

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HELİKOBAKTER PİLORİ ENFEKSİYONUNDA TEDAVİ ÖNCESİ VE
SONRASI SİSTEMİK İMMÜN CEVAP

SYSTEMIC IMMUN RESPONSE BEFORE AND AFTER TREATMENT OF
HELICOBACTER PYLORI INFECTION

UZMANLIK TEZİ

Dr.Necmi EREN

Trabzon-2004

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

HELİKOBAKTER PİLORİ ENFEKSİYONUNDA TEDAVİ ÖNCESİ VE
SONRASI SİSTEMİK İMMÜN CEVAP

SYSTEMIC IMMUN RESPONSE BEFORE AND AFTER TREATMENT OF
HELICOBACTER PYLORI INFECTION

UZMANLIK TEZİ

Dr. Necmi EREN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Orhan ÖZGÜR

Trabzon-2004

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son 30 yılın tıptaki en önemli gelişmelerinden biri Helikobakter pilori (Hp)'nin keşfidir. Hp' nin peptik ülser hastalığı ile olan ilişkisi ilk kez 1983'te gündeme getirilmiş (1), daha sonra da bu ilişki doğrulanmıştır (2). Hp enfeksiyonunun peptik ülser hastalığı, mide kanseri ve MALT (Mucosa associated lymphoid tissue) lenfoma etyolojisinde rol alan temel etyolojik faktörlerden biri olduğu kabul edilmektedir.

Peptik ülser hastalığı tüm dünyada çok sık görülmektedir. Batı toplumlarında yaşam boyu peptik ülser hastalık riski yaklaşık % 10' dur (3). Hp peptik ülserin primer nedenidir ve Hp ile enfekte bireylerde peptik ülser gelişme oranı 25 yıllık süre için %15 olup genel popülasyondan daha yüksektir (4). ABD' de her yıl 500 000 yeni semptomatik peptik ülser hastalığı tanısı konmakta ve daha önce tanımlanmış peptik ülser hastalarının 4 milyon dolayında nüksü belirlenmektedir. Erişkin popülasyonda ömür boyu peptik ülser gelişme prevalansı yaklaşık %10'dur (5). Bu yüksek rakamlardan dolayı peptik ülser hastalığının morbidite, mortalite ve topluma maliyeti çok yüksek olmaktadır. Örneğin her yıl peptik ülser hastalığı geçiren hastaların %1-2'sinde kanama, pilor obstrüksiyonu veya mide perforasyonu gibi majör ve yaşamı tehdit edici komplikasyonlar gelişmektedir (6).

Farklı toplumlarda değişmekle beraber ortalama olarak popülasyonun %50'si Hp ile enfekte olmasına rağmen, bunların küçük bir bölümünde peptik ülser veya kronik gastrit gelişmektedir (7). Enfekte popülasyonun hepsinde peptik ülser veya kronik gastrit gelişmemesinin sebebi, bakterinin virülansına veya konağın konakçıya karşı olan immün cevabına bağlı olabilir. Yapılan çalışmalarda Helikobakter pilori ile enfekte hastaların gastrik epitelinde interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-2 (IL-2), interlökin-6 (IL-6), interlökin-8 (IL-8) ve tümör nekrosis faktör-alfa (TNF- α)'nın arttığı gösterilmiştir (8-10). Hp'nin sistemik immün cevap üzerine etkisine dair çalışmalar olmakla beraber (11-13) eradikasyon tedavisinin immün cevap üzerine etkisi bilinmemektedir. Bu çalışmada Hp (+) peptik ülser ve kronik gastritte tanı anında ve eradikasyon tedavisi sonrasında serum sitokin düzeyleri ve lenfosit subtipleri değişimlerini incelemeyi ve bunları kontrol grubu ile de karşılaştırarak Hp'ye bağlı peptik ülser ve gastritin patofizyolojisinin açıklanmasına katkıda bulunmayı amaçladık.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Giriş

Peptik ülser hastalığı bir zamanlar diyet tedavileri, antasitler ve H₂ reseptör blokerleri ile tedavi edilmeye çalışılır ve başarılı olursa da sık nüksleri söz konusuydu. Bu nedenle semptomsuz dönemlerin semptomatik ataklarla bölüdüğü kronik bir hastalık olarak kabul edilirdi. Hp enfeksiyonu bugün peptik ülser ve gastritin en sık nedeni olarak kabul edilmekte ve eradikasyon tedavisi ile başarılı bir şekilde tedavi edilmektedir. Hp, mide ülseri ve duodenal ülserin yanısıra mide adenokarsinomu ve midenin primer B- hücreli lenfomasının etyolojisinde de yer almaktadır (14). Hp enfeksiyonunun bazı non-ülser dispepsilerde de rol oynayabileceği düşünülmekle birlikte bu ilişki tam olarak ortaya konamamıştır.

Midede bakterilerin varlığı hakkındaki araştırmaların tarihçesi 110 yıl öncesine dayanmaktadır. 1893' te Bizzozero köpek mide dokusunda spiral bakterilerin bulunduğunu bildirmiş; 1896'da Salomon tarafından da benzer bulgular tesbit edilmiştir. 1906'da Balfour maymunlar ve köpeklerin mide ülserlerinde spiroketleri tanımlamış aynı yıl Krienitz insan mide karsinomu dokusunda benzer görünümlü organizmalar bulunduğunu saptamıştır. 1970' lerin ortalarında Steer ve arkadaşları midede spiral bakterilerin varlığı ve bunların enflamasyonla ilişkilerini araştırmışlar ancak organizmayı laboratuarda üretememişlerdir (15). Avustralya Perth'de bir patolog olan J.Robin Warren bu organizmaların Campylobacter'e benzediğini ortaya koyan bir gözlem yapmış ve aynı klinikte çalışan Barry Marshall bugün, H. Pylori olarak bilinen bakteriyi kültürde üretmeyi başarmıştır (16). Bin dokuz yüz seksen üç yılında Warren ve Marshall Hp enfeksiyonu ve peptik ülser hastalığı arasında bir bağlantı olduğunu ileri sürmüşlerdir (1). Marshall kültür suyunu kendine inoküle etmiş, 8 gün içinde akut gastrit geliştirmiş ve Hp'nin gastrite neden olduğunu doğrulamıştır (17). Morris de daha sonra kendi kendini inoküle ederek Hp'nin bir patojen olduğunu doğrulamıştır (2).

Hp gram negatif mikroaerofilik bir çomaktır. Taze kültürlerde organizma spiral şeklindedir ve eski kültürlerde sferik hale gelebilir. Organizma çok hareketlidir, kılıflı, unipolar flajellası organizmaya "ok benzeri tirbuşon" hareketini verir. Hp'nin üremesi yavaştır ve kültür için zenginleştirilmiş bir ortam, oksijeni azaltılmış bir atmosfer, yaklaşık %10 CO₂ ve optimum 37 ° C sıcaklık gerektirir.

Hp enfeksiyonlarının çoğu asemptomatik olmasına rağmen enfeksiyon benign değildir. Hp enfeksiyonu mide mukozası yüzeyinde progresif hasara ve bunun sonucunda mide fonksiyonlarının bozulmasına neden olan bulaşabilir bir bakteriyel enfeksiyondur. Hp ve diğer majör patojenler arasındaki önemli fark Hp'nin her zaman aktif ve bulaşabilir olmasıdır.

Helikobakter pilori yaşam boyu süren antrum ağırlıklı kronik gastrite neden olmaktadır ve bu kronik süreçte bir kısım hastada peptik ülser hastalığı, mide kanseri ve MALT lenfoma gelişebilmektedir.

2.2. Epidemiyoloji

Hp dünyadaki insanların yarısından çoğunu enfekte eder. Enfeksiyonun prevalansı ülkeler arasında ve aynı ülke içindeki gruplar arasında değişkenlik gösterir. Enfeksiyonun en yüksek oranları düşük sosyoekonomik durum, kalabalık, kötü sağlık koşulları ve kirli su kaynakları ile ilişkilidir (18).

Hp enfeksiyonu tipik olarak çocukluk çağında edinilir. Gelişmekte olan ülkelerde 2-8 yaş arasındaki çocuklar enfeksiyonu yılda yaklaşık % 10 oranında edinirler. Buna karşılık ABD’de çocukların yıllık enfekte olma oranı % 1’den azdır. Çocukluk çağında enfekte olma oranındaki bu önemli fark, gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde Hp prevalansında farklılığa yol açmaktadır.

Enfeksiyon oranı etnik köken ve ırka göre de değişkenlik gösterir. ABD’de beyazların enfeksiyon prevalansı siyahlar veya Latin kökenlilerden daha düşüktür. Örneğin Houston’un metropol alanında siyahlar ve Latin kökenlilerin Hp enfeksiyonu prevalansı beyaz popülasyonun iki katıdır (19,20). Ancak ırkın belirleyici bir faktör olduğu gösterilememiştir, çünkü beyazlar ve siyahların enfeksiyon oranları farklı olmasına rağmen Latin kökenlilerin enfeksiyon oranı siyahlarınkine eşittir. Çocukluk çağı sırasında sosyoekonomik durum farklılıkları göz önünde bulundurulduğu zaman çeşitli gruplar arasındaki prevalans farklılıkları ortadan kalkmıştır; bu bulgu çocukluk çağının Hp enfeksiyonunun edinilmesinde önemli olduğunu doğrulamaktadır (21).

2.3. Patogenez

Mide besinler için rezervuar görevi görür ve sindirimi mekanik olarak başlatır. Asit ile dolu midenin temel fonksiyonu patojen kontrolüdür. Mide sıvısının düşük pH’ sı yutulan mikroorganizmaların çoğunu parçalar ve öldürür. Sağlıklı bir midede pH 3 veya daha düşük iken 15 dakika içinde çoğu patojen bakteri inaktif hale dönüştürülür.

Gastrik mukoza bakteriyel enfeksiyonlara karşı oldukça iyi korunmuş olmasına rağmen Hp’nin mukozaya girişine izin veren bazı faktörler vardır: yüzme, mukozanın yüzeyel adaptasyonu, epitelyal hücrelere yapışma, immun cevaptan kurtulma sonucunda kalıcı lokalizasyon ve bulaşma söz konusudur. İnfeksiyonun bu ilk adımında hareketlilik ve üreaz oluşturması önemlidir. Üreaz enzimi tarafından amonyak üretilmesi bakteriyi mide mukoza yüzeyine geçişi sırasında asitten korumak için önemlidir. Üreaz, üreyi karbondioksit ve amonyağa parçalar bu durum Hp’nin asidik ortamda canlı kalmasına olanak sağlar (22). Hp

birçok bakteriyel membran proteinleri ile epitelyal hücrelere bağlanır. En karakteristik olanı adhezin Bab A, 78 kd (kilodalton)'luk dış membran proteindir ve fukoillenmiş Lewis B kan grup antijenini bağlar (23).

Son on yılda Hp için hastalığa özgü virülans faktörleri tanımlanmıştır. Hp türlerinin çoğu bir eksotoksin olan 95 kd'luk Vac A sitotoksinini eksprese eder (24). Bu toksin epitelyal hücre membranına girerek anyon-seçici, voltaj bağlı bir kanal oluşturur ve muhtemelen bu kanal bakteriye besin sağlamaktadır (25). Vac A mitokondrial membrana da yapışabilir ve sitokrom c salınımına yol açarak epitelyal hücrelerde apoptoza yol açar (26).

Çoğu Hp türü Cag patojen "adasını" kodlar. Bu 29 gen içeren 37 kb (kilobit)'lik genom fragmanıdır. Epitelyal hücrelere girdikten sonra Cag A fosforile edilir. Bunun sonucunda growth faktör benzeri hücresel cevap ve konak hücre tarafından sitokin üretimi meydana gelmektedir.

Enflamasyon korpusta baskın olduğu zaman pariyetal hücreler inhibe olur ve bu asit sekresyonunun azalmasına yol açar. Antral enflamasyon G hücrelerini (gastrin-sekrete eden) ve D hücrelerini (somatostatin-sekrete eden) etkileyerek gastrin ve somatostatin arasındaki dengeyi değiştirir. Hp ile enfekte kişilerde gastrin sekresyonu anormaldir ve yemek sonrası abartılı gastrin salınımı olur. Gastrik korpusta Hp'nin neden olduğu enflamasyon asit sekresyonunu yüksek olasılıkla sitokin-aracılı mekanizmayla azaltır (IL-1 gibi) (27). Asit sekresyonundaki bu azalma bakterilerin mukoza hücrelerini daha fazla etkilemesine olanak verir ve bu da enflamasyonu arttırarak asit sekresyonunu daha da azaltır (28).

Hp'nin varlığı hemen her zaman doku hasarı, akut ve kronik gastritin histolojik bulguları ile ilişkilidir. Hp'nin yüzey mukozası ile etkileşimi pro-enflamatuar IL-8 salınımı ile sonuçlanır. Bu sitokin polimorfonükleer lökositlerin lokal birikimine yol açar ve sonucunda enflamasyon başlamış olur (29). Mide epitel hücreleri MHC sınıf II moleküllerini eksprese ettiklerinden Hp antijenlerini bu yolla sitotoksik hücrelere sunarlar. Bunun sonucunda da daha çok sitokin salınımı ve daha çok enflamasyon oluşur (14).

Hp ile enfekte mide mukozasının biyopsisi incelendiğinde özellikle nötrofiller, T ve B lenfositleri, plazma hücreleri ve makrofajlar ile infiltre olduğu gözlenir (14). Bunun yanında mide mukozasında TNF- α başta olmak üzere yüksek sitokin düzeyleri (IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-8) de tespit edilmiştir (14).

2.4. Lenfositler ve lenfosit subtipleri

Kemik iliğinde lenfoid kök hücrenin farklılaşması sonucu oluşan lenfositlerin bir bölümü kemik iliğinde kalarak B lenfositlerini oluşturmak üzere farklılaşma süreci içine girmekte diğer bir bölümü ise timus bezine giderek T lenfositlerini oluşturmaktadır. Kandaki

lenfositlerin %5-15'ini oluşturan B lenfositleri insanda önce fetal karaciğerde sonra kemik iliğinde gelişirler ve yüzeylerinde antijen reseptörü olarak da görev yapan immunglobulin molekülleri taşırlar. Antijenik uyarı sonrası T lenfositlerinden salınan sitokinlerin katkısıyla (IL-2, IL-4) B lenfositleri plazma hücrelerine dönüşerek gelişimlerini tamamlarlar ve lenf bezi folikülleri ve dalak gibi lenfoid organlara yerleşirler. Plazma hücreleri antikör olarak adlandırılan çözümlü formdaki immunglobulinleri yaparlar.

B lenfositleri olgunlaşmalarının en erken dönemlerinde yüzeylerinde immunoglobulin içermezler. Ancak sitoplazmalarında IgM ağır zinciri (μ) bulunur (erken pre-B hücreleri). Daha sonra kappa ya da lambda hafif zincir üretimi başlar (immatür pre-B hücreleri). Hafif ve ağır zincirlerin birlikte yüzeye çıkışı ile bu hücreler yüzeylerinde önce IgM sonra hem IgM hem de IgD taşıyan hücrelere dönüşürler. B hücrelerinin daha sonraki olgunlaşmaları antijen varlığında gerçekleşir (aktive B hücresi). Antijenle uyarılan B lenfositlerinin bir kısmı immunglobulin (Ig) salgılayan plazma hücrelerine dönüşürken, bir kısmı da bellek hücrelerini oluştururlar. Antijenle ikincil karşılaşma bu hücrelerin birinciden çok daha güçlü yanıt vermesine yol açar. B lenfositleri yüzeylerinde Ig reseptörleri dışında, C3 için reseptör ve yardımcı T lenfositleri (Th) ile etkileşebilmelerini sağlayan majör histokompatibilite kompleksi (MHC) sınıf II molekülleri taşırlar.

T lenfositleri yüzeylerinde Ig reseptörü taşımamaları ve CD2 olarak adlandırılan reseptörle koyun eritrositlerine bağlanabilme özellikleri ile (rozet oluşumu) B lenfositlerinden ayrılırlar. Kemik iliği ve fetal karaciğer kökenli olan T lenfositleri fetal ve erken post-natal dönemde timusa göç ederek orada olgunlaşırlar. Timusta hayatın ilk döneminde oluşan T lenfositleri havuzu kalıcı niteliktedir. Bellek T lenfositleri periferik lenfoid organlar ile kan arasında dolaşarak bu havuzu beslerler. T lenfositleri hücrel immünitenin kaynağıdır, sitokinler ve direkt hücrel temas ile diğer T ve B lenfositleri ile monosit fonksiyonlarını düzenlerler. Bunun yanında virusla infekte ya da yabancı hücreleri parçalayan sitotoksik hücrelerin bir kısmı da T lenfositleridir.

En erken T lenfosit öncülleri fetal karaciğer ve post-natal kemik iliğinde bulunan CD7(+) pro-T lenfositleridir. Timusa göç eden T lenfositleri bir T lenfosit adhezyon molekülü olan CD2 ekspres ederler ve sitoplazmalarında T lenfosit reseptörü ile ilişkili moleküllerden CD3 sentez etmeye başlarlar. T lenfositlerinin immün uyarı sonrası çeşitli sitokinler salgılayarak diğer T ve B lenfositleriyle, monosit-makrofajların uyarılma ve olgunlaşmasını sağlayan alt grubu yardımcı-T lenfositleri olarak (Th) adlandırılır. Bu hücrelerin büyük çoğunluğu yüzeylerinde CD4 taşırlar ve normal bireylerde periferik T lenfositlerinin %60-65'ini oluştururlar. Yardımcı T lenfositlerinin salgıladıkları sitokinlere göre iki alt grubu

olduğu ve bunlardan birinin B lenfositlerinin özelleşmesine, diğerinin ise hipersensitiviteye yol açtığı kabul edilmektedir (Th1 ve Th2). Diğer bir hücre tipi hücre yüzeylerindeki yabancı antijenleri HLA sınıf I molekülleri yardımı ile tanıyan ve bu hücreleri lizise uğratan sitotoksik T hücreleridir (Tc). Bu hücreler yüzeylerinde genellikle CD8 molekülünü taşırlar. CD8 (+) hücre grubu periferik lenfositlerin %30-35'ini oluşturur.

Periferik kandaki mononükleer hücrelerin %5-10'u yüzeylerinde T ya da B lenfosit işareti taşımazlar. Bu hücrelerin yüzeylerinde IgG Fc kısmına karşı reseptör bulunur. Fagositoz yapma ve yapışma özellikleri olmayan bu hücreler büyük granüllü lenfositler olarak da adlandırılırlar. Bu hücreler antikora bağlı hücresel sitotoksiste ya da doğal öldürücü hücre aktivitesi (natural killer cell, NK) gösterirler.

Periferik kan lenfositlerinin yüzeylerinde taşıdıkları belirleyicilerle tanımlanması pek çok hastalığın tanı ve izlemine katkıda bulunur. T ve B lenfositlerin ayırımında ilk kullanılan belirleyicilerden biri T lenfositlerinin yüzeylerinde koyun eritrositleri ile rozet oluşturmalarını sağlayan moleküllerin olması, B lenfositlerin ise yüzey immünoglobulin taşımasıdır. Monoklonal antikörlerin üretilmesinden sonra hücre yüzey belirleyicilerinin tanımlanması hız kazanmıştır. Günümüzde tanımlanmış olan 150'nin üzerinde yüzey belirleyicisi, CD sınıflaması (cluster of definition) ile bir sıraya konulmuştur. Bu yüzey belirleyicileri ile hücrelerin gelişimini izlemek, değişik gelişim evrelerinde farklılaşma duraklaması ile ortaya çıkan malign hastalıkları tanımlamak mümkün olmuştur. Tablo 1 ve 2'de bazı yüzey belirleyicileri özetlenmiştir.

Hücre yüzey belirleyicileri immünofloresans yöntemi ile boyama sonrası floresans mikroskopta veya akım sitometrisinde değerlendirilir.

Tablo 1. Normal hematopoetik hücre yüzey belirleyicileri (30)

Hücre tipi	Marker'lar
B lenfosit	CD19, CD20, CD22, Yüzey Ig
T lenfosit	CD2, CD3, CD4, CD5, CD7, CD8
Myeloid seri	CD13, CD33, CD11b, CD15, CD43 ⁽¹⁾
Monosit	CD14, CD13, CD33, CD11b, CD4 ⁽²⁾
Megakaryosit	CD41, CD42, CD61
Eritroid seri	Glikoforin-A
Plazma hücresi	CD38 ⁽³⁾ , sitoplazmik Ig
NK hücresi	CD16, CD56

(1) CD43 aynı zamanda normal T lenfositlerce de taşınır. (2) CD4 aktive monositlerce taşınır. (3) CD38, CD25, CD11b, HLA-DR non-spesifik marker'lar olup aktive T, aktive B ve monosit gibi "antijen sunan hücreler" ce taşınabilirler.

Tablo 2. Hücre yüzey belirleyicileri ve membran komponentleri

CD	Başlıca hücresel ilişki	Membran komponenti
CD3	T lenfosit	T-hücre reseptörü
CD4	T-helper	MHC sınıf II ve HIV reseptörü
CD8	T-sitotoksik	MHC sınıf I reseptörü
CD16	NK ve mast hücreleri, makrofajlar	Fcy
CD19	B lenfosit	Pan B hücre markeri, CD21 ile birlikte
CD25	Aktive T, B ve makrofajlar	IL-2 reseptör β zinciri
CD54	Lökositler, endotel hücreleri	LFA-1, MAC-1
CD56	NK, embriyonik, kas, nöral hücreler	Heparan sülfat

2.5. Helikobakter pilori' ye konak cevabı

Hp etkilenen tüm kişilerde sürekli gastrik enflamasyona neden olur (31). Bu enflamatuvar cevap epitelyal hücre hasarı ile birlikte nötrofillerin ve daha sonra da T, B lenfositlerinin, plazma hücrelerinin ve makrofajların infiltrasyonu ile karakterizedir (32). Patojen ayrıca gastrik epitelyal hücre yüzeyindeki MHC sınıf II molekülüne bağlanabilir (33). Hp üreazı ekstrasvazyon ve nötrofillerin kemotaksisine de katkıda bulunabilir (34,35).

Hp ile enfekte kişilerde gastrik mukozada IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α ve IL-1 β 'nin düzeyleri artmıştır (8-10,36). Bunlardan IL-8 santral rol oynamaktadır ve mide epitel hücreleri tarafından sekrete edilen potent bir nötrofil aktivatörüdür (36). Cag PAI taşıyan Hp türleri, Cag negatif türlere göre daha güçlü IL-8 cevabı oluşturur, bu cevap nükleer faktör-KB'nin aktivasyonuna ve faktör aktivatör protein 1 (AP-1)'in transkripsiyon cevabına bağlıdır (37,38). Hp enfeksiyonu mukozal humoral cevabı indükler (39). Hp'ye karşı oluşan bu antikolar enfeksiyonun eradikasyonuna yardım etmez, ancak doku hasarına katkıda bulunabilir. Bazı enfekte hastalarda gastrik paryetal hücrelerdeki hidrojen-potasyum ATPaz (H-K ATPaz) pompasına karşı antikor cevabı gözlenmektedir. Bunun sonucunda da korpusta artmış atrofi tespit edilir (40).

Spesifik immün cevap sonucu, T hücrelerin farklı subgrupları ortaya çıkar. CD4 eksprese eden immatür Th0 hücreleri iki sub tipe ayrılır: Th1 (IL-1, IFN γ sekrete eder), Th2 (IL-4, IL-5, IL-10 sekrete eder). Th2 hücreleri ekstrasellüler patojenlere cevap olarak B hücreleri stimüle ederken, Th1 intrasellüler patojen cevabını indükler. Hp'ye spesifik gastrik mukozal yanıt genellikle Th1 fenotipini temsil eder (41). Yapılan hayvan deneylerinde Th1 sitokinlerinin gastrite katkıda bulunduğu, buna karşın Th2 sitokinlerinin inflamasyona karşı koruyucu olduğu tespit edilmiştir (42). Th1 oryantasyonu Hp enfeksiyonuna cevap olarak antral IL-18 oluşumundaki artışa bağlı olabilir (43).

Cag PAI aracılı protein translokasyonu ile ilgili hasara rağmen, Hp enfeksiyonunun başka birkaç mekanizma ile epitelyal hasara neden olabileceği düşünülmektedir. Epitelyal hücre hasarının aktive nötrofiller tarafından oluşturulan reaktif oksijen veya nitrojen türleri sonucu oluşabileceği öne sürülmüştür (44). Kronik inflamasyonun da epitelyal hücre döngüsünü ve apoptozisi arttırabileceği, bu durumun da IFN- γ ve Th1 ile epitelyal hücreler arasındaki direkt Fas aracılı etki sonucu olabileceği düşünülmektedir (45).

2.6.Sitokinler

İmmün sistemin hücreleri arasındaki birçok önemli etkileşim, sitokinler adı verilen mediatörler aracılığı ile kontrol edilir. Son 30 yılda bu önemli düzenleyici moleküllerin molekül yapıları ve biyolojik özellikleri hakkında yeni bilgiler edinilmiştir. Sitokinler hücreler arasında sinyali sağlayan çeşitli proteinler olup, bunlar lokal, sistemik immün ve inflamatuvar cevap yanında yara iyileşmesi, hematopoez ve çeşitli diğer biyolojik etkilere neden olmaktadır. Bugüne kadar yapısal olarak birbirinden farklı ve genetik olarak birbiriyle ilişkisiz olan yüzden fazla sitokin tanımlanmıştır. Oldukça potent bileşikler olup hedef hücre yüzeyindeki özgül reseptörlere bağlanarak etkilerini gösterirler. Endokrin hormonlardan farklı olarak, özel salgı bezlerinde üretilmezler, fakat çeşitli farklı dokularda ve hücrelerde

üretirler. Lenfositlerde yapılan sitokine lenfokinler adı da verilir; monosit ve makrofajlarda üretilenlere ise monokinler denir. Sadece az sayıda sitokin (örn: transforme edici büyüme faktörü beta (TGF- β), eritropoietin (epo), kök hücresi faktörü (SCF) ve monosit koloni stimüle edici faktör (M-CSF)) normal şartlarda kanda saptanabilen düzeyde bulunabilir ve uzaktaki hücreler üzerinde etki gösterebilir. Diğer bir çok sitokin sadece lokal olarak çok kısa mesafelerde ya parakrin yoldan (komşu hücreler üzerine) veya otokrin yoldan (salgılayan hücrenin kendisine) etkilerini gösterirler.

Herbir sitokin özgül uyarılar karşısında belirli tipte hücreler tarafından salgılanır ve hedef hücrelerin büyümesi, farklılaşması veya fonksiyonu üzerine karakteristik etkiler gösterir. Sitokinler tek başına veya diğer sitokinlerle koordineli bir cevabın parçası olarak salınabilir. Bir sitokin diğer sitokinlerin veya mediatörlerin salgılanmasını uyarabilir. Sitokinlerin salgılandıkları yerler ve fonksiyonları Tablo 3' de özetlenmiştir.

Salınan düşük molekül ağırlıklı proteinler, hücresele büyüme, inflamasyon, immünite, diferansiyasyon ve tamir olaylarına aracılık eder. Oldukça potenttirler ve RNA ve protein sentez paterninde değişiklik oluşturmak üzere, az sayıdaki yüksek affiniteli hücre yüzey reseptörleri ile etkileşirler. Endokrin hormonların aksine, sitokinlerin çoğu lokal olarak parakrin veya otokrin etki gösterirler.

2.7. Sitokinler arası etkileşim:

Farklı sitokinler arası etkileşimler birçok hücresele olaya aracılık eder. Bir sitokin diğerinin sentezini indükleyebilir, diğer bir sitokinin reseptörünün transmodülasyonunu sağlayabilir veya aynı hücre üzerinde farklı iki sitokin sinerjistik veya antagonistik etki gösterebilir. Bunun yanında aynı sinyal yolunu kullanan birçok sitokinler nedeniyle gereğinden fazla etki ortaya çıkabilir.

Tablo 3 Sitokinler ve fonksiyonları

Sitokin	Kaynaklandığı yer	Fonksiyon
IL-1	Makrofaj, fibroblastlar	Aktive B ve T lenfositlerin proliferasyonu; makrofajlardan PGE ₂ ve sitokinlerin indüksiyonu; Endotelial hücrelerden nötrofil ve T adhezyon moleküllerin indüksiyonu
IL-2	T lenfosit	Aktive T ve B lenfositlerin olgunlaşması; NK hücrelerin aktivasyonu
IL-4	CD4 T, Mast hücresi, Kemik iliği stroması	Aktive B ve T lenfositleri, mast ve hematopoietik prekürsörlerin proliferasyonu; MHC sınıf II ve B lenfositlerindeki FcεR, T lenfositlerindeki p75 IL-2R indüksiyonu; Makrofaj APC ve sitotoksik fonksiyon
IL-6	CD4 T, makrofaj, mast hücresi, fibroblastlar	B, T lenfosit efektörlerin ve hematopoietik prekürsörlerin büyüme ve diferansiasyonu
IL-8	Monositler	Nötrofillerin kemotaksisi ve aktivasyonu
IL-10	CD4 T, B lenfosit, makrofaj	IFN-γ sekresyon inhibisyonu, mononükleer hücre inflamasyon inhibisyonu
TNF-α	Makrofaj, T lenfosit	Tümör sitotoksitesi; kaşeksi, akut faz protein indüksiyonu; anti-viral ve anti-parazitik aktivite; fagositik hücrelerin aktivasyonu
IFN-γ	T lenfosit	Anti-viral; Makrofaj aktivasyonu, Makrofaj ve diğer hücrelerden MHC sınıf I ve II ekspresyonu; sitotoksik T lenfosit diferansiasyonu; IL-4 etkisinin antagonize edilmesi
TGF-β	T ve B lenfosit	IL-2R upregulasyon ve IL-2 bağımlı T ve B hücre proliferasyonunun inhibisyonu; IL-3 ve CSF'in indüklediği hematopoezisin inhibisyonu

2.8. Th1 ve Th2 sitokin yanıtı kavramları:

Th1 ve Th2 hücrelerinin sitokin sekresyon paterni birbirinden farklıdır. Th1 hücreleri, IFN- γ ve IL-2 salgılar ve özellikle sitotoksik ve gecikmiş hipersensitivite reaksiyonu ile makrofaj aktivasyonuna neden olan hücresel immüniteye aracılık ederler. Th2 hücreleri ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 salgılar ve aktive B- lenfositlerden antikor salınımına neden olurlar. Th1 ve Th2 hücreleri tarafından salınan sitokinler birbirlerinin etkilerini karşılıklı olarak inhibe ederler. IFN- γ Th2 proliferasyonunu inhibe ederken, IL-10 Th1 hücrelerinin down regülasyonunu sağlar. Bunun yanında antijen sunucu hücreler (APC) tarafından oluşturulan IL-12, NK hücrelerinde IFN- γ salınımını indükler ve her iki sitokinin de etkisiyle Th1 hücreleri aktive olurken Th2 hücreleri inhibe olur. Buna karşın, IL-4 varlığında, antijen tarafından aktive edilen T-helper hücresi, Th2 hücresinin oluşumunu sağlar.

Farklı T-hücre alttıpleri değişik tipte sitokin oluşturan çeşitli mikroorganizmalara karşı korunmada önemlidir. Th1 hücreleri tarafından salınan IFN- γ özellikle makrofajlar içinde yerleşen virüsler ve intrasellüler mikroorganizmalara karşı etkilidir. Th2 hücreleri ise B-hücrelerinin etkisiyle daha çok humoral mekanizmalarla antibakteriyel etkiden sorumludur. Tüberküloz enfeksiyonunda; Th1 hücreleri tarafından salınan IFN- γ sayesinde aktive olan makrofajlarca bakteriyel yük azaltılır ve TNF salınımı ile granülom oluşumu sağlanır.

Aktive T hücrelerinin amplifikasyonu IL-2'ye bağımlıdır. Bu lenfokin sadece yüksek affiniteli IL-2 reseptörleri eksprese eden hücreler üzerine etkilidir. İstirahat halindeki hücrelerde, bu tür reseptörler bulunmaz; fakat aktivasyondan sonraki birkaç saat içinde sensitize hale gelirler. Hücreler üzerindeki reseptörlerin sayısının artışı, antijen ve IL-2 ile sağlanır ve antijen ortadan kalkınca IL-2'ye cevap oranı ve mevcut reseptör sayısı azalır.

2.9. Helikobakter Piloni'nin ilişkili olduğu hastalıklar

2.9.1. Gastrit

Marshall ve Morris tarafından yapılan kendi kendine inokülasyon deneyleri Hp enfeksiyonunun gastrite neden olduğunu kanıtlamıştır (2,17). Hp enfeksiyonu mukozal enflamasyonun histopatolojik bulguları ile ilişkilidir (46,47). Gastritin şiddeti midenin farklı bölgelerinde değişken olabilir ve tipik olarak midenin asit sekrete etmeyen kısımlarında, antrum ve kardiyada en şiddetlidir.

Normal mide mukozası enflamatuar hücreler içermez. Hp enfeksiyonu midenin polimorfonükleer hücreler (aktif enflamasyon) ve mononükleer enflamatuar hücrelerle (kronik enflamasyon) infiltrasyonuna yol açar ve bu da aktif kronik gastrit ile sonuçlanır (48). Zaman içinde mide mukozasındaki lenfoid infiltrasyon yani mukoza ilişkili lenfoid doku (MALT) baskın hale gelir ve lenfoid foliküller belirginleşmeye başlar. Ancak Hp tüm midede

bulunmasına rağmen enflamasyon gastrik korpusta genellikle çok hafif, yüzeysel ve hatta hiç yoktur. Gastritin doğal seyri enflamasyonlu alanın antrumdan korpusa genişlemesi ve sonucunda pariyetal hücrelerin kaybı ve atrofi gelişimine yol açmasıdır (48).

Kronik gastrit, gastrik atrofinin gelişimi aşamasında öncü lezyondur. Kronik gastritin başlıca nedenleri Hp ve pernisiyöz anemiye yol açan otoimmün gastrittir. Kronik Hp enfeksiyonu gastritten gastrik atrofiye ilerleyebilir. Atrofik gastrit yüzeysel gastritin mide kanserine progresyonundaki öncü lezyonudur (49).

2.9.2. Peptik ülser hastalığı

Hp enfeksiyonu peptik ülser hastalığı ile yakından ilişkilidir. Bugüne kadar elde edilen veriler Hp enfeksiyonunun duodenal ülserlerin %90'dan fazlasından ve mide ülserlerinin yaklaşık % 70'inden sorumlu olduğunu göstermektedir (4). Hp enfeksiyonu peptik ülserin tek nedeni değildir. Non-steroidal anti-enflamatuar ilaçlar (NSAİİ'lar) giderek daha çok sayıda peptik ülsere neden olmaktadır.

Günümüzde artık Hp'nin tipik olarak çocukluk çağında edinildiğini ve klinik görüntülerinin geç ortaya çıktığını, sıklıkla onlarca yıl sürdüğünü bilmekteyiz. Geçen yüzyılda Schwartz tarafından ileri sürülen "Asit yoksa ülser yoktur" kavramı hala geçerliliğini korumaktadır (4). Duodenal ülserin patogenezi konu alan araştırmalar hastalığı açıklayacak olan asit sekresyonundaki bozukluğu ortaya koymayı amaçlamışlardır. Hp ile ilişkili gastroduodenal fizyolojideki anormalliklerin hepsi duodenal asit yükünü artırır. Anti sekretuar ilaçlar veya antiasitlerle duodenal asit yükünün azaltılması ülser iyileşmesi ile birlikte bulbus duodenalisi Hp için uygun olmayan bir ortam haline dönüştürmektedir.

2.9.3. Mide kanseri

Gastrit ve mide kanseri arasındaki ilişki yıllardır araştırılmaktadır. Gastritte Hp'nin patojenik rolü bulunduğundan sonra bu ilişki doğrulanmıştır. Mide kanseri halen dünyadaki en sık ikinci ölümcül kanser olma özelliğini sürdürmektedir (14). 1994'te WHO (Dünya Sağlık Örgütü) uluslar arası kanser araştırmaları kurumu Hp'yi kesin bir kanserojen olarak tanımlamıştır (50). Mide kanseri insidansı yüksek ülkelerde genellikle Hp enfeksiyonu insidansı da yüksektir (51). Mide kanserine yol açan olaylar dizisi Hp gastriti, atrofi, sürekli artan şiddetli intesinal metaplazi gelişimi, displazi ve son olarak invaziv karsinomu içerir. Mide adenokarsinomu Hp enfeksiyonunun eradikasyonu ile iyileştirilemez. Mide kanseri teorik olarak atrofik gastritin önlenmesi ile önlenemez. Mide kanseri gelişim riski mide kanserli hastaların birinci derece akrabalarında önemli düzeyde arttığından bu kişiler enfeksiyonun varlığı yönünden incelenmeli ve enfeksiyon saptandığında tedavi edilmelidir.

Enfeksiyonun tedavisinin displaziyi geri döndürüp döndürmediği (karsinoma in situ) tartışmalıdır.

2.9.4. MALT lenfoma (primer B hücreli mide lenfoması)

Normal midede organize lenf dokusu yoktur ancak mide lenf dokusunun kronik Hp enfeksiyonunun indüklediği sürekli antijen stimülasyonu sonucu meydana geldiği düşünülmektedir (52). Lenfoid doku MALT oluşturmak için stimüle edildikten sonra zaman içinde bu hücrelerde genetik hasar oluşabilmekte ve mide lenfoması gelişimine yol açmaktadır. MALT lenfomalar mide bezlerini infiltre etmiş olan kanseröz B hücrelerinin monoklonal proliferasyonudur. Gastrik MALT lenfoması tipik olarak düşük dereceli B hücreli lenfomalardır ve olguların %72-98'de Hp pozitifliği söz konusudur (14). Hp eradikasyon tedavisi ile erken evre MALT lenfomalarda %70-80 oranında remisyon sağlanmaktadır (53).

2.9.5. Non ülser dispepsi (fonksiyonel dispepsi)

Non ülser dispepsi (NUD) epigastrium odaklı kronik ağrı veya rahatsızlık hissi ile karakterizedir. Bu olgularda biyokimyasal testlerin yanında endoskopi de normaldir. Batılı ülkelerde bu olgularda Hp görülme oranı (%30-60), kontrollere göre daha yüksektir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde genel popülasyondaki Hp görülme oranı çok yüksek (% 85-95) olduğundan bu farklılık ortadan kalkmaktadır. Bu grup hastalarda eradikasyon tedavisi konusunda yapılan çalışmalar tedavi konusunda net bir yarar ortaya koyamamışlardır (54,55).

2.10. Tanı testleri

Hp ve yukarda saydığımız gastrointestinal hastalıklar arasındaki güçlü ilişki nedeniyle enfeksiyonun varlığının belirlenmesi için birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu tanı testleri iki ana başlık altında incelenebilir: invaziv ve noninvaziv testler.

2.10.1. Non invaziv testler:

2.10.1.1 Seroloji:

Hp'ye karşı oluşmuş spesifik IgG'nin serumda saptanması esasına dayanır. Toplum taramalarında kullanılabilir. Bu testler hastanın Hp ile karşılaştığını gösterir. Antikor testleri enfeksiyonun başarıyla tedavi edilmesinden sonra da uzun süre pozitif kaldığından pozitif bir test sonucu hastanın yeterli bir düzeyde tedavi edilip edilmediği konusunda karar verilirken kullanılmamalıdır. Laboratuvar IgG testlerinde immünabsorban analizler (ELISA) kullanılır ve bunlar yüksek düzeyde duyarlı ve spesifiktir. Serolojik testlerin başlıca sınırlılığı aktif enfeksiyonu geçmişteki enfeksiyondan ayırt edememeleridir.

2.10.1.2 Dışkı antijen testi:

Dışkı antijen testi üre nefes testine bir alternatiftir. Sensitivitesi %89-98 arasında, spesifitesi ise %90'ın üzerindedir (56). Bu test ile coccoid forma geçmiş Hp de tespit edilebilir.

2.10.1.3 Üre nefes testi :

Üre nefes testi Hp'nin belirlenmesi için seçkin bir yöntemdir. Bu test organizmanın CO₂'yi sindirilmiş üreden ayrıştıran üreaz aktivitesi temel alınarak geliştirilmiştir. İşaretlenmiş ürenin yutulması bu reaksiyonda üretilen işaretli CO₂'nin nefeste saptanmasına olanak tanır. İki tipi vardır: radyoaktif karbon ¹⁴C izotopu ve stabil non radyoaktif ¹³C. ¹⁴C-üre nefes testi ucuzdur ancak radyoaktif bileşik içermesi nedeniyle uygulanması için özel koşullar gerekmektedir. Buna karşın ¹³C üre nefes testi hiçbir radyasyon maruziyetine neden olmadığından gebe kadınlar ve çocuklar için de güvenle kullanılabilir. Üre nefes testinin aktif Hp infeksiyonunun belirlenmesinde duyarlılığı %95 civarındadır, spesifikliğı ise %95-100 civarındadır (57). Tedavinin başarılı olup olmadığının belirlenmesi için, bu testin ilaçları kestikten en az 4 hafta sonra yapılması gereklidir.

2.10.2 İnvaziv testler :

Çoğu enfeksiyöz hastalığın varlığının belirlenmesinde altın standard organizmanın kültürününün başarıyla alınmasıdır. Hp laboratuarda kolaylıkla üretilebilir ancak yüksek başarı oranı deneyime bağlıdır. Organizma hem üreme gereksinimleri hem de endoskopi odasından laboratuara taşınması sırasında gerektirdiğı koşullar açısından çok hassastır (58). Kültürünün başarı oranı %70-90 arasındadır ve duyarlılık %90-95, spesifiklik %100'dür. İdeal olarak mide mukoza biyopsileri hemen laboratuara ulaştırılmalıdır. Eğer işlem iki saat içerisinde yapılacaksa transport ortamı olarak serum fizyolojik kullanılabilir. Daha uzun transport sürelerinde örnekler gliserol içeren bir ortam içinde taşınmalıdır. Hp suşlarında antibiyotik direnci yaygınlaşmaya başladığından, tedavi öncesi kültür alınmasının da önemi artmaktadır.

2.10.2.1 Histoloji :

Hp'nin belirlenmesinde diğeri önemli yöntem, endoskopik mukoza biyopsisi örneklerinin özel boya kullanılarak histolojik incelenmesidir (59,60). Hematoksilen-Eozin boyasının tek başına organizmanın belirlenmesinde yeterli olmadığı kanıtlanmıştır (61). Warthin-Starry gümüş bazlı boyası ile daha iyi sonuçlar elde edilmiştir ancak uygulama güçlüğü, pahalı olması ve doku yapısını optimum düzeyde koruyamaması gibi sorunları vardır (62). Giemsa boyasının da kullanışlı olduğu kanıtlanmıştır (61). Ancak bu boyaların hiçbiri mide morfolojisinin yeterli düzeyde görüntülenmesine imkan vermemektedir. Bu nedenle iki boyanın kullanılması gerekmektedir (örneğin H-E artı bir özel boya). Biyopsi

alınması sırasında büyük uçlu biyopsi forsepsinin kullanılması ve antrum ve korpustan biyopsi örnekleri alınması iyi sonuç alınması açısından önemlidir. Hp mide genelinde eşit olmayan bir dağılım gösterdiğinden hem küçük hem de büyük kurvaturden biyopsiler alınmalıdır (iki antral, iki korpus biyopsisi tercih edilir).

2.10.2.2 Hızlı üreaz testi :

Hızlı üreaz testi Hp'nin üreyi amonyak ve CO₂'ye ayrıştıran büyük miktarlarda üreaz enzimi içerdiği gerçeğine dayanmaktadır. Hp içeren bir mide biyopsisi üre içeren bir ortama konduğu zaman Hp üreazı tarafından üretilen amonyak pH'ı arttıracaktır ve bu artış bir pH göstergesinin renk değişikliği ile gösterilir. Eğer ortam portakal renginden tam pembeye dönüşürse sonuç pozitifdir. Hızlı üreaz testin duyarlılık ve spesifikliğı sırasıyla %90 ve %95'tir (14). Hızlı üreaz testi yüksek bakteri yoğunluğu gerektirir ve bakteri yükünü azaltan herhangi bir şey yanlış negatif test sonuçları oluşturabilir. Bakteri yükünü geçici olarak azaltabilen sık görülen olaylar kısa süre önce antibiyotik veya bizmut içeren bileşiklerin kullanılması ve proton pompası inhibitörlerinin kullanılmasıdır (63).

2.10.3 Yeni test yöntemleri:

Başta geleni PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) olup, spesifikliğı yüksek fakat duyarlılığı değişkendir. Teknik zorluklar, yanlış pozitif sonuçlar ve geleneksel Hp belirleme testlerinin basit olmasından dolayı kullanımı herhangi bir avantaj sağlamamaktadır.

2.11. Tedavi

Tedavide hedef, organizmanın eradike edilmesidir. Reinfeksiyon oranları düşüktür, bu nedenle tedavinin faydası tartışılmazdır. Hp eradikasyonu için seçilecek rejimlerde temel prensip tercih edilen ilaçların en az %85 oranında kür sağlaması ve minimal bakteriyel rezistans indüksiyonuna sahip olmasıdır (49). Ancak bu sonuçlar sadece antibiyotik kullanımı ile sağlanamaz, çünkü Hp'ye karşı etkili olan antimikrobiyal ajanları asidite etkiler, bu nedenle antibiyotikler proton pompa inhibitörleri veya ranitidin bizmut sitrat ile kombine edilmelidir (49). İdeal bir tedavide aranan şartlar düşük maliyet, yüksek tedavi başarı oranı, uygulama basitliğı, iyi tolere edilebilmesi ve yan etkilerinin az olmasıdır. Günümüzde eradikasyon tedavisinde başlıca iki grup ilaç kullanılmaktadır: anti-sekretuar ilaçlar ve antimikrobiyal ilaçlar.

2.11.1 Antisekretuar ilaçlar:

2.11.1.1 H₂-reseptör antagonistleri: En yaygın kullanılan anti-sekretuar ajanlardır. Paryetal hücrelerin üzerinde bulunan H₂ reseptörü düzeyinde histaminin kompetitif geri dönüşlü inhibitörleridir. Bu ilaçların Hp'ye karşı antibakteriyel aktivitesi yoktur. Bu grup ilaçlar içerisinde ranitidin, famotidin, nizatidin yer alır (5).

2.11.1.2 Proton pompası inhibitörleri (PPI): Asit sekresyonunu mide paryetal hücrelerinde H^+/K^+ATPaz düzeyinde inhibe eder. PPI'yi, H^+/K^+ATPaz 'a bağlanarak bu pompayı inhibe ederler ve gastrik pH'yı arttırmaları. Bu grupta yer alan ajanlar: omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, esomeprazol'dür. Bu grup ajanlar Hp'ye karşı doğrudan antimikrobiyal etki göstermekle beraber tek başlarına kullanıldıklarında enfeksiyonu tedavi edemezler (5).

2.11.1.3 Antikolinergikler: Antikolinergik ajanların anti-sekretuar etkileri zayıftır ve Hp'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri yoktur. Günümüzde antiülser tedavide kullanılmamaktadırlar (64).

2.11.1.4 Prostaglandinler: Sentetik bir prostoglandin analogu olan misoprostol NSAİ'lerin neden olduğu ülserlerin önlenmesinde kullanılmaktadır. Ancak Hp'ye karşı antibakteriyel aktivitesi yoktur (5).

2.11.1.5 Sukralfat: Topikal bir antiülser ilaçtır. Sukralfat, sülfüre sukrozun alüminyum hidroksit tuzudur. Başlıca aktivitesi ülser bölgelerinin üzerini kaplayarak ülser iyileşmesini hızlandırmaktır (65).

2.11.2. Antimikrobiyaller:

2.11.2.1. Topikal ajanlar: Bizmut tuzları gastrit ve peptik ülser tedavisinde 200 yıldan beri kullanılmaktadır (66). Bizmut Hp'ye karşı doğrudan bakterisidaldir ve bakteri lizisine yol açar. Bizmutun bir formu olan bizmut sitratın kolloid süspansiyonu da ülser yüzeyini örter ve ülser iyileşmesini artırır. Bizmut subsalisilatın yüzey kaplayıcı etkisi yoktur fakat etkin bir anti-Hp ajanıdır (67). Bizmutun kullanımı güvenli olup en önemli yan etkisi dilde geçici renk değişikliği ve dışkıının siyah renk almasıdır.

2.11.2.2. Antibiyotikler: Hp çok sayıda antibiyotiğe karşı duyarlıdır ve çeşitli antibiyotikler ve kombinasyonları denenmiştir. Etkin olduğu kanıtlanmış antibiyotikler şunlardır: klaritromisin, amoksisilin, metronidazol, tetrasiklin ve furazolidin. Tekli antibiyotik ajanlarla eradikasyon oranları %0-35 dolayındadır (68). Metronidazol ve klaritromisine karşı olduğu gibi, monoterapi hızla antibiyotik direnci gelişmesine neden olmaktadır. Bu nedenle ikili antibiyotik kombinasyonları eradikasyon tedavisinde şarttır.

2.11.3 Tedavi rejimi seçimi:

Hp enfeksiyonu için bir tedavi rejimi seçilirken: maliyet, basit kullanım, etkinlik, yan etkiler, toplumun antibiyotik direnci, doz, süre, uygulama sıklığı gibi noktalar önemlidir. Günümüzde genel olarak kullanılan ve önerilen eradikasyon tedavisi, bir PPI veya ranitidin bizmut sitrat ile birlikte iki antibiyotik alınımıdır (klaritromisin + amoksisilin veya metronidazol, ya da tetrasiklin + metronidazol veya klaritromisin gibi).

2.11.4. Tedavi endikasyonları

İki bin yılında yayınlanan Maastricht 2-2000 konsensus raporu bu konuda tedavi stratejilerine ışık tutmaktadır (69). Yayınlanan bu rapora göre, tedavi endikasyonları iki ana alt grup şeklinde incelenmektedir:

- Tedavi endikasyonu kesin olanlar:
 - Duodenal veya gastrik ülseri olanlar
 - MALT lenfoma
 - Atrofik gastrit
 - Birinci derece akrabalarda gastrik kanser olması
 - Hastanın isteği
- Tedavi edilmesi tavsiye edilenler:
 - Fonksiyonel dispepsi
 - Gastroözefajiyal reflü hastalığı
 - NSAİD kullananlar

2.11.5. Tedavinin süresi:

ABD ve Avrupa'da yapılan çalışmalarda en başarılı tedavi süresi 14 gün olarak belirlenmiş olup, 7 ve 10 günlük tedavilere göre daha üstün bulunmuştur (70).

2.11.6. Tedavi başarısızlıkları:

Olası nedenleri :

- İlaçların kullanılmaması
- Organizmanın antibiyotiklere direnci
- İstenmeyen ilaç etkileşimleri
- Antibiyotiğin kötü dağılımı veya yetersiz konsantrasyonu
- Reinfeksiyonların oluşması
- Mide asiditesinin yüksek olması nedeniyle antibiyotiklerin etkinliğinin azalması

3.MATERYAL VE METOD

3.1. Hasta seçimi

Çalışmaya 01.10.2003-31.01.2004 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji polikliniğine başvuran dispeptik şikayetleri olan hastalar alındı. Çalışmaya alınma kriterlerine (Tablo 4) uyan Helikobakter pilori'nin pozitif olduğu tespit edilen 10 hasta çalışmaya dahil edildi (grup 1). Kontrol grubu olarak dispeptik şikayetleri olan ve Helikobakter pilori negatif olan 10 hasta seçildi (grup 2). Çalışma kriterlerine uymayan (Tablo 5) hastalar çalışma dışı bırakıldı. Çalışma protokolü II. Helsinki Deklarasyonuna uygun olduğu Karadeniz Teknik Üniversitesi etik kurulunca onaylandıktan sonra hastalar seçildi ve çalışmaya alındı. Hastalar, verilecek tedavi ve sonuçlarıyla ilgili bilgilendirilip onam formları alındı. Helikobakter pilori pozitifliği ureaz testi pozitifliği ve histopatolojik olarak Hp'nin gösterilmesi ile kabul edildi.

Tablo 4. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

-
1. Dispepsi şikayeti olanlar
 2. Üreaz testi pozitif olanlar ve histopatolojik olarak H. Piloni (+) olan hastalar
 3. Gastriti olan hastalar
 4. Duodenal ülseri olanlar
 5. Gastrik ülseri olanlar
-

Tablo 5. Çalışma Dışı Bırakılma Kriterleri

-
1. Hp enfeksiyonu dışında akut veya kronik enfeksiyonu olan hastalar
 2. Akut veya kronik enflamasyonu olanlar
 3. Geçirilmiş mide operasyonu olanlar
 4. Bilinen kanama diatezi olanlar
 5. Oral antikoagülan ilaç kullananlar
 6. Son iki ay içerisinde bismut bileşikleri, proton pompa inhibitörleri veya antibiyotik kullanmış olanlar
 7. Malignansisi olanlar
-

3.2. Çalışma protokolü

Çalışma kriterlerine uyan hastalar çalışma başında ayrıntılı fizik muyanededen geçirildi. Tedavi başlanmadan önce kan örnekleri (4 mililitre) alındı. Alınan kan örnekleri 3000 rpm devirde 10 dakika santrifüje edilerek serumları ayrıldı. Kontrol grubunun kan örnekleri de hasta grubunda belirtildiği gibi alınarak serumları ayrıldı. Bunun yanında lenfosit subtipleri için kan örnekleri EDTA içeren tüplere alındıktan sonra aşağıda açıklanan prosedüre uygun olarak çalışıldı. Lenfosit subtipleri için uygulanan bu işlem eradikasyon tedavisinden sonra tekrarlandı. Kan örnekleri alındıktan sonra hastalara lansoprazol 30 mg (günde iki kez), klaritromisin 500 mg (günde iki kez), ve amoksisilin 1 gr (günde iki kez) başlandı. Klaritromisin ve amoksisilin 14 gün, lansoprazol 6 hafta devam edildi. Hastalar tedavi süresi dahil toplam 10 hafta takip edildi. Onuncu haftanın sonunda hastalar endoskopi ile tekrar değerlendirildi. Üreaz ve histolojik incelemenin ikisinin birden negatif olması eradikasyon kriteri olarak kabul edildi. Kan örnekleri onuncu haftanın sonunda tekrar alındı. Alınan bütün kanların serumları ayrılarak -20°C'de saklandı ve çalışmanın sonunda hasta ve kontrol grubunun serumları çözülerek Enzim-Linked Immunabsorbant Assay (ELİSA) yöntemi ile IL-2, IL-4, IL-10, TGF- β ve IFN- γ düzeyleri bakıldı. Periferik kan örnekleri grup 1 ve grup 2'den ayrı ayrı alındıktan sonra, akım sitometri yöntemi ile lenfosit subtipleri çalışılması için EDTA'lı tüplere konuldu. Bu örneklerden akım sitometri yöntemi ile CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56, CD25 ve CD54 oranlarına bakıldı.

3.3. Çalışmada kullanılan laboratuvar yöntemler:

3.3.1 Gastroduodenoskopi

Çalışmaya dahil olan tüm hastaların endoskopik incelemesi aynı gastroenteroloji uzmanı tarafından Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Ünitesinde Pentax EG-2940 video-endoskop kullanılarak yapıldı. Bu hastalara uygulanan üst gastrointestinal endoskopi ile antral bölgeden beş biyopsi örneği alındı.

3.3.2 Hızlı üreaz testi ve patolojik inceleme

Alınan biyopsi örnekleri Hp açısından mikrobiyoloji ve patoloji laboratuvarlarında incelendi. Biyopsi örnekleri son konsantrasyonu % 2 olacak şekilde üre içeren katı besiyeri (Christensen urea agar base, Merck) içine batırıldı. Otuz dakika içerisinde pembe renk oluşması ile üreaz testi pozitif olarak kabul edildi. Biyopsi örnekleri histopatolojik olarak Hematoksilen-Eosin ve modifiye Giemsa yöntemi ile boyanarak uzman bir patolog tarafından incelendi.

3.3.3 Serum sitokin düzeyleri

Çalışmaya alınan tüm hastaların sitokin düzeyleri Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi hastanesinde bulunan Biyokimya Araştırma laboratuvarında çalışıldı. Serum örnekleri sitokin ölçümleri yapılmadan hemen önce eritildi. IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ ve TGF- β Tecan SPECTRAFluor Plus isimli cihazda Bender MedSystems orijinal kitleri kullanılarak (MedSystems Diagnostics GMBH Rennweg 95b A-1030 Vienna, Austria) ELİSA yöntemiyle çalışıldı. IL-2 kitleri için sensitivite sınırı <15 pg/ml, intra-assay varyasyon \pm %7.5, inter-assay varyasyon \pm %14.8, IL-4 kitleri için sensitivite sınırı <1 pg/ml, intrassay varyasyon \pm %6.3, interassay varyasyon \pm %7.1, IL-10 kitleri için sensitivite sınırı <2 pg/ml, intrassay varyasyon \pm %3.5, interassay varyasyon \pm %13, TGF- β kitleri için sensitivite sınırı <0.1 ng/ml, intrassay varyasyon \pm %4.6, interassay varyasyon \pm %8.7, IFN- γ kitleri için sensitivite sınırı <1.5 pg/ml, intrassay varyasyon \pm %7.4, interassay varyasyon \pm %8.6 idi. IFN- γ BMS 228, IL-10 BMS 215, IL-2 BMS 221, IL-4 BMS 225, TGF- β BMS 249 katalog No'lu orijinal kitler ile çalışıldı.

3.3.4 Akım sitometre ve lenfosit alttipleri

Çalışmaya alınan tüm hastaların kan örnekleri lenfosit subtipleri için Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Laboratuvarında çalışıldı. Akım sitometri için kan örnekleri EDTA'lı tüplere alındı. Bu örneklerden alınan yüz mikrolitre, yirmi mikrolitre çift renkli monoklonal antikor içeren tüplere ilave edildi. Yaklaşık 1×10^6 mononükleer hücre içeren herbir tüp, fluorescein isothiocyanate (FITC)-işaretli monoklonal antikorlar ile 4°C'te 20 dakika boyunca inkübe edildi. Boyanma sonrası, hücreler 0,01 M konsantrasyonda ve 7,4 pH'daki fosfat-tamponlu salin (PBS) ile yıkandı, takiben %4 formol PBS ile fikse edildi ve akım sitometri ile incelendi (Beckman Coulter Epics XL-MCL, Florida, USA). CD3(PE), CD4(FITC), CD8(PE), CD19(FITC), CD16+56(PE), CD25(PE) ve CD54 monoklonal antikorları kullanıldı, bu antikorlar Immunotech, Marseille, France firmasından temin edildi. Aynı prosedür grup 1'deki hastalara eradikasyon tedavisinden sonra tekrarlandı.

3.4. İstatistiksel yöntemler:

İstatistiksel hesaplamalar bilgisayar ortamında SPSS 10.0 isimli istatistik programı ile yapıldı. İstatiksel olarak Hp pozitif hastalar normal dağılım içeren gruplarda tedavi öncesi ve sonrası veriler paired-t test ile, normal dağılım içermeyen gruplarda ise veriler Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubundaki verilerin kıyaslanmasında normal dağılım içeren gruplarda veriler student-t testi ile, normal dağılım içermeyen gruplarda ise veriler Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan Hp pozitif ve Hp negatif hastaların özellikleri Tablo 6'da görülmektedir. Hp pozitif grupta (grup 1) 4 erkek (%40), 6 kadın (%60) bulunuyordu ve ortalama yaş 32 ± 13 yıl idi. Hp negatif grupta (grup 2) 5 erkek (%50), 5 kadın (%50) bulunuyordu ve ortalama yaş 32 ± 11 yıl idi.

Tablo 6. Hastaların ve kontrol grubunun özellikleri

Profil	Hp(+) n=10	Hp(-) n=10
Cinsiyet (kadın/erkek)	6/4	5/5
<i>Endoskopi</i>		
Normal mukoza	0	10
Gastrit/duodenit/özefajit	3/3/0	
Ülser (duodenal/gastrik)	3/1	
<i>Histoloji</i>		
Normal mukoza		10
Gastrit/duodenit/ülser	3/3/4	

Tedavi öncesinde Hp pozitif hastaların üçünde duodenal ülser, birinde gastrik ülser, üçünde duodenit ve üçünde de gastrit tespit edildi. Eradikasyon tedavisi sonrası tüm ülserlerin iyileştiği, duodenit ve gastritin de tüm vakalarda belirgin olarak gerilediği gözlemlendi.

Hp pozitif grupta eradikasyon öncesi (grup 1) ve sonrası (grup 3) serum sitokin düzeyleri ile kontrol grubundaki (grup 2) düzeyler tablo 7'de görülmektedir. Kontrol grubu (Hp negatif) (grup 2) ile Hp pozitif grup (grup 1) arasında sitokin düzeylerinde anlamlı bir fark bulunamadı. Hp eradikasyonundan sonra (grup 3) tekrar bakılan sitokin düzeylerinde de tedavi öncesine (grup 1) göre anlamlı fark yoktu.

Tablo 7. Eradikasyon öncesi/sonrası ve Hp(-) kontrol grubunda serum sitokin düzeyleri

Parametre	Eradikasyon öncesi	Eradikasyon sonrası	Kontrol grubu
IFN- γ (pg/ml)	$1,2\pm0,1$	$1,3\pm0,4$	$1,4\pm0,7$
IL-4 (pg/ml)	$22,6\pm20,9$	$20,6\pm9,5$	$30,1\pm13,2$
IL-2 (pg/ml)	$1\pm0,2$	$0,7\pm0,2$	$1,2\pm0,5$
IL-10 (pg/ml)	$8,5\pm7$	$11,4\pm8,7$	12 ± 8
TGF- β (ng/ml)	$36,2\pm5,6$	$35,4\pm3,2$	$33,6\pm8$

(Değerler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir)

Periferdeki lenfosit subtiplerinin oranları tablo 8'de gösterilmiştir. Periferdeki T lenfositleri oranı Hp pozitif hastalarda, Hp negatif kontrol grubuna (grup 2) göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla %47.7±5.1 ve %40.6±2.0, p<0.001) (tablo 8, grafik 1). Eradikasyon tedavisi sonrası dolaşımdaki T-lenfositleri tedavi öncesi düzeylere kıyasla anlamlı derecede azaldı (sırasıyla %41.9±4.2 ve %47.7±5.1, p<0.01) (tablo 8, grafik 1). Hp eradike edilmiş grup (grup 3) ile Hp negatif grup (grup 2) kıyaslandığında, dolaşan T-lenfositleri açısından her iki grup arasında anlamlı fark saptanmadı. Hp pozitif hastalarda eradikasyon tedavisi öncesi dolaşımdaki B-lenfositlerin oranı, kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede daha düşüktü (sırasıyla %16.1±3.9 ve %22.0±1.9, p<0,001) (tablo 8, grafik 2). B-lenfositleri oranını eradikasyon tedavisi sonrası Hp negatif hastalarla kıyasladığımızda anlamlı fark saptanamadı (sırasıyla %21,9±2,3 ve %22,0±1,9). CD25 pozitifliği açısından her iki grubu karşılaştırdığımızda; CD25(+) hücreler infekte hastalarda, non-infekte hastalara göre anlamlı derecede artmış olarak bulundu (sırasıyla %14.4±7.5 ve %5.9±0.7, p<0.05) (tablo 8, grafik 3). Hp eradikasyonu sonrası CD25(+) lenfositlerin oranı azaldı ve iki grup arasındaki istatistiksel fark ortadan kalktı.

Tablo 8. Eradikasyon öncesi/sonrası ve Hp(-) kontrol grubunda lenfosit subtipleri oranları

Parametre	Hp eradikasyonu öncesi	Hp eradikasyonu sonrası	Kontrol grubu
T lenfosit CD3 (%) *	47,7±5,1	41,9±4,2	40,6±2,0
T helper CD4 (%)	37,8±6,3	38,1±3,4	36,1±2,6
T süpresör CD8 (%)	21,8±5,2	25,1±4,7	24,0±2,3
B lenfosit CD19 (%) **	16,1±3,9	21,9±2,3	22,0±1,9
CD16/56 (%)	8,9±2,6	6,8±2,1	7,2±1,7
CD25(%) ***	14,4±7,5	7,7±1,8	5,9±0,7
CD54(%)	7,7±3,6	6,1±1,6	6,3±0,7

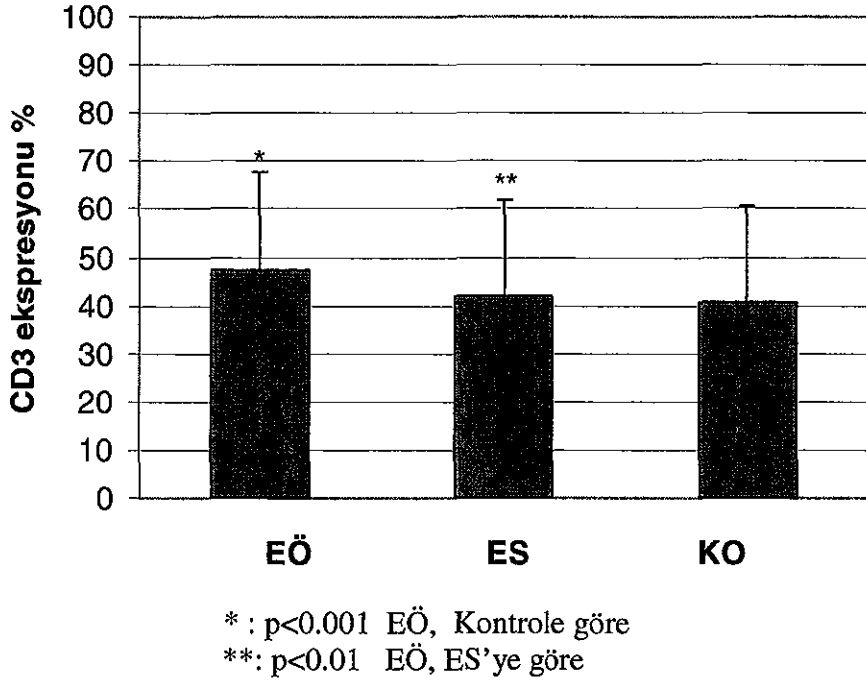
(değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir)

* :p<0,001 eradikasyon öncesi, kontrol grubuna göre

p<0,01 eradikasyon öncesi, eradikasyon sonrası grubuna göre

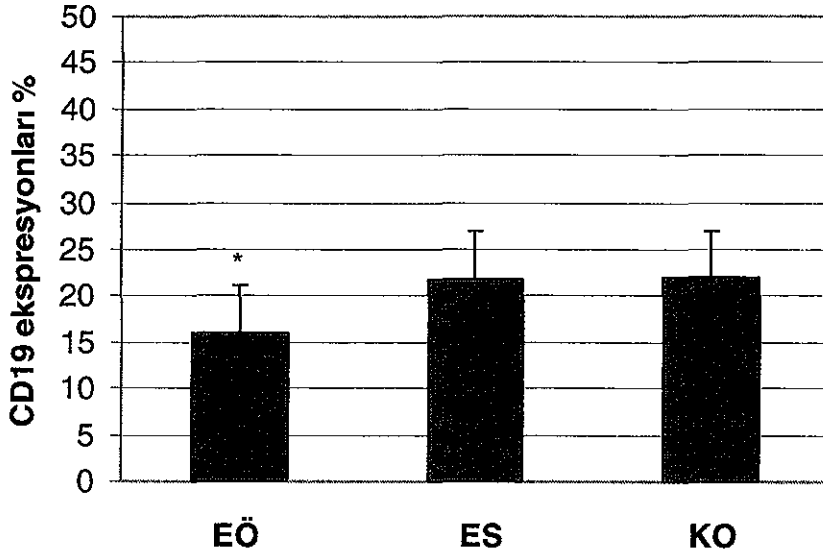
** :p<0,001 eradikasyon öncesi, kontrol grubuna göre

*** :p<0,05 eradikasyon öncesi, kontrol grubuna göre

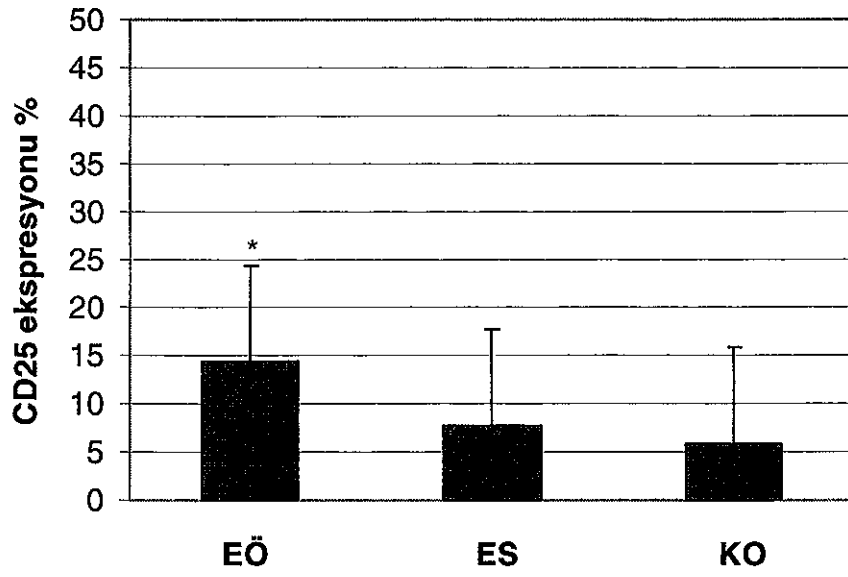


(EÖ: eradikasyon öncesi, ES: eradikasyon sonrası, KO: kontrol)

Grafik 1. CD3 ekspresyon oranları



Grafik 2. CD19 ekspresyon oranları



* $p < 0,05$ EÖ, kontrole göre

Grafik 3. CD25 ekspresyon oranları

5. TARTIŞMA

Hp enfeksiyon prevalansı özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde %80'den fazla orana sahipken, gelişmiş ülkelerde bu oran %20-50 arasındadır (14). Bu yüksek oranlar ve Hp'nin ilişkili olduğu peptik ülser, mide kanseri, MALT lenfoma gibi morbidite ve mortalitesi yüksek hastalıklar gözönüne alındığında bu enfeksiyonun eradike edilmesi toplum sağlığı açısından çok önemlidir. Bu kadar yüksek oranlardaki Hp pozitifliğine rağmen enfekte kişilerin ancak küçük bir bölümü sıraladığımız hastalıklara yakalanmaktadır. Bu durum bakteriyel virulansa bağlı olabileceği gibi konakçının Hp'ye verdiği cevaba da bağlı olabilir.

Hp'nin enfeksiyonu başlatabilmesi için mideye ulaştıktan sonra gastrik lüminal içeriğin bakterisidal etkilerinden kaçabilmesi ve daha sonra da mide mukozasına geçmesi gereklidir. Hp mukozaya geçtikten sonra gastrik enflamasyona yol açar. Önce nötrofil infiltrasyonu, sonra T ve B lenfositleri, plazma hücreleri ve makrofajlar enflamasyona katkıda bulunurlar ve tüm bunların sonucunda da epitelyal hasar oluşur. Özetlediğimiz bu enflamasyonun bazı kişilerde belirgin hasara yol açarak ülser, duodenit veya gastrit oluşturmasının ve birçok kişide de önemli bir lezyon oluşturmamasının sebebi daha önce belirttiğimiz gibi bilinmemektedir.

Hp enfeksiyonuna bağlı enflamasyonun patofizyolojisini açıklamaya yönelik bir çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda çoğunlukla lokal immün cevap araştırılmıştır ve çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Yapılan bir çalışmada Fan ve arkadaşları Hp pozitif hastalarda lamina propria CD8 ve CD22 pozitif lenfositlerin arttığını göstermişlerdir (71). Başka bir çalışmada Hatz ve arkadaşları H. Piloni ile ilişkili gastrit hastalarında lamina propria CD4 lenfositlerin varlığını göstermişlerdir (72). Yamaoka ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada gastrik mukozada IL-1 β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 ve TNF α düzeylerini araştırmışlar. Hp pozitif hastalarda, Hp negatif hastalara kıyasla gastrik mukozada IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 ve TNF- α düzeylerinin anlamlı derecede yüksek olduğunu göstermişler (36). Yine Yamaoka ve arkadaşları yaptıkları bir başka çalışmada antral mukoza biyopsi örneklerinde IL-1 beta, IL-6, IL-7, IL-8, IL-10 ve TNF- α düzeylerini araştırmışlar ve IL-1 beta, IL-6, IL-8 ve TNF- α düzeyleri Hp pozitif hastalarda, Hp negatif hastalara kıyasla anlamlı derecede yüksek olduğunu rapor etmişlerdir (8). Görüldüğü gibi bu çalışmaların tümü lokal enflamasyonun patogenezini açıklamaya yöneliktir. Sistemik immün cevabı değerlendiren çok az sayıda çalışma vardır. Yakın zamanda Yüceyar ve arkadaşları periferik T lenfositleri, B lenfositleri ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin periferdeki oranının duodenal ülser, kronik antral gastrit ve sağlıklılarda farklı olmadığını göstermişlerdir (11). Bizim bulgularımız da kısmen Yüceyar ve

arkadaşlarının çalışmasını desteklemekle beraber önemli farklılıklar göstermektedir. Bizim çalışmamızda da periferik CD4+/CD8+ T hücre oranlarında ve NK hücrelerde Hp pozitif ve negatif hastalarda farklılık bulunamadı. Fakat genel olarak T hücre popülasyonunun Hp'ye cevap olarak belirgin olarak arttığı gözlemlendi. Buna paralel olarak B lenfositlerin anlamlı olarak azaldığı görüldü. Ayrıca IL-2 reseptörü ve lenfoid aktivasyon markeri olan CD25 Hp pozitif grupta anlamlı olarak artmış olarak bulundu. Bu bulgular Hp'ye cevap olarak periferde T lenfositlerin arttığı ve aktive olduklarına işaret etmektedir. Eradikasyon tedavisi sonrası T lenfositlerin ve CD25+ hücrelerin kontrol grubu ile aynı düzeye düşmesi ve B lenfositlerin de kontrol grubu ile aynı düzeye çıkması Hp'nin bu değişikliklerden sorumlu olduğunu desteklemektedir.

Lenfosit subtiplerindeki bu değişmeye rağmen serum sitokin düzeylerinde Hp pozitif ve Hp negatif hastalar arasında önemli bir değişiklik saptanamadı. Ancak yine Yüceyar ve arkadaşları yaptıkları bir başka çalışmada H. Piloni pozitif ve Cag A pozitif hastalarda, H. Piloni pozitif ve Cag A negatif hastalara göre serum TNF- α ve gastrin düzeylerinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Ancak peptik ülser gelişme oranları her iki grupta farklı olmakla birlikte, istatistiksel olarak aradaki fark anlamsız bulunmuş (10). Bu iki çalışmanın yanında yine aynı araştırmacılar H. Piloni pozitif ve Cag A pozitif hastalarda, H. Piloni pozitif ve Cag A negatif hastalara göre serum TNF- α düzeylerini yüksek ancak gastrin düzeylerini istatistiksel olarak farksız bulmuşlardır (11). Bu çalışmaların yanında Yamaoka ve arkadaşları mide kanserli hastalarda sitokinler ve Hp arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır (73). Bu çalışmada kanser dokusunda, kanser dokusuna yakın mukozada ve kontrol grubu ile kanserli hastalarda serumda sitokin düzeyleri ölçülmüştür. Kontrol grubu antrum mukozasında Hp pozitif grupta, Hp negatif gruba göre IL-1 β , IL-6 ve IL-8 düzeyleri anlamlı derecede yüksek olarak rapor edilmiştir. Bu çalışmada serum sitokin düzeyleri değerlendirildiğinde; kanserli olgularda IL-6 düzeyi kontrollere kıyasla anlamlı derecede yüksek bulunmakla beraber, IL-1 β ve IL-8 düzeylerinde anlamlı fark gözlenmemiştir. Yine bu çalışmanın bir kolunda (erken mide kanserli 6 vaka) Hp eradikasyon tedavisinden sonra antral mukoza örneklerinde IL-8 düzeyinde anlamlı bir düşüş gösterilmiştir. Ancak kanserli doku ve serum IL-1 β ve IL-8 düzeylerinin tedaviden etkilenmediği gösterilmiştir. Buna karşın kanserli dokuda IL-6 tedavi sonrasında anlamlı derecede düşerken, serum IL-6 düzeyi düşmekle beraber bu düşüş istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmanın başka bir kolunda ise Hp pozitif 8 kontrol hastasının eradikasyon öncesi ve sonrası mukoza ve serum sitokin düzeyleri ölçüldüğünde, antral mukozada tedavi öncesine göre tedavi sonrasında sitokin düzeylerinin anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir. Serum sitokin düzeyleri ise tedavi öncesi ve sonrası

benzer bulunmuştur (73). Yapılan bir başka çalışmada mide mukoza biyopsilerinde IL-8, IL-10 ve IFN- γ düzeyleri Hp negatif hastalara oranla daha yüksek düzeyde tespit edilmiştir (74). Bu sonuçlar birbiriyle çelişmekle birlikte lokal immün cevabın yanında spesifik sistemik immün cevabın olabileceğini göstermektedir.

Bizim çalışmamızda tedavi öncesi her iki grubu karşılaştırdığımızda Hp pozitif grup ile Hp negatif grup arasında IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ ve TGF- β düzeyleri açısından herhangi bir fark bulunamadı. Yine eradikasyon tedavisi sonrasında her iki grup karşılaştırıldığında sitokin düzeyleri arasında herhangi bir fark gösterilemedi. Bu sonuçlar gastrik mukozada elde edilen sonuçların aksine, periferik kanda Th1 veya Th2 sitokin yanıtı lehine herhangi bir eğilim olmadığını düşündürmektedir. Ancak dolaşan lenfosit popülasyonunun gün içinde sürekli değişkenlik göstermesi, sitokin düzeylerinde gün içinde ve değişik etkenlerin etkisi ve çeşitli çalışmalarda kullanılan laboratuvar yöntemlerinin farklılığı bu konuda kesin bir yargıya varmamızı güçleştirmektedir.

Göz ardı edilmemesi gereken bir nokta da Tamaoki' nin belirttiği gibi (75) makrolidler (klaritromisin gibi) sitokin sentezini etkilemektedir. Bu nedenle tedavi öncesi ve sonrası sitokin düzeylerinde farklılık saptanmamasının nedeni klaritromisinin bu etkisi sonucu olabilir. Bu etkiyi ortadan kaldırmak için ilerde yapılacak çalışmalarda eradikasyon tedavisinde klaritromisin yerine metronidazol gibi sitokin düzeylerini etkilemeyen antibiyotikler seçilebilir veya kontrol grubuna da antibiyotik verilebilir.

Sonuç olarak; bu çalışmada ortaya konan verilerin ışığında Hp enfeksiyonunun periferde T lenfositlerde artışa yol açmakta ve lenfositlerin aktivasyonuna neden olmaktadır. Sitokin düzeylerinde buna paralel bir değişiklik olmaması bu konuda kesin bir yargıya varmamızı güçleştirmektedir. Peptik ülser hastalarında daha şiddetli inflamasyon nedeniyle, sistemik immün yanıtın daha güçlü olma ihtimali karşısında, daha fazla sayıda ve hastaları gastrik ülser, duodenal ülser, gastrit ve/veya duodenit gibi gruplara bölerek çalışmalara devam edilmesi konunun aydınlatılması için faydalı olacaktır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Eradikasyon tedavisi verilen hastaların hiç birinde ilaca bağlı yan etki gözlenmedi.
- Periferik CD4+/CD8+ T hücre oranlarında ve NK hücrelerde Hp pozitif ve negatif hastalarda farklılık bulunamadı.
- Genel olarak T hücre popülasyonunun Hp'ye cevap olarak arttığı gözlemlendi.
- B lenfositlerin Hp'ye cevap olarak anlamlı derecede azaldığı görüldü.
- IL-2 reseptörü ve lenfoid aktivasyon belirteci olan CD25 Hp pozitif grupta anlamlı olarak artmış olarak bulundu.
- Eradikasyon tedavisi sonrası T lenfositlerin ve CD25+ hücrelerin kontrol grubu ile aynı düzeye düştüğü ve B lenfositlerin de kontrol grubu ile aynı düzeye çıktığı saptandı.
- Tedavi öncesi her iki grubu karşılaştırdığımızda Hp pozitif grup ile Hp negatif grup arasında IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ ve TGF- β düzeyleri açısından herhangi bir fark bulunamadı.
- Eradikasyon tedavisi sonrasında her iki grup karşılaştırıldığında sitokin düzeyleri arasında herhangi bir fark gösterilemedi.
- Bu çalışmanın sonucunda Hp enfeksiyonunun periferde T lenfositlerinde artışa yol açtığı ve lenfositlerin aktivasyonuna neden olduğu, ancak sitokin düzeylerinde buna paralel bir değişiklik olmadığı izlendi. Dolayısıyla Hp enfeksiyonu sonucunda sistemik immün cevap olduğu konusunda kesin bir yargıya varılamadı. Bu nedenle daha fazla sayıda ve hastaları gastrik ülser, duodenal ülser, gastrit ve/veya duodenit gibi gruplara bölerek çalışmalara devam edilmesinin konunun daha iyi aydınlatılması için faydalı olacağı kanaatine varılmıştır.

7. ÖZET

HELİKOBAKTER PİLORİ ENFEKSİYONUNDA TEDAVİ ÖNCESİ VE SONRASI SİSTEMİK İMMÜN CEVAP

AMAÇ: Hp (+) peptik ülser ve kronik gastritte, eradikasyon tedavisi öncesi ve sonrası serum sitokin düzeyleri ve lenfosit subtipleri değişimlerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

YÖNTEM: Hp (+) peptik ülser veya kronik gastritli 10 hasta (grup 1) ve Hp (-) olup dispeptik şikayetleri olan 10 hasta (grup 2) çalışmaya dahil edildi. Çalışma başında tüm hastalar özefago-gastro-duodenoskopi ile değerlendirildi. Grup 1'deki hastalara lansoprazol 30 mg günde iki kez (6 hafta), klaritromisin 500 mg günde iki kez (14 gün) ve amoksisilin 1 gr günde iki kez (14 gün) başlandı. Onuncu haftanın sonunda grup 1'deki hastalar endoskopi ile tekrar değerlendirildi. Çalışma başında ve onuncu haftanın sonunda tüm hastalardan kan örnekleri alındı. Alınan kan örneklerinden sitokinler (IL-2, IL-4, IL-10, TGF- β , IFN- γ) ve lenfosit subtipleri (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56, CD25 ve CD54) sırasıyla ELİSA ve akım sitometri yöntemleri ile değerlendirildi.

BULGULAR: Hp (+) ve Hp (-) hastalar arasında sitokin düzeyleri açısından anlamlı fark bulunamadı. Benzer şekilde eradikasyon tedavisi sonrası da fark gözlenmedi. Periferdeki T lenfositleri oranı grup 1'de, grup 2'ye göre anlamlı derecede yüksek bulundu (sırasıyla %47.7 \pm 5.1 ve %40.6 \pm 2.0, p<0.001). Eradikasyon tedavisi sonrası dolaşımdaki T-lenfositleri oranı grup 2'deki düzeylere düştü (sırasıyla %41.9 \pm 4.2 ve 40.6 \pm 2.0). Bir aktivasyon belirteci olan CD25 ekspresyonu Hp (+) hastalarda Hp (-) hastalara göre artmış olarak bulundu ve eradikasyon tedavisi sonrası anlamlı derecede azaldı (sırasıyla %14.4 \pm 7.5; %5.9 \pm 0.7 ve %7.7 \pm 1.8, p<0.05). Hp (+) hastalarda B-lenfositlerinin oranı, Hp (-) hastalara oranla anlamlı derecede daha düşüktü ve eradikasyon tedavisi sonrası anlamlı derecede arttı (sırasıyla %16.1 \pm 3.9; %22.0 \pm 1.9 ve %21.9 \pm 2.3, p<0,001).

SONUÇ: Hp (+) hastalarda artmış T lenfosit proliferasyonu ve aktivasyonu izlenmekle birlikte sitokin düzeylerinde değişiklik izlenmedi. Bu çelişkili sonuçlar Hp infeksiyonunda sistemik cevap olduğu konusunda kesin hükümlere varmamızı engelliyor. Bu nedenle hastaları gastrik ülser, duodenal ülser, gastrit ve/veya duodenit gibi gruplara bölerek, daha kapsamlı çalışmalara devam edilmesi konunun aydınlatılması açısından faydalı olacaktır.

8. SUMMARY

SYSTEMIC IMMUNE RESPONSE BEFORE AND AFTER TREATMENT OF HELICOBACTER PYLORI INFECTION

AIM: The aim is to investigate variations of serum cytokine levels and lymphocyte subtypes before and after eradication treatment in *Helicobacter pylori* (Hp) (+) peptic ulcer and chronic gastritis.

METHOD: Ten patients (Group 1) with Hp (+) peptic ulcer or chronic gastritis and 10 Hp (-) patients (Group 2) with dyspeptic complaints were enrolled to the study. All the patients were underwent esophago-gastro-duodenoscopy at the beginning of the study. Lansoprazol 30 mg twice a day (6 weeks), clarithromycin 500mg twice a day (14 days), and amoxicillin 1gr twice a day (14 days) p.o. were commenced to the group 1 patients. Group 1 patients were re-evaluated with endoscopy on the end of the 10th week. Blood samples were obtained from all of the patients at the beginning and at the 10th week of the study. Cytokines (IL-2, IL-4, IL-10, TGF- β , IFN- γ) and lymphocyte markers (CD3, CD4, CD8, CD19, CD16+56, CD25, CD54) were analysed by ELISA and flow-cytometry, respectively.

RESULTS: There was no significant difference between cytokine levels of Hp (+) and Hp (-) patients. Similarly, no difference was found after the eradication treatment. Percentage of T lymphocytes was significantly higher in group 1 patients compared to group 2 patients ($47.7\pm 5.1\%$ vs $40.6\pm 2.0\%$, respectively $p<0.001$). T lymphocytes decreased to the levels of group 2 after the eradication treatment ($41.9\pm 4.2\%$ vs $40.6\pm 2\%$, respectively). CD25, which is an activation marker, expression was found to be increased in Hp(+) patients compared to Hp(-) patients and decreased significantly after eradication treatment ($14.4\pm 7.5\%$, $5.9\pm 0.7\%$ and $7.7\pm 1.8\%$, respectively $p<0.05$). B lymphocytes in Hp (+) patients was significantly increased compared to Hp (-) patients and increased significantly after eradication treatment ($16.1\pm 3.9\%$, $22.0\pm 1.9\%$ and $21.9\pm 2.3\%$, respectively $p<0,001$).

CONCLUSION: Although increased T lymphocyte proliferation and activation observed in Hp (+) patients, no change was observed in cytokine levels. This conflicting results make difficult to reach a definite decision about the systemic response to Hp infection. Therefore, more comprehensive studies, including more patients with gastric ulcer, peptic ulcer, gastritis and/or duodenitis, should be performed to clarify this subject.

9. KAYNAKLAR

1. Marshall BJ, Warren JR: Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315.
2. Morris A, Nicholson G: Ingestion of *Campylobacter pyloridis* cause gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterology* 1987; 82: 192-199.
3. Soll AH: Gastric, duodenal and stress ulcer. In: Sleisenger M, Fordtran J, eds. *Gastrointestinal disease*, 5 th ed. Philadelphia, WB Saunders, 1993, pp 580-679.
4. McQuaid KR: Dyspepsia and nonulcer dyspepsia. In Ed: Grendell JH, McQuaid KR, Friedman SL: *Diagnosis and treatment in Gastroenterology*. 10 th edition, Connecticut, Appleton&Lange, 1996: pp 308-319.
5. McQuaid KR: Alimentary tract. In Ed: Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA: *Medical diagnosis and treatment*. 42 th edition, New York, McGraw-Hill, 2003: 567-583.
6. Graham DY: Can therapy ever be denied for *Helicobacter pylori* infection ? *Gastroenterology* 1997; 113: S113-S117.
7. Stromberg E, Lundgren A, Edebo A, Lundin S, Svennerholm AM, Lindholm C. Increased frequency of activated T-cells in the *Helicobacter pylori*-infected antrum and duodenum. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003 May 25;36:159-68.
8. 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* 1997 Oct;41:442-51.
9. Crabtree JE, Wyatt JJ, Trejdosiewicz LK, Peichl P, Nichols PH, Ramsay N, Primrose JN, Lindley JJ. Interleukin-8 expression in *Helicobacter pylori* infected, normal, and neoplastic gastroduodenal mucosa. *J Clin Pathol* 1994 Jan;47:61-6.
10. Crabtree JE, Shallcross TM, Heatley RV, Wyatt JJ. Mucosal tumour necrosis factor alpha and interleukin-6 in patients with *Helicobacter pylori* associated gastritis. *Gut*. 1991 Dec;32:1473-7.
11. Yuceyar H, Saruc M, Kokuludag A, Terzioglu E, Goksel G, Isisag A: The systemic cellular immune response in the *Helicobacter pylori*-associated duodenal ulcer and chronic antral gastritis. *Hepatogastroenterology*. 2002 Jul-Aug;49: 1177-9.
12. Saruc M, Demir MA, Kucukmetin N, Kandiloglu AR, Akarca US, Yuceyar H: Histological and clinical predictive value of determination of tissue *CagA* status by

- PCR in *Helicobacter pylori* infected patients; results of the large population based study in western Turkey. *Hepatogastroenterology*. 2002 May-Jun;49: 878-81.
13. Saruc M, Goksel G, Ozkaya S, Guclu F, Ozbakkaloglu B, Yuceyar H: The effect of CagA status on response to *Helicobacter pylori* eradication therapy in Western Turkey. *Braz J Med Biol Res*. 2001 Nov;34:1435-9.
 14. Suerbaum S, Michetti P. *Helicobacter pylori* infection. *N Engl J Med*. 2002 Oct 10;347:1175-86.
 15. Steer HW, Colin-Jones DG: Mucosal changes in gastric ulceration and their response to carbenexolone sodium. *Gut* 1975; 16: 590-597.
 16. Goodwin CS: *Helicobacter pylori*: 10 th anniversary of its culture in April 1982. *Gut* 1993; 34: 293-294.
 17. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, et al: Attempt to fulfill Koch's postulates for pyloric *Campylobacter* . *Med J Aust* 1985; 142: 436-439.
 18. Breuer T, Malaty HM, Graham DY: The epidemiology of H. Pylori-associated gastroduodenal diseases. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD, eds. *The immunobiology of H. Pylori: From Pathogenesis to Prevention*. Philadelphia, Lippincot-Raven, 1997, pp 1-14.
 19. Graham DY, Malaty HM, Evans DG, et al: Epidemiology of *Helicobacter pylori* in an asymptomatic population in the United States. Effect of age, race and socioeconomic status. *Gastroenterology* 1991; 100: 1495-1501.
 20. Malaty HM, Evans DG, Evans DJ Jr, et al: *Helicobacter pylori* in Hispanics: comparison with blacks and whites of similar age and socioeconomic class. *Gastroenterology* 1992; 103: 813-816.
 21. Malaty HM, Graham DY: Importance of childhood socioeconomic status on the current prevalence of *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 1994; 35: 742-745.
 22. Mobley HLT. *Helicobacter pylori* urease. In: Achtman M, Suerbaum S, eds. *Helicobacter pylori: molecular and cellular biology*. Wymondham, United Kingdom: Horizon Scientific Press, 2001:155-70.
 23. Ilver D, Arnqvist A, Ogren J, et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science* 1998;279:373-7.
 24. Montecucco C, Papini E, de Bernard M, et al. *Helicobacter pylori* Vac A vacuolating cytotoxin and HP Nap neutrophil activating protein. In: Achtman M, Suerbaum S, eds. *Helicobacter pylori: Molecular and cellular biology*. Wymondham, United Kingdom: Horizon Scientific Press, 2001:245-63.

25. Szabo I, Brutsche S, Tombola F, et al. Formation of anion-selective channels in the cell plasma membrane by the toxin Vac A of *Helicobacter pylori* is required for its biological activity. *EMBO J* 1999;18:5517-27.
26. Galmiche A, Rassow J, Doye A, et al. The N-terminal 34 kDa fragment of *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin targets mitochondria and induces cytochrome c release. *EMBO J* 2000;19:6361-70.
27. Clemens J, Albert MJ, Rao M, et al: impact of infection by *Helicobacter pylori* on the risk and severity of endemic cholera. *J Infect Dis* 1995; 171: 1653-1656.
28. Graham DY: *Helicobacter pylori* infection in the pathogenesis of duodenal ulcer and gastric cancer : a model. *Gastroenterology* 1997; 113: 1983-1991.
29. Crabtree JE: Virulence factors of *H pylori* and their effect on chemokine production. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD, eds. *The Immunobiology of H pylori: From pathogenesis to prevention*. Philadelphia, Lippincot-Raven, 1997, pp 101-112.
30. Matutes E, Morilla R, Catovsky D: Immunophenotyping, In: *Practical Haematology*, ninth edition, Lewis SM, Bain BJ, Bates I, eds; 2001: 297-338.
31. Dooley CP, Cohen H, Fitzgibbons PL, et al. Prevalence of *Helicobacter pylori* infection and histologic gastritis in asymptomatic persons. *N Engl J Med* 1989;321:1562-6.
32. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. *J Clin Pathol* 1986;39:353-65.
33. Fan X, Gunasena H, Cheng Z, et al. *Helicobacter pylori* urease binds to class II MHC on gastric epithelial cells and induces their apoptosis. *J Immunol* 2000;165:1918-24.
34. Tufano MA, Rossano F, Catalanotti P, et al. Immunobiological activities of *Helicobacter pylori* porins. *Infect Immun* 1994;62:1392-9.
35. Mai UE, Perez-Perez GI, Allen JB, Wahl SM, Blaser MJ, Smith PD. Surface proteins from *Helicobacter pylori* exhibit chemotactic activity for human leukocytes and are present in gastric mucosa. *J Exp Med* 1992;175:517-25.
36. Yamaoka Y, Kita M, Kodama T, Sawai N, Imanishi J. *Helicobacter pylori* cagA gene and expression of cytokine messenger RNA in gastric mucosa. *Gastroenterology* 1996;110:1744-52.
37. Naumann M, Wessler S, Bartsch C, et al. Activation of activator protein 1 and stress response kinases in epithelial cells colonized by *Helicobacter pylori* encoding the cag pathogenicity island. *J Biol Chem* 1999;274:31655-62.

38. Keates S, Keates AC, Warny M, Peek RM Jr, Murray PG, Kelly CP. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in AGS gastric epithelial cells by *cag*⁺ and *cag*⁻ *Helicobacter pylori*. *J Immunol* 1999;163:5552-9.
39. Perez-Perez GI, Dworkin BM, Chodos JE, Blaser MJ. *Campylobacter pylori* antibodies in humans. *Ann Intern Med.* 1988; 109:11-7.
40. Negrini R, Savio A, Appelmek BJ. Autoantibodies to gastric mucosa in *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter.* 1997;2: Suppl 1:S13-6.
41. Harris PR, Smythies LE, Smith PD, Dubois A. Inflammatory cytokine mRNA expression during early and persistent *Helicobacter pylori* infection in nonhuman primates. *J Infect Dis.* 2000;181:783-6.
42. Smythies LE, Waites KB, Lindsey JR, Harris PR, Ghiara P, Smith PD. *Helicobacter pylori*-induced mucosal inflammation is Th1 mediated and exacerbated in IL-4, but not IFN-gamma, gene-deficient mice. *J Immunol.* 2000;165:1022-9.
43. Tomita T, Jackson AM, Hida N, Hayat M, Dixon MF, Shimoyama T, Axon AT, Robinson PA, Crabtree JE. Expression of Interleukin-18, a Th1 cytokine, in human gastric mucosa is increased in *Helicobacter pylori* infection. *J Infect Dis* 2001;183: 620-7.
44. Zhang QB, Nakashabendi IM, Mokhashi MS, Dawodu JB, Gemmell CG, Russell RL. Association of cytotoxin production and neutrophil activation by strains of *Helicobacter pylori* isolated from patients with peptic ulceration and chronic gastritis. *Gut* 1996;38:841-5.
45. Rudi J, Kuck D, Strand S, von Herbay A, Mariani SM, Krammer PH, Galle PR, Stremmel W. Involvement of the CD95 (APO-1/Fas) receptor and ligand system in *Helicobacter pylori*-induced gastric epithelial apoptosis. *J Clin Invest* 1998;102:1506-14.
46. Dixon MF: *Helicobacter pylori* and peptic ulceration : histopathological aspects. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 125-130.
47. Ota H, Genta RM: Morphological characterization of the gastric mucosa during infection with *H Pylori* .In : Ernst PB, Michetti P, Smith PD, eds. *The immunobiology of H Pylori: From pathogenesis to prevention.* Philadelphia, Lippincot-Raven, 1997, pp 15-28.
48. Beşışık F: Mide ve duodenum hastalıkları. In Ed: Ökten A, Mungan Z, Çakaloğlu Y: *Gastroenterohepatoloji.* Birinci basım. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul 2001;ss:37-75.

49. Özden A: Helikobakter pylori, In Ed: Ali Özden, Burhan Şahin, Uğur Yılmaz, İrfan Soykan; Gastroenteroloji 1. basım. Türk Gastroenteroloji Vakfı, Ankara 2002: 113-126.
50. IARC Monographs on the evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Schistosomes. Liver Flukes and Helicobacter Pylori, vol 61. Lyon, France, International Agency for Research on Cancer, 1994.
51. Correa P: Helicobacter pylori and gastric cancer: state of the art. Cancer epidemiol Biomarkers Prev 1996; 5: 477-481.
52. Sorrentino D-Ferraccioli GF, De Vita S, et al: B-cell clonality and infection with Helicobacter pylori: implications for development of gastric lymphoma. Gut 1996;83:837-840.
53. Bayerdorffer E, Neubauer A, Rudolph B, Thiede C, Lehn N, Eidt S, Stolte M. Regression of primary gastric lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue type after cure of Helicobacter pylori infection. MALT Lymphoma Study Group. Lancet 1995;345:1591-4.
54. Taley NJ: Helicobacter pylori and non-ulcer dyspepsia. Scand J Gastroenterol Suppl 1996; 220:19-22.
55. Taley NJ: A critique of therapeutic trials in Helicobacter pylori – positive functional dyspepsia. Gastroenterology 1994; 106: 1174-1183.
56. Graham DY, Qureshi WA. Markers of infection. In: Mobley HLT, Mendz GL, Hazell SL, eds. Helicobacter pylori : physiology and genetics. Washington, D.C.: ASM Press,2001:499-510.
57. Klein PD, Malaty HM, Martin RF, et al: Noninvasive detection of Helicobacter pylori infection in clinical practice: the ¹³C urea breath test. Am J Gastroenrol 1996;91:690-694.
58. Hachem CY, Claridge JE, Evans DG, et al: Comparison of agar based media for primary isolation of Helicobacter pylori. J Clin Pathol 1995;43: 714-716.
59. Ota H, Genta RM: Morphological characterization of the gastric mucosa during infection with H. Pylori. In: Ernst PB, Michetti P, Smith PD,eds. The Immunobiology of H. Pylori: From pathogenesis to prevention. Philadelphia, Lippincot-Raven, 1997,15-28.
60. Genta RM, Robason Go, Graham DY: Simultaneous visualization of Helicobacter pylori and gastric morphology: a new stain.Hum Pathol 1994;25:221-226.

61. Laine L, Lewin DN, Naritoku W, Cohen H. Prospective comparison of H&E, Giemsa, and Genta stains for the diagnosis of *Helicobacter pylori*. *Gastrointest Endosc.* 1997 Jun;45:463-7.
62. Ashton-Key M, Diss TC, Isaacson PG. Detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy and resection specimens. *J Clin Pathol.* 1996 Feb;49:107-11.
63. Cutler AF: Testing for *Helicobacter pylori* in clinical practice. *Am J Med* 1996;100: 35-39.
64. Kayaalp SO: Parasempatik ilaçlar (Antimuskarinik ilaçlar), In Ed: Kayaalp SO; Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. Altıncı baskı. Feryal Matbaacılık, Ankara 1993; ss:2311-2337.
65. McCarthy DM: Peptic ulcer disease. In Ed: Grendell JH, McQuaid KR, Friedman SL: *Diagnosis and treatment in Gastroenterology.* 10 th edition, Connecticut, Appleton&Lange, 1996; pp 293-308.
66. Marshall BJ: The use of bismuth in gastroenterology. The ACG committee on FDA-Related Matters, American College of Gastroenterology. *Am J Gastroentrol* 1991,86:16-25.
67. Graham DY, Lew GM, Evans DG, et al: Effect of triple therapy (antibiotics plus bismuth) on duodenal ulcer healing. A randomized controlled trial. *Ann Intern Med* 1991; 115: 266-269.
68. Figueroa G, Portell DP, Soto V, et al: Adherence of *Helicobacter pylori* to Hep-2 cells. *J Infect* 1992;24:263-267.
69. Bazzoli F. Key points from the revised Maastricht Consensus Report: the impact on general practice. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:Suppl 2:S3-S7.
70. Graham DY: Variability in the outcome of treatment of *Helicobacter pylori* infection: a critical analysis. In: Hunt RH, Tytgat GNJ, eds. *Helicobacter pylori Basic Mechanisms to clinical cure* 1998. Dordrecht, Netherlands, Kluwer Academic Publisher, 1998.
71. Fan XJ, Chua A, Shahi CN, McDevitt J, Keeling PW, Kelleher D: Gastric T lymphocyte responses to *Helicobacter pylori* in patients with H. Pylori colonisation. *Gut* 1994;35:1379-84.
72. Hatz RA, Meimarakis G, Bayerdorffer E, Stolte M, Kirchner T, Enders G. Characterization of lymphocytic infiltrates in *Helicobacter pylori*-associated gastritis. *Scand J Gastroenterol.* 1996 Mar;31: 222-8.

73. Yamaoka Y, Kodama T, Kita M, Imanishi J, Kashima K, Graham DY: Relation between cytokines and *Helicobacter pylori* in gastric cancer. *Helicobacter*. 2001 Jun; 6:116-24.
74. Holck S, Norgaard A, Bennedsen M, Permin H, Norn S, Andersen LP: Gastric mucosal cytokine responses in *Helicobacter pylori*-infected patients with gastritis and peptic ulcers. Association with inflammatory parameters and bacteria load. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2003 May 25;36:175-80.
75. Tamaoki J: The effects of macrolides on inflammatory cells. *Chest*. 2004 Feb;125:41S-50S; quiz 51S.