cell*, 123:975-976, 2005.
29. Goodwin, C. S., McCulloch, R. K., Armstrong, J. A., Wee, S. H.: Unusual cellular fatty acids and distinctive ultrastructure in a new spiral bacterium (*Campylobacter pyloridis*) from the human gastric mucosa. *J. Med. Microbiol.*, 19:257-267, 1987.
30. Dunn, B.E., Cohen, H., Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 720-741, 1997.
31. Goodwin, C.S., Armstrong, J.A.: Microbiological aspects of *Helicobacter pylori* (*Campylobacter pylori*). *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 9:1-13, 1990.
32. Geis, G., Suerbaum, S., Forsthoff, B., Leying, H., Opferkuch, W.: Ultrastructure and biochemical studies of the flagellar sheath of *Helicobacter pylori*. *J. Med. Microbiol.*, 38:371-377, 1993.
33. Owen, R.J.: *Helicobacter* species classification and identification, in: Farthing, M.: *British Medical Bulletin*, London: Royal Society of Medicine Press Limited, 17-31, 1998.

34. Sandıkçı, M.Ü., Köksal, F.: Helikobakter enfeksiyonları. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (Eds.), Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 1005-1009, 1996.
35. Tompkins, D.H.: Survival and growth of *Campylobacter pylori*. In: *Campylobacter pylori* and gastroduodenal diseases (Rathbone, B.J. and Heatley, R.V., Eds.), Blackwell scientific publications, Oxford. 24-30, 1989.
36. Goodwin, C.S., Blincow, E.D., Warren, J.R., Waters, T.E., Sanderson, C.R. Easton, L.: Evaluation of cultural techniques for isolating *Campylobacter pyloridis* from endoscopic biopsies of gastric mucosa. J Clin Pathol ., 38, 1127-1131, 1985.
37. Dent, J.C. and McNulty, C.A.: Evaluation of a new selective medium for *Campylobacter pylori*. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 7, 555-558, 1988.
38. Trevisani L, Sartori S, Galvani F, Rossi M R. Evaluation of a new enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in faeces: A Prospective Pilot Studyo Am J Gastroenterol., 94: 1830-1833, 1999.
39. Biswas, G.D., Burnstein, K.L., Sparling, P.F.: Linearization of donor DNA during plasmid transformation in *Neisseria gonorrhoeae*. Journal of Bacteriology, 168: 756-761, 1986.
40. Brooks, G.F., Janet, S.B., Stephen, A.M., Jawetz, M.: Melnick&Adelberg's Medical Microbiology, 21. Baskı, Appleton & Lange, Connecticut, 242-243, 1995.

41. Kitsos, C. M., Christian, T.K, Stadtländer, H.: *Helicobacter pylori* in Liquid Culture: Evaluation of Growth Rates and Ultrastructure. *Current Microbiology*,19, 88-93, 2004.
42. Nichols, R.L., Smith, J.W.: Intragastic microbial colonization in common disease states of the stomach and duodenum. *Ann Surg*, 182: 57-561,1973.
43. O'Connor, H.J.: Review article: *Helicobacter pylori* and gastro-oesophageal reflux disease-clinical implications and management. *Aliment Pharmacol Ther.*, 13:117-120, 1999.
44. Anand, B.S., Graham, D.Y.: Ulcer and gastritis. *Endoscopy*, 31: 215-218, 1999.
45. Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori* strains are created equal. Should all be eliminated?. *Lancet*, 349: 1020-1022.56, 1997.
46. El-Omar, EM, Oien, K., El-Nujumi, A.: *Helicobacter pylori* infection and chronic gastric acid hyposecretion. *Gastroenterology*, 113: 15-19, 1997.
47. Graham, D.Y.: *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer: A model. *Gastroenterology*, 113: 1983-1986, 1997.
48. Windsor, H.M., O'Rourke.: Bacteriology and taxonomy of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29(3): 633-649, 2000.
49. Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F. C., Tenover, R.H.: *Manual of Clinical Microbiology*. 6th Editian, ASM Press, 1247-1256, 1995.

50. Forman, D.: The prevalence of *Helicobacter pylori* infection in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther.*, 9(suppl2):71-76,1995.
51. Kikuchi, S., Wada, O., Nakajimi, T.: Serum anti *Helicobacter pylori* antibody and gastric carcinoma among young adults cancer. *75:2789-2793*, 1995.
52. Wotherspoon, A.C., Ortiz-Hidalgo, C., Falzon, M.R.: Isaacs PG, et al. *Helicobacter pylori* associated gastritis and primary B cell gastric lymphoma. *Lancet*, 338: 1175-76, 1991.
53. Matsukura, N., Onda, M., Tokunaga, A.: Detection of serum Ig G antibody against *H.pylori* from childhood in Japanese population. *J Gastroenterol.*, 29:403-405, 1994.
54. Megraud, F.: Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterol Clin North Am.*, 22(1):73-88, 1993.
55. Fennertry, M.B.: *Helicobacter pylori*. Review Article *Arch.Item Med.*, 153:721-27, 1994.
56. Everhart, J.E.: Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29: 559-579, 2000.
57. Logan, R.P.H., Walker, M.M.: Epidemiology and diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *BMJ*, 323: 920-922, 2001.
58. Özden, A., Dumlu, Ş., Dönderci, Ö., Çetinkaya, H., Soylu. K.: *Helicobacter pylori* infeksiyonunun ülkemizde seroepidemiolojisi. *Gastroenteroloji*, cilt 3, sayı 4: 664-668, 1992.

59. Kaklıkkaya, N.: *Helicobacter pylori*'ye karşı gelişen antikorlar ile değişik klinik durumlar arasındaki ilişkinin irdelenmesi. Doktora tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst., Trabzon 1999.
60. Matysiak-Budnik, T., Briet, H., M., Megraud, F.; Laboratory-acquired *Helicobacter pylori* infection. *Lancet*, 346: 1489-1490, 1995.
61. Everhart, J.E.: Recent developments in the epidemiology of *H. pylori*. *Gastroenterology clinics of North America*, 29: 559-79, 2000.
62. Kadanalı, A., Özkurt, Z.: *Helicobacter pylori* enfeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenez ve ilişkili hastalıkları. *Klinik Dergisi*, 17(3): 146-50, 2004.
63. Altındış, M., Özdemir, M.: *Helicobacter pylori* ve tanısı. *Kocatepe Tıp Dergisi*, 2: 1-12, 2003.
64. Sandıkçı, M.Ü., Köksal, F.: Helikobakter enfeksiyonları. Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. (Eds.), *Enfeksiyon Hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul* 1005-1009, 1996.
65. Graham, D.Y.: Therapy of *Helicobacter pylori*: Current status and issues. *Gastroenterology*, 118: 2-5, 2000
66. Everhart, J. E.: Recent developments in the epidemiology of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterology Clinics of North America*, 29: 559-579, 2000.
67. Monteiro, L., Gras, N., Megraud, F.: Magnetic immuno-PCR assay with inhibitor removal for direct detection of *Helicobacter pylori* in human feces. *Journal of Clinical Microbiology*, 39:3778-80, 2001.

68. Bingöl, R.: *H. pylori* Mikrobiyolojisi. 9.Türk Klinik ve Mikrobiyoloji Kongresi, Kongre Kitabı, 51–55, 3–9 Kasım 1999Antalya.
69. Go, M. F., Crowe, S.E.: Virulance and patogenicity of *H.pylori*. Gastroenterology Clinics of N.America, 29: 649–671, 2000.
70. Köksal, F.: *H.pylori* infeksiyonlarında patogenez ve bağışık yanıt. 9. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongre kitabı,. syf.46-50. 3–8 Ekim 1999 Antalya.
71. Suerbaum, S., Michetti, P.: *Helicobacter pylori* infection. N Engl J Med, 347:1175-1185.
72. Yamaoka, Y., Kita, M., Kodama, T., Sawai, N., Kashima, K., Imanishi, J.: Induction of various cytokines and development of severe mucosal inflammation by *cagA* gene positive *Helicobacter pylori* strains. Gut,41:442-51, 1997.
73. Ferrero, R.L., Thiberge, J.M., Kansou, I., Wuscher, N.: The GroES homolog of *Helicobacter pylori* confers protective immunity against mucosal infection. Proc Natl Acad Sci USA,92:6499-6503, 1995.
74. Lam, S.K., Talley, N.J.: Report of the 1997 Asia Pacific Consensus Conference on the management of *Helicobacter pylori* infection. J Gastroenterol Hepatol., 13:1-12, 1998.
75. Trevisani, L., Sartori, S., Galvani, F., Rossi, M. R. Ruma, M., Caselli, M.: Two unusual techniques for diagnosing *Helicobacter pylori* infection. Gastroenterology International, 10(4):58-60, 1997.
76. Cutler, AF.: Testing for *Helicobacter pylori* in clinical practice. Am J Med., 100:35-41, 1996.

77. Ramirez, F.A.: New more specific test to diagnose *Helicobacter pylori* gastritis. *Gastroenterol.*, 108(suppl14):2730,1995.
78. Megraud, F.: Advantages and disadvantages of current diagnostic tests for the detection of *Helicobacter pylori*. *Scand J gastroenterol.*, 31(suppl215):57-62, 1996.
79. Marshall, B.J.: *Helicobacter pylori*. *Am J gastroenterol.*, 89(8):116-128, 1994.
80. Weinstein, W.M.: Gastritis and gastropathies. *Gastrointestinal Disease*. Edt, Sleisenger, M.H., Fordtran II 5th.edition, WB Saunders Company, Philadelphia, 1:545-571, 1993.
81. Rogge, J.D., Wagner, D..R, Carrico, R.J., Glowinski, E.B.: Evaluation of a new urease reagent strip for detection of *Helicobacter pylori* in gastric specimens. *Am j gastroenterol.*, 90: 1965-69, 1995.
82. Akyön, Y.: *Helicobacter pylori*: Mikrobiyolojik tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi*, 35(4): 182-86, 2004.
83. Brea, M.L., Alarcon, T., Megraud, F.: *Helicobacter pylori* infeksiyonunda tanı. *Current Opinion in Gastroenterology*, 13: 13-19, 1997.
84. Makristathis, A., Hirschl, A.M., Lehours, P., Megraud, F.: Diagnosis of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter*, 9 Suppl 1: 7-14, 2004.
85. Dunn, B. E., Cohen, H., Blaser, M.J.: *Helicobacter pylori*. *Clinical Microbiology Reviews*, 10(4), 720-741,1997.

86. Hirno, S., Shumakov, Y., Utt, M., Wadström, T.: Genetic heterogeneity of *Helicobacter pylori* and strain typing. In: Moran AP, O'Morain CA (eds). Pathogenesis and host response in *Helicobacter pylori* infections. Homburg Normed Verlag: International Medical Publishers, 199-205, 1997.
87. Gatta, L., Ricci, C., Tampieri, A., Vaira, D.: Non-invasive techniques for the diagnosis of *H. pylori* infection. Clin Microbiol Infect., 9: 489-96, 2003.
88. Ishihara, S., Kaji, T., Kawamura, A., Rumi, A. K.: Diagnostic accuracy of a new non-invasive enzyme immunoassay for detecting *Helicobacter pylori* in stools after eradication therapy. Aliment Pharmacol Ther., 14: 611-614, 2000.
89. Kocazeybek, B., Memişoğlu, R., Memişoğlu, N., Arıtürk, S.: Determination of the HpSA (*Helicobacter pylori* antigen) in stool for diagnosis of *H. pylori* infections and the value of this method post-treatment follow-up *H. pylori* eradication. 12 th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 21-24 Mayıs 2002, Milan, Italy; Kongre kitabı (Abstracts).
90. Makristathis, A., Barrousch, W., Pasching, E., Binder, C., Kuderna, C.: Two enzyme immunoassay and PCR for detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens from pediatric patients before and after eradication therapy. American Society for Microbiology, .3710-3714, 2000.
91. Fidan, I., Türet, S.: *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda patogenezi ve tanı, Enfeksiyon Dergisi, 13: 455-460, 1999.
92. Metz, C.D., Walsh, H.J.: Gastrointestinal ulcer disease and gastritis. In; Humes HD, DuPont HL, Gardner LB, eds.: Kelley's Textbook of Internal Medicine, 4th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 107:824-44, 2000.

93. Laine, L.: *Helicobacter pylori*, gastric ulcer and agents noxious to the gastric mucosa. *Gastroenterol Clin North Am*, 22(1): 117-125, 1993.
94. Mulholland, M.W.: Gastric neoplasms. In; Mulholland MW, Lillemoe KD, Doherty GM, eds.: *Greenfield's Surgery: Scientific Principles and Practice*, 4th Edition, Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 48: 723-63, 2006.
95. Marshall, B., Windsor, H.: The relation of *Helicobacter pylori* to gastric adenocarcinoma and lymphoma: pathophysiology, epidemiology, screening, clinical presentation, treatment, and prevention. *Med Clin North Am.*, 89(2): 313-44, 2005.
96. Del Vale, J.: Peptic Ulcer Disease and Related Disorders. In; Kasper DL, Fauci AS, Longo DL, eds.: *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th edition, New York: Mc Graw Hill, 274: 1746-807, 2005.
97. Kılıçturgay, K.: *İmmunoloji 2003*. Üçüncü baskı. Nobelδ Güneş Kitabevi, Bursa, s.113-153, 2003.
98. Nororiha, I.L., Niemir,, Z. Stein, H., Waldher, R.: Cytokines and growth factors in renal disease: *Nephrol Dial Transplant*, 10: 775-786, 1995.
99. Oppenheim, J.J., Ruscetti, F.W., Faltynek, C.: Cytokines. In : Stites DP, Terr AI, ed. *Basic and Clinical Immunology*, 105-123. 1994.
100. Dinarello, C. A.: Proinflammatory Cytokines. *Chest*, 118; 503-508, 2000.
101. Özbal, Y.: *Temel İmmunoloji*. 1. baskı. Nobel Tıp kitabevleri, Bursa, s.103-113, 1994.

102. Erganiş, O., İstanbulluoğlu, E.: İmmunoloji. Mimoza yayınevi, Konya, s. 79-92, 1993.
103. Baggiolin, M., Dewald, B., Moser, B.: Human chemokines: an update. *Ann Rev Immunol.* 15:675-700,1997.
104. Gök, İ.: İnflamatuvar bağırsak Hastalarında CAR15/ NOD2 Geni 3020 ins C Mutasyonu ve Sitokin Gen Polimorfizmlerinin İncelenmesi. Doktora Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enst., Trabzon 2004.
105. El-Omar, E.M., Rabkin, C.S., Gammon, M.D.: Increased risk of noncardia gastric cancer associated with proinflammatory cytokine gene polymorphisms. *Gastroenterology*, 124:1193 – 201, 2003.
106. Perez, G., Garza-Gonzales, E., Portal, C., Olivares, A.; Role of Cytokine polymorphisms in the risks of Distal gastric Cancer Development. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*,14:1869-73, 2005.
107. *Helicobacter pylori* 2006 “WGO-OMGE Practice Guideline” ve “Maastricht III Florence Consensus Report 2005”
108. Turfaner, N., Süt, N., Kaypmaz A., Sipahioğlu, F.: Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı Check-up Polikliniğine Başvuran Hastalarda *Helicobacter pylori* Sıklığı ve Bunu Etkileyen Faktörler. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 37:1-4. 2006.
109. Şafak, B., Çiftçi, İ. H., Çetinkaya, Z., Aktepe, O.C., Altındiş, M.: İki farklı yöntemle *Helicobacter pylori* enfeksiyonu tanısı, Afyonkarahisar Kocatepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji ve Klinik Mikrobiyoloji AD KLİMİK 2007 XIII. Türk Klinik Mikrobiyoloji ve İnfeksiyon Hastalıkları Kongresi

110. Erdeğer, J., Yıldırım, M., Diker, K.S., Alponat, A., Şırvan, L., Öztürk, E.; Dispeptik Hastalarda *Helicobacter pylori* 'nin Çabuk Tanısı. Veteriner Hekimleri Mikrobiyoloji Dergisi Elektronik Versiyonu, 01:28-35, 2001.
111. Rad, R., Prinz, C., Neu, B., Neuhofer, M., Zeitner, M., Voland, P., Becker, I., Schepp, W., Gerhard, M.; Synergistic Effect Of *Helicobacter pylori* Virulence Factors and Interleukin-1 Polymorphisms for Severe Histological Changes in the Gastric Mukosa. JID., 188, 2003.
112. Leung, W.K., Chan, M.CW., To, K.F., Man, E.P.S., Enders, K.W. Ng., Chu, E.S.H., Lau, J.Y.W., Lin, S., Sung, J.J.Y.: *H. pylori* Genotypes and Cytokine Gene Polymorphisms Influence the Development of Gastric Intestinal Metaplasia in a Chinese Population. Am J Gastroenterol., 101:714–720, 2006.
113. Togawa, S., Joh. T., Itoh, M., Katsuda, N., Ito, H., Matsuo, K., Tajima, K., Hamajima, N.; Interleukin-2 Gene Polymorphisms Associated with Increased Risk of Gastric Atrophy from *Helicobacter pylori* Infection. Blackwell., 10: 172-178, 2005.
114. Sugimoto, M., Furuta, T., Shirai, N., Nakamura, A., Xiao, F., Kajimura, M., Sugimura, H., Hishida, A.; Different Effects Of Polymorphisms Of Tumor Necrosis Factor Alpha and Interleukin-1 Beta on Development of Peptic Ulcer and Gastric Cancer. Journal of Gastroenterology and Hepatology., 22:51-59, 2007.
115. Gatti, L.L., Tunes, M.Z., Lábio, R. W., Silva, L.C., Smith, M.A.C., Payão, S.L.M.: Interleukin-6 polymorphism and *Helicobacter pylori* infection in Brazilian adult patients with chronic gastritis. Clin Exp Med., 5:112–116, 2005.