

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HELİCOBACTER PYLORİ ENFEKSİYONUNUN SERUM VE MİDE
SIVISI NİTRAT, NİTRİT VE NİTROSAMİN SEVİYELERİNE ETKİSİ**

Dr. Şevval TIKANAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selim AYDEMİR

ZONGULDAK

2014

T.C.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**HELİCOBACTER PYLORİ ENFEKSİYONUNUN SERUM VE MİDE
SIVISI NİTRAT, NİTRİT VE NİTROSAMİN SEVİYELERİNE ETKİSİ**

Dr. Şevval TIKANAK

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Selim AYDEMİR

ZONGULDAK

2014

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Helicobacter Pylori Enfeksiyonunun Serum ve Mide Sıvısı Nitrat, Nitrit ve Nitrosamin Seviyelerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Şevval TIKANAK

Tez Savunma Tarihi: 07/01/2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Selim AYDEMİR

Prof. Dr. Hüseyin ENGİN
Jüri Başkanı

Prof. Dr. Selim AYDEMİR
Üye

Yrd. Doç. Dr. Sevil UYGUN İLİKHAN
Üye

UYGUNDUR
06/03/2014

Prof. Dr. Selçuk KESER



ÖNSÖZ

İç hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve birikimleriyle yetişmeme katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Hüseyin ENGİN olmak üzere tüm hocalarıma ve tez çalışmamın her aşamasında sonsuz katkılarıyla bana destek olan tez danışmanım değerli hocam Prof. Dr. Selim AYDEMİR'e ve tez çalışmamın çeşitli aşamalarında benden yardımlarını esirgemeyen hocam Yrd. Doç. Dr. Şevket ATA'ya ve değerli ablalarım Uzm. Dr. Ferda HARMANDAR ve Uzm. Dr. Dilek Malkoç'a teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitimim boyunca birlikte çalışma mutluluğuna eriştiğim tüm asistan ve uzman doktor arkadaşlarıma, kliniğimizde beraber çalıştığımız tüm hemşire ve sağlık personeline özellikle gastroenteroloji endoskopi ünitesi çalışanlarına teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana her zaman değer ve destek veren, her zaman yanımda hissettiğim anneme, babama ve kardeşlerime teşekkür ederim.

Hayatımın her anında uzakta olmamıza rağmen desteği ve varlığı ile beni hayata bağlayan sevgili eşim Yavuz'a teşekkürler...

Dr. Şevval TIKANAK
ZONGULDAK, 2014

ÖZET

Tıkanak Ş. Helicobacter Pylori Enfeksiyonunun Serum ve Mide Sıvısı Nitrat, Nitrit ve Nitrosamin Seviyelerine Etkisi. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Uzmanlık Tezi, Zonguldak, 2014.

Helicobacter pylori (H. pylori) mide kanseri etyolojisinde suçlanan önemli faktörlerden biridir. Nitrosaminlerin gastrointestinal sistemde kanserojen etkisi ve mide kanseri patogeneziindeki rolü bilinmektedir. Çalışmamızda H. pylori pozitif olarak saptanan olgularda H. pylori eradikasyon tedavisinin serum ve mide sıvısında nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerine etkisi araştırılmıştır. Üst gastrointestinal sistem endoskopik incelemesi sırasında alınan mide biyopsi örneklerinde H. pylori pozitif olan 38 olgu çalışmaya alındı. Endoskopi işlemi öncesinde serum örnekleri, endoskopi işlemi esnasında mide ve antrumdan biyopsiler yapıldı. Olgulara 14 gün lansoprazol, klaritromisin ve amoksisilinden oluşan H. pylori eradikasyon tedavisi verildi. İki ay sonra kontrol endoskopileri yapılarak serum, mide sıvısı ve mide biyopsi örnekleri alındı. Tüm olgularda H. pylori eradikasyon tedavi öncesi ve tedavi sonrası alınan mide biyopsi örnekleri histopatolojik olarak Sydney klasifikasyonuna göre H. pylori yoğunluğu, inflamasyon, aktivasyon, metaplazi ve atrofi derecesi skorlandı. Çalışmamızda H. pylori eradikasyon tedavi öncesi ve sonrası mide sıvısında ve serumda nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerine bakıldı. H. pylori eradikasyon tedavi sonrasında serum ve mide sıvısında nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeylerinde anlamlı düşüş saptandı. H. pylori eradikasyon tedavisi sonrası histopatolojik olarak inflamasyon, aktivasyon ve H. pylori yoğunluğundaki azalma ile mide sıvısı ve serumdaki nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerinin arasında anlamlı pozitif yönlü korelasyon saptanmıştır. Sonuç olarak bu çalışma ile H. pylori tedavisinin mide kanseri etyolojisinde suçlanan nitrat bileşiklerini azaltarak mide kanseri riskini azaltabileceği gösterilmiştir.

Anahtar kelimeler: Helicobacter pylori (H. pylori), nitrat, nitrit, nitrosamin

ABSTRACT

Tıkanak S. The Effect of Helicobacter Pylori Infection Gastric Fluid and Serum Nitrate, Nitrite and Nitrosamine Levels, Bülent Ecevit University Faculty of Medicine, Department of Internal Medicine Thesis, Zonguldak, 2014.

Helicobacter pylori (H. pylori) is one of the key factors in the etiology of gastric cancer. The carcinogenic effects of nitrosamines in the gastrointestinal tract and the role of pathogenesis of gastric cancer is known. In our study, H. pylori positive cases serum and gastric fluid nitrate, nitrite and nitrosamine levels were investigated after H. pylori eradication therapy. Helicobacter pylori positive 38 cases which taken gastric biopsy specimens during the upper gastrointestinal endoscopic examination were included in the study. Serum samples were collected prior to the endoscopy of the cases and after receiving gastric fluid during endoscopy antral biopsies were performed. For 38 patients Clarithromycin, amoxicillin, lansoprazole including eradication therapy was given for 14 days. Control endoscopy of the case's was performed 2 months later. In all cases, gastric biopsy samples taken before and after H. pylori eradication therapy were scored according to the histopathological classifications Sydney; H. pylori density, inflammation, activation, metaplasia and atrophy. In our study; nitrate, nitrite and nitrosamine levels were measured in serum and gastric juice, before and after eradication therapy. Also pH was measured in gastric juice. According to the Sydney classifications H. pylori density, inflammation and activation showed significant reduction after H. pylori eradication treatment. Serum and gastric juice, nitrate, nitrite and nitrosamine levels were significantly decreased after H pylori eradication treatment. As a result, treatment of H. pylori that could be decreased stomach cancer risk while diminishing compounds of nitrate which are accused of gastric cancer etiology was shown trough this study.

Key words: Helicobacter pylori (H. pylori), nitrates, nitrites, nitrosamines

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ.....	ii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	viii
TABLO DİZİNİ.....	ix
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Tarihçe.....	3
2.2. Mikrobiyoloji.....	3
2.3. Epidemiyolojik Özellikler.....	4
2.4. Patogenez.....	6
2.4.1. Bakteriye Ait Faktörler.....	7
2.4.2. Konağa Ait Faktörler.....	9
2.5. Tanı.....	9
2.5.1. İnvaziv Testler.....	9
2.5.2. Non-invaziv Testler.....	11
2.6. Tedavi.....	13
2.6.1. Tedavi Şemaları.....	14
2.7. Helicobacter Pylori ve Mide Maligniteleri.....	15
2.8. Nitrat ve Nitrit.....	17
2.8.1. Nitrat ve Nitritin Oluşumu.....	18
2.8.2. Nitrat ve Nitritin Çevre ve İnsan Sağlığına Etkileri.....	18
2.8.3. Nitrat ve Nitritin Analiz Yöntemleri.....	19
2.9. Nitrosaminler.....	20
2.9.1. Nitrosaminlerin Çevre ve İnsan Sağlığına Etkileri.....	22
2.9.2. Nitrosaminlerin Analiz Yöntemleri.....	25

3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1. İstatistiksel Analiz	28
4. BULGULAR	30
5. TARTIŞMA.....	36
6. KAYNAKLAR.....	43
7. EKLER	68
Ek 1: Etik Kurul Onayı.....	68

SİMGELER VE KISALTMALAR

Cag	: Cytotoxin associated gene
Cag-PAI	: Cytotoxin associated gene Pathogenicity Island
CLO	: Campylobacter Like Organism Test
COX	: Siklooksijenaz
GC-MS	: Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri
HPLC	: High performance liquid chromatography
H. Pylori	: Helicobacter pylori
İM	: İntestinal metaplazi
IceA geni	: İnducible by contact with epithelium gene
IL	: İnterlökin
LPS	: Lipopolisakkarit
MALT	: Mucosa Associated Lymphoma Tissue
MHC-II	: Sınıf 2 major histokompatibilite kompleksi
NADPH	: Redükte nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NAs	: Nitrosamin
NDMA	: Nitrosodimetilamin
O₂	: Oksijen
pH	: Power of Hydrogen
PPI	: Proton Pompa İnhibitörü
RNA	: Ribonükleikasit
T.C.	: Türkiye Cumhuriyeti
TGF-α	: Transforme edici büyüme faktörü
TNF	: Tümör nekrozis faktör
Vac A	: Vacuolating Cytotoxin
VEGF	: Vasküler endotelial büyüme faktörü
VKİ	: Vücut kitle indeksi

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
Tablo 1: Sydney sistemine göre gastritlerin histopatolojik skorlanması	28
Tablo 2: Çalışmaya alınan olguların demografik özellikleri.....	30
Tablo 3: Sigara içen ve içmeyen olgulardaki mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin konsantrasyonları arasındaki farklılıklar	31
Tablo 4: Yaş, VKİ değişimi ve sigara kullanımı ile mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi korelasyonu.....	32
Tablo 5: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası Sydney Klasifikasyon sonuçları	32
Tablo 6: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerleri	33
Tablo 7: Tedavi sonrası aktivasyon, inflamasyon ve H. pylori yoğunluğundaki değişim ile mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerindeki değişimin korelasyonu	34
Tablo 8: Tedavi sonrası mide sıvısı pH değişimi ile mide sıvısı ve serumdaki nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi arasında korelasyonu.....	35

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori (*H. pylori*) enfeksiyonu dünyada en sık görülen kronik gastrointestinal sistem (GİS) enfeksiyonudur (1). *Helicobacter pylori*'nin ilişkili olduğu üst GİS hastalıkları arasında akut ve kronik gastrit, peptik ülser hastalığı, ülser dışı dispepsi, mide adenokanserleri ve Mucosa Associated Lymphoid Tissue (MALT) lenfoma yer almaktadır (2-5). Ayrıca demir eksikliği anemisi, immun trombositopenik purpura, ateroskleroz, çocuklarda büyüme geriliği, diyabet gibi hastalıklarla da ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (6-8). Enfekte bireylerde, enfeksiyonun alındığı yaş, süre ve immün cevap farklılığı ile *H. pylori*'nin genetik heterojenitesine bağlı olarak klinik bulgular farklılık göstermektedir (9).

Ülkemizde sağlıklı erişkinlerde yapılan seroprevalans çalışmalarında *H. pylori* pozitifliği %85.8 bulunmuştur (10). Türkiye'de 1995-1996 T.C. Sağlık Bakanlığı verilerinde mide kanseri görülme sıklığı erkeklerde tüm kanserler içinde beşinci sırada (yıllık insidans 100.000'de 8.5), kadınlarda ise yedinci sırada (insidansı 100.000'de 3.6) bildirilmiştir.

Dünya genelinde kansere bağlı ölüm nedenleri içerisinde mide kanseri ikinci sıradadır (11). Mide kanseri etyolojisinde *H. pylori* suçlanan önemli faktörlerden biridir. Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 1994 yılında *H. pylori*'yi mide kanseri için class 1 kanserojen olarak kabul etmiştir (12).

Helicobacter pylori'nin mide kanseri etyopatogenezindeki rolü ile ilgili pek çok faktör ileri sürülmüştür. Nitrosaminler de mide kanseri etyopatogenezinde suçlanan önemli faktörlerden biridir.

Nitratlar en çok tütülenmiş ette, içme suyunda ve sebzelerde bulunmaktadır. Besinlerimizin alışılmış bir bileşeni olan nitrat ve nitritler, %40-70 oranında endojen sentezlenmektedir. Vücuttaki endojen nitrit ve nitratın en önemli kaynağı nitrik oksit sentaz (NOS) enzimi etkisiyle L-arjininden sentezlenen nitrik oksittir. *Helicobacter pylori*'nin in vivo ve in vitro koşullarda doku nötrofilleri (PMN'ler) ve mononükleer hücrelerde indüklenebilir tipte nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu arttırdığına dair veriler bulunmaktadır. *Helicobacter pylori* enfeksiyonuna bağlı midede ortaya çıkan kronik inflamasyonun serum ve mide sıvısı nitrat ve nitrit düzeylerini arttırabileceği ileri sürülmektedir (13,14).

Besinler ile aldığımız nitratin büyük bir kısmı dışkı yoluyla dışarı atılmakla birlikte bir kısmı ise tükürük bezlerine taşınarak ağızda salgılanmaktadır. Salgılanan nitrat, dilin en arka kısmında bulunan bakteriler tarafından da nitrite dönüştürülmektedir. Özellikle yüksek pH ortamında nitrit midede çeşitli aminoasit, amin ve amidler ile reaksiyona girerek nitrosamin ve nitrosamidlere dönüşür. Bu N-nitroso bileşiklerinin mide kanser ile ilişkisini gösteren çalışmalar vardır (14,15).

Yapılan çalışmalarda mide sıvısında ve serumda nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyeleri H. pylori pozitif ve negatif olgularda karşılaştırılmış olsa da biz nitrosamin prekürsörü olan nitrat ve nitrit seviyeleri ile nitrosamin miktarını hem serum hem de mide sıvısında H. pylori eradikasyon tedavisi ile değişimleri incelenmiştir.

Ayrıca çalışmamızda yüksek ayırma gücüne sahip olması, yapıları tanımlanmasında üstünlüğü ve hassas analizlere uygun olması sebebiyle nitrat ve nitrit seviyeleri için Gaz Kromatografi-Kütle Spektrometri (GC-MS) ve Yüksek Basınç Sıvı Kromatografi-Floresans (HPLC-FL), nitrosaminlerin analizinde ise GC-MS yöntemi kullanılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Tarihçe

Mide mukozasında spiral bakterilerin varlığı ilk kez 1874 yılında mide ülserli bir hastada G. Bottcher ve M. Letulle tarafından fark edilmiştir. 1924 yılında Luch ve Seth, midede kaynağını bilmedikleri üreaz aktivitesi olduğunu göstermişlerdir. 1955 yılında ise Komberg ve Davies, bu enzimatik aktivitenin bakteriyel kaynaklı olabileceğini düşünmekle beraber bakteriyi izole edememişlerdir. Marshall ve Warren ise 1983 yılında Noel tatili nedeniyle unuttukları kültür vasatında iş başı yaptıklarında yuvarlak, üzerleri düzgün, şeffaf koloniler oluşturan bakteriyel çoğalma saptadılar ve benzerliği nedeni ile *Campylobacter pylori* olarak tanımlamışlardır. 1989 yılında Goodwin ve Arkadaşları bakterinin *Campylobacter* genusuna sahip olmadığını göstererek helikal görüntüsü nedeni ile ve en sık olarak midenin pilor bölgesinden izole edildiği için "*Helicobacter pylori*" olarak tanımlamışlardır (16).

2.2. Mikrobiyoloji

Helicobacter pylori; unipolar, dört-altı adet kamçılı, gram negatif, spiral şekilli mikroorganizmadır. Mikroaerofilik olan bakteri, 37⁰C' de %5 oksijen ve %5-10 karbondioksit içeren çok nemli ortamlarda ancak 5-7 günde ürer. Oda sıcaklığında ise canlılığını hızla kaybeder, +4⁰C' de 2 gün , -70⁰C' de uzun süre canlı kalabilir. Besi yerinde düzgün, pigmentsiz, 0,5 mm çapında koloniler oluşturan, üreaz, katalaz ve oksidaz aktivitesi gösteren gram negatif bakteriler, *H. pylori* olarak tanımlanır. Bakteri için ortamın uygun pH aralığı oldukça geniş olmakla birlikte (5.5-8.5), en iyi üreme pH 6.9-8.0 aralığında gerçekleşir.

Bakteri en çok antral mukozada kolonize olmakla birlikte, ektopik mide mukozasının bulunduğu duodenumda, meckel divertikülünde ve ayrıca diş plaklarında, kanda ve aterosklerotik plaklarda da bulunabilir (17). Bakterinin mukozada kolonize olmasına, salgıladığı üreaz ve mukolitik proteazlar gibi enzimler yardımcı olur. Bu enzimlerden en çok bilineni ve tanıda kullanılanı üreaz

aktivitesidir (18). Üreaz aktivitesi ile oluşan amonyak, ortamın pH' ını yükselterek, bakteriyi mide asit peptik aktiviteye karşı korur. Bakteri, genellikle mide epiteli ile mukus tabakası arasında yerleşir, mide hücre invazyonu söz konusu değildir. Esas olarak antrumda lokalize olan bakteri zamanla midenin proksimal bölgelerine doğru yayılabilir. Yüksek düzeyde üreaz aktivitesine sahip olan H. pylori ayrıca katalaz, alkalin fosfataz, sitokrom oksidaz, asit fosfataz, lösin arilamilaz, naftol-AB-B1-fosfataz, esteraz C4, esteraz C8 ve gama glutamil transpeptidaz enzim aktivitesine sahiptir (19,20). Bunun yanı sıra organizmanın kokoid şekle dönme yeteneği uygun olmayan koşullarda yaşamını devam ettirmesini sağlar.

Diğer gram negatif bakterilerde görülmeyen, sadece H. pylori' ye özgü Lewis x ve y antijenleri eksprese eden Lipopolisakkarit (LPS) tabakasına sahiptir. Diğer gram negatif bakterilerinkinden daha az toksik olan H. pylori LPS tabakası, enfeksiyonun klirensine yetecek ölçüde immün yanıt oluşumunu engeller. Lipopolisakkaritlerin ve Lewis determinantlarının H. pylori' nin yol açtığı hastalıkların patogenezinin etkisi, mide epiteline adezyonu ve kolonizasyonu kolaylaştırması, konak inflamatuvar cevabını azaltması ile ilgili olarak çok yönlü olabilir (21).

2.3. Epidemiyolojik Özellikler

Helicobacter pylori enfeksiyonları genellikle çocukluk döneminde aile içi "anneden bebeğe" bulaş yoluyla kazanılmaktadır. Enfekte annelerin çocuklarında, enfekte olmayanlara göre beş kat daha fazla H. pylori enfeksiyonu görülmüştür. Helicobacter pylori enfeksiyonları sıklıkla çocukluk döneminde kazanılır ve birden fazla suş bu dönemde midede kolonize olabilir. Ancak suşların çoğu spontan olarak eradike edilirken, mide mukozasına ve konağın immün sistemine uyum sağlayan bir genotip konakta kalıcı kolonizasyon gösterebilir (22).

Tek konağı insan olan H. pylori, insandan-insana tükürük ve dışkı ile direkt temas veya bunlarla kirletilmiş gıda ve suyun yanı sıra, endoskoplara gibi medikal cihazlarla da bulaşabilmektedir. Diş taşlarındaki inatçı kolonizasyonlar endojen enfeksiyonların sebebi olabilir (23).

Eşler arasında cinsel ilişki ile geçtiğine dair kanıt yoktur (24). Aile içi bulaşma özellikle çocuklar ile olmaktadır. *Helicobacter pylori*'nin sularda canlılığını koruyabilmesi ve kanalizasyon atıklarında özgül nükleik asitlerinin saptanması suyun bulaşmadaki rolünü kanıtlamaktadır (25). Fakat etken sudan izole edilememiştir. Ev içi bulaşı incelemek üzere enfekte asemptomatik veya semptomatik erişkinlerin eşlerinde ve çocuklarında yapılan araştırmalarda kontrol gruplarına oranla riskin yaklaşık 7–10 kat arttığı saptanmıştır (26). Sonuç olarak epidemiyolojik veriler en önemli faktörün sosyoekonomik koşullar ve çocukluk çağında enfeksiyonun alınması üzerinde yoğunlaşmıştır.

Günümüzde dünya nüfusunun %50' den fazlasının *H. pylori* ile enfekte olduğu düşünülmektedir. Gelişmiş ülkelerde prevalans %5-10' larda iken, az gelişmiş ya da gelişmekte olan ülkelerde %70-90, hatta bazı yaş gruplarında %100' e ulaşmaktadır (20, 22,26). Önemli bir fark olarak, gelişmekte olan ülkelerde çocukluk çağı yaş grubunda *H. pylori* enfeksiyonu insidansı yüksektir. Gelişmiş ülkelerde ise çocukluk çağında *H. pylori* prevalansı düşüktür ve yaş ilerledikçe prevalans artmaktadır. Yine de bu ülkelerde pik düzey %50' yi pek aşmamaktadır (27).

Türkiye *H. pylori* sıklığı yönünden gelişmekte olan ülkelere benzer bir görünüm sergilemektedir. Ancak bölgesel çalışmalar bunu gösterse de Türkiye genelinde *H. pylori* sıklığı tam olarak bilinmemektedir. Ülkemizde *H. pylori*'ye yönelik epidemiyolojik çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bunun nedenleri, çalışma yöntemlerinin farklı olması ve ülkemizde *H. pylori* prevalansının bölgelere göre ve zamanla değişiyor olmasıdır. Bu konuda daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır. Ülkemizde *H. pylori*'nin erişkinlerdeki prevalansını araştıran en kapsamlı çalışma 2003 yılında yapılan Türkiye *Helicobacter Pylori* Prevalans Araştırması (TURHEP) çalışmasıdır. Bu çalışmada Türkiye'nin genelini temsil eden 2504 hane halkı araştırma için örneklem grubu olarak seçilmiş ve bunların %92' sine ulaşılmıştır. Bu hanelerde yaşayan 18 yaş üstü 5555 kişi çalışmaya uygun bulunmuş ve bunların %99,9' u (n= 5549) çalışmayı tamamlamıştır. Bu çalışmada, 18 yaş üstü erişkinlerde, C13 üre nefes testi kullanılarak saptanan *H. pylori* prevalansı %82.5' tir. Prevalans erkeklerde %84, kadınlarda %81 olarak bulunmuştur. Prevalansın en yüksek olarak

bulunduğu yaş grubu 30-39 (%86), en düşük bulunduğu yaş grubu ise 70 yaşın üzeri (%77) olmuştur. Bölgelere göre bakıldığında ise H. pylori prevalansı, Doğu Anadolu bölgesinde yaşayanlarda en yüksek (%88), Güneydoğu Anadolu bölgesinde yaşayanlarda ise en düşük (%79) oranda görülmüştür. Ülkemizde asemptomatik erişkinlerde ELISA yöntemiyle serum anti-Hp IgG bakılan çalışma H. pylori prevalansı %53-82 arasında değişmektedir. Helicobacter pylori varlığının seçilmiş hasta gruplarında invaziv yöntemlerle araştırıldığı çalışmada ise %41-96 arasında bildirilmektedir (28).

Özden ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada ülkemizde; H. pylori pozitifliği; 7-12 yaş grubu %79, 13-18 yaş grubunda %83, 19-24 yaş grubunda %75, 25-29 yaş grubunda %96, 30-34 yaş grubunda %91, 35-39 yaş grubunda %83, 40-65 yaş grubunda ise %94 oranında saptanmıştır (29).

2.4. Patogenez

Helicobacter pylori patogeneziyle ilgili çok sayıda spekülasyon bulunmakla birlikte, bakteriye ait güçlü antijenik özelliğe sahip toksin, enzim ve yapısal elemanların yarattığı immünpatolojik yolak geniş olarak çalışılmış ve kesin olarak midedeki doku hasarıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca H. pylori enfeksiyonu esnasında mide pH'sı 4.5' e kadar yükselmektedir. Yüksek pH midede adi bakteriler ve metabolitlerin artışına izin vermektedir. Bu metabolitler içerisinde nitrat ve nitritlerin bulunması, çeşitli gıdalar veya ilaçlarla alınan aminlerin ve amidlerin bu nitratlarla birleşerek karsinojen nitroso aminlerin ve nitrik oksit radikalleri gibi N-nitroso bileşiklerini oluşturmaları, doku hasarı riskini artırmaktadır.

Kronik inflamasyonda yer alan polimorfonükleer lökositler, lenfositler ve makrofajların yarattığı oksijen ve nitrik oksit radikalleri de mukozal hücrelerde neoplastik transformasyonu tetikleyebilmektedir.

Helicobacter pylori ile infekte bireylerde mukozal askorbik asit miktarı düşmekte ve lipid peroksidasyonu artmaktadır ve bu da karsinogenezi tetiklemektedir.

Sonuç olarak *H. pylori* ile kolonize kişilerde kronik aktif gastritle başlayan ve olguların %2-4' ünde 10 yıllık bir süre içerisinde mukozal hücrelerdeki hasara bağlı olarak difüz veya intestinal tip adenokansere kadar giden neoplastik değişimler ortaya çıkmaktadır. *Helicobacter pylori* pozitif kişilerde mide kanseri gelişme riski, negatif olgulara göre 20 kat fazla bulunmuştur. Günümüzde *H. pylori* ile ilgili çalışmalarla gastroduodenal patolojinin gelişimini etkileyen bakteri ve konağa ait faktörler önemli ölçüde açıklanmıştır (30).

2.4.1. Bakteriye Ait Faktörler

Helicobacter pylori, mide epitel hücrelerinin yüzeyindeki sınıf 2 major histokompatibilite kompleksi (MHC-II) moleküllerine bağlanır. *Helicobacter pylori*'nin virulansını belirleyen; bakterinin gastrointestinal mukozada kolonize olmasını sağlayan ve burada varlığını sürdürmesine yardımcı olan faktörlerdir (31). Mikroorganizmanın midenin asit ortamına uyum sağlamasında rol alan üreaz aktivitesi, mukus içerisinde hareketi sağlayan flagellar yapısı, mide hücrelere adezyonu kolaylaştıran adezyon molekülleri, mukus tabakasını incelten müsinaz ve fosfolipaz A2 ve C, serbest radikallere karşı bakteriyi koruyan oksidaz, katalaz ve süperoksid dismutaz enzimleri, demir bağlayan proteinler, konak immün sisteminden kaçışı sağlayan özel lipopolisakkarid yapısı ve konak hücre antijenleriyle homoloji gösteren Hsp ve diğer antijenik yapılar ve en önemlisi konakta inflamatuvar yanıtı başlatan, vakuolizasyonu düzenleyen efektör proteinler bakterinin virülansında rol oynamaktadır (32).

Cytotoxin associated gene (*Cag*) patojenik ada (*cagPI*) genleri: 120-140 kDa ağırlığında bir protein kodlamakta olup ilişkili genlerle birlikte *cag* patojenite adacığı (PI) olarak adlandırılır (32,33). *Helicobacter pylori* suşlarının yaklaşık % 60-70' inde bulunur (34). Doğu Asya ülkelerinde izole edilen *H. pylori* suşlarının % 90-95' i *CagA* pozitif iken Avrupa, Amerika ve Avustralya' da bu oran % 40 civarındadır (35).

Bu gen adası diğer bakterilerde olduğu gibi virülans ve ortama adaptasyonla ilgili proteinleri ve özellikle de Tip IV sekresyon sisteminde rol alan agresif proteinleri kodlar. *CagPI* taşıyan suşlar tip I suşlar olarak tanımlanır ve bu

suşlar ülser ve mide kanserleri gibi ciddi klinik tablolarla ilişkilendirilir. CagPI taşımayan suşlar ise tip II suşlar olarak tanımlanıp, daha çok nonülser dispepsi gibi benign gastrointestinal rahatsızlığı olan hastalardan izole edilmektedir (36,37). Hücre içi sinyal mekanizmasını bozarak hem direkt hem de indirekt olarak karsinogeneze katkıda bulunur (38). IL-8 indüksiyonu, nötrofil kemotaksisi ve tirozin fosforilasyonu için eksiksiz CagPI taşıyan H. pylori gereklidir (39).

VacA: VacA H. pylori' nin majör virülans faktörlerinden birisi olan ve memeli hücrelerinde vakuolizasyona sebep olan 87-93 kDa ağırlığında VacA proteinini kodlar. Helicobacter pylori suşlarında iki genetik element birbirleriyle kesinlikle bağlantılı olmasa da VacA genellikle CagA ile birlikte Tip I suşlarında aktif olarak üretilir. Klinik izolatlarda yapılan çalışmalarda vacAsI/mI-CagA pozitif suşlar, peptik suşlar, peptik ülser ve mide adenokarsinoma ile ilişkili bulunmuşlardır. VacA m2 alleleline sahip suşların da MALT lenfomalı olgularda predominant alt tip olduğu ileri sürülmüştür (40).

VacA geni, epitel hücrelerinde vakuoller oluşturan ve nekroza neden olan VacA toksini salgılar. Toksin hücre zarı ile bakteri arasında, voltaj bağımlı, anyon seçici bir kanal oluşturur. Mitokondriyi de hedef alarak sitokrom C' nin sitoplazmaya dağılmasına ve ikincil olarak da apoptozise neden olur (41).

İnducible by contact with epithelium gene (IceA geni): Ice A, mide epitel hücresiyle temas sonrası uyarılan bir genidir. Amerika ve Hollanda gibi batı toplumlarından izole edilen suşlarda iceAI varlığı, peptik ülser ve mide kanseri için önemli risk faktörü olarak görülürken, Japonya, Çin, Kore, Kolombiya ve Teksas' ta yapılan çalışmalarda böyle bir ilişki kurulamamıştır (42).

BabA ve BabB genleri: Bu proteinler sayesinde bakteri mide peristaltizmi ve ortamın asidine karşı korunur. Lewis b' ye bağlanmada daha etkin olduğu düşünülen BabA aynı zamanda flagellindir (43).

HrgA geni: Asya' da mide adenokanserli olgularda hrgA geninin gastritli olgulardan izole edilen suşlara oranla daha yüksek prevalansta olduğu tespit edilmiştir. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile tespit edilebilen bu genin yeni bir virülans göstergesi olabileceği tartışmaya açılmıştır (44).

2.4.2. Konağa Ait Faktörler

Helicobacter pylori enfeksiyonlarının insidansı ve prognozunda olguya ait yaş, cinsiyet, sigara kullanımı, genetik yatkınlık, eğitim düzeyi ve aile yapısı gibi faktörlerin etkisi epidemiyolojik çalışmalarla gösterilmiştir. Örneğin; ailede mide kanseri öyküsünün varlığı *H. pylori* ile birlikte mide kanseri riskini artırmaktadır. Ancak çoğu gözleme dayalı bu ve benzer tespitlerin moleküler düzeyde izaha ihtiyacı vardır (45).

2.5. Tanı

1983 yılında tesadüfen bulunan bir bakteri olan *H. pylori*, gastroenteroloji alanında dramatik değişikliklere yol açtı. Tanıda invaziv teknikler (histoloji, kültür ve hızlı üreaz testi için endoskopik biyopsi) ve non-invaziv teknikler (seroloji, üre nefes testi, dışkı antijen testi) kullanılmaktadır (46,47).

2.5.1. İnvaziv Testler

2.5.1.1. Histopatoloji

Endoskopi esnasında alınan antrum ve korpus doku örnekleri, formalinde fikse edilir. Haematoxylin-Eosin, Giminer, Warthin-Starry veya Giemsa ile boyanır. Tecrübeli patologların elinde histopatoloji altın standarttır. *Helicobacter pylori*'yi göstermede sensitivite ve spesivitesi %90' dan fazladır. Histopatoloji aynı zamanda gastrit şiddetini, metaplazi ve displaziyi de ortaya koyar (48). Mortalitesi %0.008 ve morbiditesi %0.432 dir.

Avrupa *Helicobacter* Çalışma Grubu, < 45-50 yaş arası, alarm semptomları olmadan dispepsisi olanlara, gastroözofageal semptomları (yanma, regürjitasyon) olanlara, nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanmayanlara üre nefes testi veya gaita antijen testi gibi noninvaziv testlerin yapılması önermektedir. < 45-50 yaş arası olup, alarm semptomları olanlar ve bu yaş aralığının üzerinde olanlara alarm semptom varlığına bakılmaksızın endoskopi önerilmektedir (49,50).

2.5.1.2. Bakteri kültürü

Helicobacter pylori mikroaerofilik bir bakteridir. *Helicobacter pylori* 37 °C' de, %10 CO₂, %5 O₂ varlığında optimal ürer. Kanlı zengin besiyerinde düzgün, pigmentsiz, 0,5 mm çapında koloniler oluşturur. Kültürde başarılı olmak için biyopsi materyalinin hemen kanlı zengin besi yerine ekilmesi gerekir. Şayet hemen ekim yapılamayacaksa Brucella broth, Nutrient broth, Beyin-kalp infüzyon broth gibi taşıma besiyerlerinden birinde biyopsi materyali tutulmalıdır. Transport ortamı olarak steril salin veya %10' luk glukoz da kullanılabilir. Böylece oda ısısında veya 5°C' de 5-6 saat saklanabilir. Brucella broth/glycerol vasatında 4°C' de bir hafta, -20°C' de dört hafta, -70°C' de sınırsız süre saklanabilir.

Helicobacter pylori için kullanılan birçok besiyeri vardır. Bunlar; Brucella agar, Mueller-Hinton ve Trypticase soya beyin-kalp infüzyon bazal besiyerine %7-20 taze kan ilave edilerek hazırlanan vasatlardır. Besiyerinde diğer bakterilerin üremesine mani olmak için besiyeri hazırlanırken vankomisin, trimetoprim, kolistin, polimiksin B ilave edilir. Mantar üremesini önlemek için de amfoterisin B eklenir. Besiyerinde 2-3 günde *H. pylori* görülmeye başlar, bazen 6-7 hatta 10 güne kadar görülmeyebilir. Koloniler genellikle küçüktür ayrıca transparant, grimsi renktedir. Kültürde üreyen *H. pylori* basil görünümünde ya da kıvrık sirküler şekildedir. Üretilen *H. pylori* üreaz, katalaz, oksidaz pozitifdir. Uzmanlaşmış laboratuvarlarda üretilebilme başarısı %90' ın üzerindedir. *Helicobacter pylori* üretilirse, kültür tanı için altın standarttır. *Helicobacter pylori* *in vivo* ve *in vitro* oldukça yavaş üreyen bir bakteridir (50,51).

2.5.1.3. Hızlı üreaz testi

Helicobacter pylori çok fazla miktarda üreaz enzimi üreten bir bakteri olup, bakterinin bu özelliğinden yararlanılarak geliştirilen hızlı üreaz testi endoskopi ünitesinde uygulanabilen ve biyopsi materyalinde bakteri varlığı hakkında bilgi veren, tekrarlanabilir ve ucuz bir testtir. İnvazif testler arasında en basit ve ucuz testlerden biri olup, sağladığı en önemli avantaj ise birkaç saat hatta dakika içinde sonuç verebilmesidir. Testin ilk bir saat içinde pozitif sonuç vermesi *H. pylori* için

özgün olmakla beraber, testin 24 saat içinde pozitifleşmesi üreaz üreten diğer bakterilerin kontaminasyonuna sekonder olabileceğinden testin özgüllüğünü azaltmaktadır. En yaygın kullanılan CLO test' te (hızlı üreaz testi) ürenin üreaz enzimi ile hidrolizi sonucu açığa çıkan amonyağın meydana getirdiği pH değişikliğinin belirlenmesinde fenol kırmızısı indikatör olarak kullanılmaktadır. Test kitinde üre agar jelin içinde fenol kırmızısından başka bakteriyostatik bir ajan kullanımı yanlış pozitif cevapları önlemeyi hedeflemektedir. Testin pozitif sonuç verebilmesi için kullanılan biyopsi materyalindeki bakteri sayısı önemli olduğundan, dokudaki bakteri sayısının az olduğu durumlarda yanlış negatif sonuç alınabilmektedir. Hızlı üreaz testinin duyarlılığı %80-95 arasında değişmekte olup, özgüllüğü %95' lere kadar varmaktadır (52).

2.5.1.4. Moleküler testler

Son yıllarda moleküler biyolojik tanı yöntemleri H. pylori biyolojisi, enfeksiyonlarının tanısı, spesifik virülans faktörlerinin tayini, konakta ortaya çıkan yanıtın genetik temeli, antibiyotik direncinin belirlenmesi, eradikasyon tedavisinden sonraki tekrarlayan enfeksiyonların tespit edilmesi ve kültürde üretilmeyen kokoid formların tanımlanması gibi amaçlar için yoğun olarak kullanılmıştır (53).

2.5.2. Non-invaziv Testler

2.5.2.1. Seroloji

Helicobacter pyloriye karşı oluşan spesifik Ig G antikorların saptanması esasına dayanır. Serolojik testler hastanın H. pylori ile karşılaştığını gösterir. Kalitatif testler tedavi sonrası da pozitif kaldıkları için, bakteri eradikasyonunu değerlendirmede kullanılmazlar. Seroloji başlıca toplum ve aile taramalarında kullanılır. ELISA kitlerinde Hsp A, Hsp B, Cag A antijen olarak kullanılmakta ve kullanılan antijene göre testin duyarlık ve özgüllüğü %80-100 arasında değişmektedir (54). Helicobacter pylori tanısında kullanılan ilk serolojik test

ELISA'dır. On altı farklı ticari ELISA kiti kullanılarak yapılmış 21 çalışmaya ait meta-analiz sonuçları; bu testlerin duyarlılığının %85, özgüllüğünün de %79 olduğunu göstermiştir. Testlerin doğruluk oranı da %78 (68-82) olarak bulunmuştur (55).

2.5.2.2. Üre-nefes testi (ÜNT)

Nispeten pahalı bir yöntem olmakla birlikte gerek tanı gerekse tedavinin takibi amacıyla kullanılabilen yüksek duyarlılık (%95) ve özgüllük (%100) oranına sahip testlerdendir. Hastanın sitrik asit içerisinde 75 mg 14C veya 13C ile işaretli üreyi yutmasından 30 dakika sonra nefes örnekleri toplanır. 13C ÜNT, radyoaktif madde içermemesi, gebelerde ve çocuklarda kullanım güvenliği gibi sebeplerle tercih edilmekte olup, noninvaziv testler içinde altın standarttır. Ancak bu test antibiyotik, PPI veya ranitidin kullanan hastalarda %40 oranında yalancı negatif sonuçlar vermektedir (55). Mide rezeksiyonu geçirenlerde de bakteri-substrat temas süresi kısa olduğu için testin sensitivitesi azalır. Üre nefes testi aktif enfeksiyonu gösterir. Eradikasyon sonrası kontrol dört hafta sonra yapılmalıdır (56).

2.5.2.3. Helicobacter pylori dışkı antijeni (HpSA)

Gaitada H. pylori antijeninin varlığını göstermeye dayanır. Aktif enfeksiyonu göstermesi, sensitivite ve spesifitesinin %90' ın üzerinde bildirilmiş olması nedenleriyle günümüzde oldukça önemsenmektedir. Bu testin coccoid forma geçmiş H. pylori' nin varlığını bile ortaya koyması ayrıcalığıdır. Helicobacter pylori dışkı antijeni testi, tedaviden en az 8 hafta sonra bakılmak suretiyle enfeksiyonun takibi için de uygundur. Gaitada antijen testi, her yaştaki çocuklarda iyi performans göstermektedir ve bu grup hastalar için non-invaziv metod açısından seçenek olabilir (57).

2.6. Tedavi

Helicobacter pylori enfeksiyonunun eradikasyon endikasyonları ve bunun nasıl yapılacağı ile ilgili tartışmalar; özellikle birinci basamak sağlık hizmetlerinde devam etmektedir. Bu karışıklıkları önlemek için, Avrupa *Helicobacter Pylori* Çalışma Grubu (EHPSG) tarafından ilk kez 1997 yılında, sonuncusu 2010 yılında yapılan uzlaşma toplantılarıyla, Maastrich IV 2010 Konsensus raporu adıyla yayınlanmıştır (58). Maastricht IV konsensus raporu, *H. pylori* enfeksiyonunun tedavisinde düşük klaritromisin direnci olan bölgelerde, ilk seçenek olarak 7-14 gün PPI-klaritromisin-amoksisilin veya metronidazol tedavisini önermektedir (58). Duodenal ya da mide ülseri, MALT lenfoma, atrofik gastrit, vitamin B12 eksikliği anemisi, idiyopatik trombositopenik purpura, demir eksikliği anemisi, fonksiyonel dispepsi uzun süreli nonsteroid antiinflamatuvar ilaç kullanımı ve düşük doz aspirin kullanımı ve mide kanseri açısından yüksek riskli hastalara *H pylori* eradikasyon tedavisi önerilmektedir.

Helicobacter pylori enfeksiyonu tedavisinde amaç mikroorganizmayı tamamen eradike etmektir. *Helicobacter pylori* birçok antibiyotiğe duyarlı olup kullanılan çoğu antibiyotik enfeksiyonu geçici olarak baskılıyorsa da henüz enfeksiyonu eradike eden bir antibakteriyel tanımlanamamıştır. Oysaki ideal tedavi ile en az %90 başarı sağlanmalıdır. Bu nedenle etkin bir tedavi için birbirlerinin etkinliğini artıran çeşitli antibiyotik kombinasyonları kullanılmaktadır. Antibiyotikler, luminal asiditeden etkilenmemeleri için etkin bir asit inhibitörü ile birlikte verilmektedir. Günümüzde uluslararası konsensus kararlarına göre 7-14 günlük proton pompa inhibitörü (PPI) tedavisinin yanı sıra günlük 2 gr amoksisilin ve 1 gr klaritromisin tedavisi önerilmektedir. Ancak ideal olarak tanımlanan bu tedavi protokollerine rağmen hastaların %15-25' inde eradikasyon başarısız olmaktadır (58). Birinci basamak bu tedavi rejimindeki eradikasyon oranlarının %75-90 arasında değiştiği bilinmektedir fakat ülkemizde değişik bölgelerde yapılan çalışmalarda bu oranın %45-60' lara kadar gerilediği bulunmuştur. Tedavi başarısızlığındaki ana neden antibiyotik direncidir. Direnç oranları bölgelere göre çok farklılık göstermektedir. Bugün için ABD' de *H. pylori* suşlarının %12' si klaritromisine dirençlidir. Bu Almanya' da %9.8, İtalya' da

%26.7, ülkemizde %25-40' lar seviyesindedir. Gelişmiş batı ülkelerinde metronidazole karşı H. pylori' deki mevcut direnç %10-50 sıklığındadır. Gelişmekte olan ülkelerde ise bu oran %80-90'lara varmaktadır.

Eradikasyon oranlarının %80' in altına düştüğü bölgelerde alternatif tedavi yaklaşımları önerilmektedir (59).

Klaritromisin direncinin yüksek olduğu bölgelerde PPI, amoksisilin ve metronidazolden oluşan alternatif bir üçlü tedavi de önerilmektedir. Ancak bu tedavinin etkinliği metronidazol direncinin yüksek olduğu bölgelerde düşük bulunmuştur (60).

2.6.1. Tedavi Şemaları

Helicobacter pylori eradikasyon tedavisi başlanmadan önce hastanın daha önce H. pylori' ye yönelik aldığı tedaviler gözden geçirilmelidir. Mutlaka H. pylori eradikasyon tedavisi alması gerekmeyen hastalarda bir kez tedavi verilip başarı sağlanamadıysa ısrarcı olunmamalıdır ve aynı kombinasyonlar tekrar uygulanmamalıdır. Hastalar tedavi şeması ve olası yan etkiler konusunda bilgilendirilmeli, hastanın tedaviye uyumunun yüksek olması sağlanmalıdır.

Helicobacter pylori tedavisinde klasik 3' lü tedavinin (PPI, Klaritromisin ve Amoksisilin) etkinliği günümüzde kabul edilemez düzeyde azalmıştır. Yakın zamanda yapılmış bir çalışmada, ülkemizde 1996-2005 yılları arasında yapılmış klasik 3' lü eradikasyon tedavisi ile ilgili çalışmaların sonuçları derlenmiş ve bu tedavinin başarı oranının son yıllarda %60' lara düştüğü görülmüştür (61).

Bizmutlu 4' lü tedavi (Tetrasiklin (500 mg, günde 4 kere, 14 gün), Metronidazol (500 mg günde 2 kere, 14 gün), Bismuth subsitrat (300 mg, günde 4 kere, 14 gün), Proton pompa inhibitörü (pantoprazol) (40 mg, günde 2 kere,14 gün) standart tedaviden daha iyidir, fakat uyum sorunu vardır. Bu konudaki bir çalışmada, ülser dışı dispepsili hastalarda

H. pylori eradikasyonunda ilk sırada verilen bizmutlu 4' lü tedavinin başarısı, klasik 3' lü tedaviye göre anlamlı olarak yüksek (ITT analizine göre %70, %57) bulunmuştur (62).

Ardışık tedavi şemalarıyla (14 gün PPI, ilk yedi gün amoksisilin, 8-14. günlerde metronidazol, tetrasiklin) %90' ın üstünde eradikasyon oranları gözlenmiştir. Klaritromisine dirençli hastalarda, İtalyan grubu ardışık tedavi ile %90' ın üstünde bir eradikasyon sağlamışlardır (63).

2.7. Helicobacter Pylori ve Mide Maligniteleri

Dünya genelinde kansere bağlı ölüm nedenleri içerisinde mide kanseri ikinci sıradadır. Mide kanseri dünyada en sık Japonya ve Çin' de görülmektedir. Avrupa' da yıllık insidans 100.000'de 12-15' tir. Son 50 yıl içinde özellikle gelişmiş ülkelerde mide kanseri insidansı ve mide kanserinden ölüm oranlarında düşüş gözlenmektedir, proksimal mide ve kardiya kanserleri ise artmaktadır (64).

Mide kanserlerinin %95' ini mukoza epitelinden kaynaklanan adenokanserler oluşturur. Geri kalanlar ise lenfomalar, karsinoidler, sarkomlar ve metastatik tümörlerdir.

Lauren, klinikopatolojik korelasyonu daha iyi kurabilmek için, mide adenokanserlerini intestinal ve diffüz tiplere ayırmıştır. Bu sınıflama günümüzde en çok kabul gören sınıflamadır. İntestinal tip kanserler epitelyal hücrelerin gland yapıları oluşturmalarıyla karakterizedir. İntestinal tip karakteristik olarak diffüz tipe göre daha lokalizedir ve polipöz veya ülseratif (veya her ikisi birden) özellikler gösterebilir. Mide kanseri insidansının yüksek olduğu ülkelerde, intestinal tip en sık görülür.

Daha az sıklıkla görülen ikinci histolojik varyant ise diffüz tip adenokanser olup, epitel hücre tabakalarıyla karakterizedir (65).

Diffüz tip mide kanseri oluşumunda rol alan ardışık olaylar tamamiyle anlaşılmalı değildir. Buna karşılık İntestinal tipin moleküler patogenezi daha fazla bilinmektedir. İntestinal tip için ilk model; kronik gastritin kronik atrofik gastrite, onun da intestinal metaplaziye, displaziye ve sonunda da adenokansere ilerlemesi şeklindedir (65,66). Tümör dokusu ile bakterinin ilişkisini belirlemek çok zordur çünkü H. pylori' nin normal mide mukozaya afinitesi vardır, metaplastik, displastik veya malign dokuya afinitesi yoktur (67). Helicobacter pylori enfeksiyonunun korpus mukozası üzerinde inflamasyona neden olduğu ve atrofi

ve intestinal metaplaziye neden olduğu düşünülmektedir. Helicobacter pylori enfeksiyonunun intestinal ve diffüz tipin her ikisinde de nonkardia mide kanserlerde adenokanser oluşum riskini arttırdığı saptanmıştır (68).

Mide kanserinin oluşmasında konakçıya ait faktörlerin, bazı çevresel faktörlerin ve bakteriye (H. Pylori) ait faktörlerin rolleri üzerinde durulmaktadır (69).

Helicobacter pylori suş farklılığı: Helicobacter pylori enfeksiyonunda farklı klinik sonuçlar gözlenmektedir. Bazı hastalarda kanser gelişirken bazı hastalarda da duodenal ülser oluşmaktadır. Bu da suş farklılığına bağlı olabilir. Portekiz ve Kolombiya’ da yapılan çalışmalarda, cagA(+), vacAs1 ve m1 genotiplerinde bakteri yoğunluğunun daha fazla olduğu, lenfositik infiltrasyon, atrofi ve intestinal metaplazinin daha yüksek oranda görüldüğü sonucuna varılmıştır (70).

Konakçının immün cevabı: Konakçının genetik yapısının, kanser gelişimindeki rolünü destekleyen bazı bulgular vardır. Örneğin, mide atrofi ve İM’ si olan H. pylori pozitif hastalarda, HLA-DQ5 genotipine daha sık rastlanmaktadır. Helicobacter pylori ile infekte olan kişinin immünolojik durumunun da mide kanseri ya da diğer klinik tabloların gelişmesinde rolü vardır. Nitekim H. pylori ile infekte deney hayvanlarında atrofik gastritin şiddetinin, interlökin-12 (IL-12) ile artarken, anti- TNF γ antikoru ile de azaltılabildiği gösterilmiştir (71).

Sitokin polimorfizmleri, nötrofil aktivasyonu, apoptosis: Helicobacter pylorinin mukozal kolonizasyonu sonrasında bakteri yoğun bir lokal inflamatuvar cevap oluşmasına ve ortama bol miktarda lenfosit ve nötrofillerin gelmesine neden olmaktadır. Aktive olan bu hücreler bir takım sitokinlerin salınmasına ve ortama diğer inflamatuvar hücrelerin göçüne yol açmaktadır. Apoptozisin gelişmesinde bu sitokinler gerek hücre ölümünü hızlandırarak gerekse bazı basamaklarda bloke ederek rol oynamaktadır. H. pylori enfeksiyonu ortama gelen bu hücrelerin uyarılmasının yanı sıra gastrik mukoza hücrelerini de uyarır ve bu hücrelerden de bazı proinflamatuvar sitokinlerin salınmasını sağlar (69-71). Bu proinflamatuvar sitokinlerden en bilinenleri IL-1, IL-2, tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) ve interferon- γ (IL- γ) dır. Mide epitelyal hücrelerde apoptozisin

indüklemesi apoptozise konakçı cevabı olarak hücre proliferasyonunda artışa neden olmaktadır (72,73).

N-nitroso bileşikleri: Ohshimura ve ark. mide mukozasında *H. pylori* enfeksiyonunun yol açtığı kronik inflamasyonun iNOS' u ve çeşitli diğer enzimleri (myeloperoksidaz, NADPH oksidaz, eozinofil peroksidaz gibi) aktive ettiğine işaret etmiştir. Bu enzimler DNA ve RNA' yı hasarlayabilen, mutasyonlarda artışa yol açan ve böylece çok evreli karsinogenez prosesine katkıda bulunan çeşitli güçlü reaktif oksijen (ROS) ve nitrojen ürünleri (RNS) üretirler. iNOS *H. pylori* ile infekte olmuş mide mukozasında ve özellikle *H. pylori* 'den orijin almış mide kanserinde gözlenmiştir. *Helicobacter pylori* ile ilişkili mide karsinogenezinde anjiogenezin stimülasyonu kısmına IL-8, VEGF ve iNOS dahildir (73).

Bakteri, antral mukozada G ve/veya D hücreleri, oksintik mukozada ise parietal hücreler üzerinde direkt ya da indirekt yollarla etkili olarak asid sekresyonunu bozar. Asit salgısının azalması, diyetle bulunan nitratların N-nitroso bileşiklerine dönüşümüne ve mide ortamında oksidasyon-redüksiyon dengesinin bozulması ile mide mukozasında oksidatif hasara yol açar (72). Yapılan çalışmalarda N-nitroso bileşiklerinin, mide mukoza hücrelerinin DNA'sının alkillenmesine ve promotajenik DNA lezyonlarının (örn: O⁶- alkylguanine) oluşmasına neden olarak mide karsinogenez sürecini başlattığı belirlenmiştir (73).

Hipoklorhidri ve askorbik asit: Mide konsantrasyon gradientine karşı lümene, reaktif oksijen metabolitlerinin ve nitritin güçlü inhibitörü olan askorbik asit salgılar (74). *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda mide suyunda vitamin C seviyelerinin düştüğü böylece vitamin C' nin antioksidan ve nitrosamin oluşumunu azaltıcı etkisinin zayıfladığı bildirilmiştir (75).

2.8. Nitrat ve Nitrit

Bir azot atomuna bağlı iki oksijen atomundan oluşan, antimikrobiyal özelliğe sahip olan ve suda çok iyi çözünen nitrit çevrede sıklıkla bulunmaktadır. Ayrıca nitrit iyonu, nitratın kimyasal veya biyolojik yollarla indirgenmesi sonucunda da oluşmaktadır. Nitritin hızla ve kolaylıkla nitrata yükseltgenmesinden dolayı çevrede

normal olarak nitrate oranla daha az miktarda bulunmaktadır. Nitratlar, bir azot iyonu ile üç oksijen atomundan oluşan, NO_3^- formülü ile gösterilen, suda çok iyi çözünen, ısıyla bozulan ve yükseltgen özelliği olan billur yapıli katılardır (76).

2.8.1. Nitrat ve Nitritin Oluşumu

Vücuttaki endojen nitrat ve nitritin en önemli kaynağı NOS enzimi etkisiyle L-arjininden sentezlenen nitrik oksittir. Nitrik oksit sentaz enzimi L-arjinini, L-sitrülline dönüştürmek üzere substrat olarak kullanır ve bu reaksiyon sırasında yan ürün olarak nitrik oksit oluşur. İnsan plazmasında oksijen varlığında nitrik oksit hızlı bir şekilde esas yıkım ürünü olan nitrite dönüşür. Plazmada bulunan nitrit, eritrositler tarafından hücre içine alınarak methemoglobin tarafından nitrate oksitlenebilir (77).

Nitrat ve nitrit iyonları, özellikle beslenme ve solunum yoluyla vücuda alınmaktadır. Besinler ile aldığımız nitratın büyük bir kısmı dışki yoluyla dışarı atılmakta, bir kısmı ise tükürük bezlerine taşınarak ağızda salgılanmaktadır. Salgılanan nitratın bir kısmı dilin en arka tarafında bulunan bakteriler tarafından nitrite dönüştürülür (78). Nitratı nitrite indirgeyen bakteriler, dilin arka kısmında tat tomurcukları arasındaki oksijen erişmeyen yarıklarda yaşamaktadırlar. Bunlar, fakültatif anaeroblar adı verilen hem oksijensiz hem de oksijenli ortamda yaşayabilen bakterilerdir (79). Nitrit yutma yoluyla mideye ve emilim yoluyla da kana taşınmaktadır (80).

2.8.2. Nitrat ve Nitritin Çevre ve İnsan Sağlığına Etkileri

Uzun zamanlardan beri yüksek düzeyde nitrat ya da nitrit tüketiminin insan ve hayvanlar açısından tehlike oluşturduğu ve bu tehlikenin insanlarda ağır hastalıklara ve ölüme yol açtığı bilinmektedir. Sebzelerin yanı sıra insanlarda nitrat alımının bir diğer kaynağı hayvansal kaynaklı yiyeceklerdir. Nitrat ve nitrit tuzları en çok salam, sosis, sucuk gibi et ürünlerinde kullanılmaktadır (81).

Nitrit zehirlenmesi; nitrit seviyesinin beyin damar dokularında veya akciğer, kalp, karaciğer, böbrek ve testislerde yeterli miktara ulaşmasıyla

meydana gelmektedir. Uzun süreli nitrat ve nitrite maruz kalınması söz konusu dokuların şiddetli olarak bozulmasına yol açabilmektedir (82-85).

Mide ortamındaki nitrat ve nitrit ile mide ve özafagus kanseri arasında muhtemel bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (86). Belirli koşullar altında *H. pylori* gibi bakterilerin midede çoğalması nitratın kolayca nitrite dönüşmesine ve nitrit konsantrasyonunun yükselmesine sebep olmaktadır (82-88). Nitrit mide içerisinde özellikle hipoklorhidride sekonder aminler ile reaksiyona girerek kanserojen özellikleri bilinen nitroso bileşiklerini oluşturmaktadır. Bu bileşiklerin toksisite ve mutajenisite gibi potansiyel tehlikeleri de vardır. Söz konusu bileşiklerin insan vücudunda en fazla bulunduğu yer mide olduğu için mide kanseri oluşumundaki rolünün araştırılması ile ilgili çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır (89-92).

2.8.3. Nitrat ve Nitritin Analiz Yöntemleri

Literatürde içme suları, sulu gıdalar ve biyolojik örneklerdeki nitritin belirlenmesi için spektrometrik ve kromatografik birçok yöntem bulunmaktadır. Bu yöntemlerden en önemlileri ve kullanılan deneysel prosedürler aşağıda kısaca anlatılmıştır.

Kullanılan yöntemlerden en eskisi Griess reaksiyonu olarak bilinen ve asidik ortamda 4-aminobenzenesülfonik asit ile nitritin reaksiyonu sonucunda oluşan maddenin naftalen-1-amin ile reaksiyona girerek oluşturduğu azo boyar maddenin UV'deki absorpsiyon ölçümlerine dayanılarak yapılan işlemlerdir (93-97).

Bu çalışmada plazma ve idrar gibi çeşitli biyolojik örneklerdeki nitrat ve nitrit iyonlarının belirlenmesi için 2,3-Diaminonaftalen (DAN) reaktifi kullanılmış ve oluşan triazol türevinin kromatografik analizi GC-MS ve *H. pylori* LC-FL ile yapılmıştır (98). Metodun minimum algılama limiti 10 pmol/mL'dir.

Çok düşük konsantrasyonlardaki nitrat ve nitritin belirlenmesi için en sık kullanılan yöntem, nitritin 2,3-DAN gibi floresans bir reaktif ile reaksiyonu sonucu oluşan naftotriazol'ün (NAT) florometrik olarak ölçülmesine dayanmaktadır. Bu amaçla en çok kullanılan reaktif DAN'dir. Bu reaktif ile nitritin reaksiyonu sonucu oluşan 2,3-naftotriazol çok kuvvetli floresans özelliğe

sahiptir. Bu yöntemde; nitrit iyonları içeren çözelti üzerine asit (0.25 M HCl) çözeltisinde hazırlanan DAN reaktifi eklenir ve çözelti homojenize edilerek 10 dakika karanlıkta bekletildikten sonra çözelti üzerine 0.25 mL 0.58 M NaOH eklenir ve çözeltinin analizi hızlı bir şekilde yapılır. Nitrat ve nitrit iyonlarının kromatografik analizleri yüksek seçicilik ve hassaslık göstermesinden dolayı GC-MS kullanılarak yapılmıştır. (99-102).

Düşük konsantrasyonlardaki nitritin belirlenmesinde kullanılan diğer bir floresans reaktifte 5-aminofloresein' dir. Bu reaktif ile yapılan çalışmalarda düşük konsantrasyonlardaki nitrit iyonlarının tayin edilebileceği belirtilmiştir Axelrod ant Engel (1975) yaptıkları çalışmada 5-aminofloresein reaktifi kullanarak bazı gıdalardaki nitrit iyonlarının pg seviyelerde analiz yapmayı başarmışlardır. (103).

Floresans reaktifler ile yapılan çalışmaya ek olarak, nitrat ve nitritin GC-MS tekniği kullanılarak kalitatif ve kantitatif tayininin yapıldığı çalışmalarda mevcuttur. Pentaflorobenzil bromür ile nitritin reaksiyonu sonucu oluşan ürün GC-MS' de ölçülebilmektedir (104). Yapılan çalışmada biyolojik sıvılardaki nitrat ve nitrit iyonlarını pentaflorobenzil bromür ile türeterek GC-MS ile kromatografik analizlerini gerçekleştirmişlerdir. Kullanılan bu yöntemin minimum algılama limiti $\mu\text{g}/\text{mL}$ ' dir (104).

2.9. Nitrosaminler

N-nitroso bileşikleri; nitrozamidler ve nitrosaminler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Nitrozamidler; amid, guanidin, karbamat, karboksamid gibi maddelerin türevleridirler. Nitrosaminler 100 yılın üzerinde bir süre önce tanımlanmış bir sınıf kimyasal bileşiklerdir. Genel formülleri $R_1R_2NN=O$ şeklindedir. R1 ve R2 alkil veya aril gruplardan oluşabilmektedir. Bu bileşikler insanlar tarafından tüketilen gıda maddelerinde yaygın olarak bulunabilen ve diğer çevre şartlarında oluşabilen genetik etkili kimyasal kansorejenlerin büyük bir grubunu oluştururlar.

Nitrosaminler sigara dumanında bulunan ve akciğerin sigaraya bağlı karsinogenezinde rol aldığından kuşku edilen tütün alkaloidleridir (105). Bu bileşikler sigara ile dışardan alınabileceği gibi insanlarda endojen olarak da

meydana gelebilir. Hazır gıdalar, sebzeler ve et ürünleri nitrosamin substratı olabilecek nitrat içerebilirler (106,107). Tükürük de nitrosamin substratı olan endojen nitrit kaynağıdır; dışardan alınan nitratların gastrointestinal sistemden absorbe olarak tükürükten salgılanması ile bir sirkülasyon oluşur. Hipoklorhidrik midede çoğalan bakteriler, nitrat redüktaz enzimi ile nitratları nitritlere dönüştürerek, nitrosamin bileşikleri oluşumuna yol açabilirler (106-109). İnsanlarda çeşitli nedenlerle gelişen hipoklorhidride mide lümeninde nitrit düzeyinin arttığı gözlenmiştir (110-113). Mide kanseri prevalansının yüksek olduğu bölgelerde yaşayan insanların idrarlarında bir nitrosamin metaboliti olan nitrosoprolin'in arttığı görülmüştür (114). Nitrosamin bileşikleri karaciğer ve diğer dokularda metabolize olarak aktif radikallere dönüşür ve bu radikallerin DNA bazlarına kovalan bağlanması ile DNA-*adduct* denen artefaktlar oluşur (115-117). Bu bağlanma kritik bir DNA segmentinde metilasyona sebep olabilir (118). Eğer hücrede metillenmiş DNA segmenti tamir edilemez ve/veya hücre apoptoza gidemez ise, replikasyonda mutant bir gen gibi fonksiyon görerek karsinogenezin başlatıcısı olabilir (119,120). Hayvanlarda nitrosamin bileşiklerinin mide, akciğer, karaciğer ve nazal kavite tümörlerine sebep olduğu gösterilmiştir (120,121). Nitrosamin bileşiklerinin O6-guanin ve O4-timin bazları düzeyinde adduct yaptığı ve karsinogenezi uyardığı sanılmaktadır (106).

Nitrosaminlerin canlı vücudunda en sık bulunduğu organların başında mide gelmektedir. Bu bileşikler mide ortamına beslenme, sigara gibi çeşitli yollarla alındıkları gibi asidik koşullarda nitrit ve aminlerin reaksiyonuyla da oluşabilirler (122,123). Mide ve bağırsakta bulunan bazı bakteriler vücuda alınan nitratın nitrite dönüşmesine yardımcı olarak nitrosamin oluşumunu artırırlar (122-126). Nitrit, midenin asidik ortamında nitroz aside dönüşür ve nitroz asit ortamdaki aminler ile reaksiyona girerek nitrosaminleri oluşturur (123,127). Bununla birlikte askorbik asit, polifenoller gibi oksitleyici maddeler nitrit oluşumunu inhibe ettiğinden, dolaylı olarak nitrosamin oluşumunun azalmasına sebep olurlar (128). Midede nitrosaminlerin oluşumu mide ortamının pH'ına, bakteriyel oluşuma, nitrat, nitrit ve amin miktarına bağlı olarak değişmektedir (129).

Yapılan çalışmalarda nitrosaminlerin oluşumu için en uygun pH aralığının 2,0 - 3,4 aralığında olduğu belirtilmiştir (130). Ayrıca nitrosamin oluşumunun,

nitrosamin oluşturan bazı özel bakteriler tarafından doğal pH değerlerinde de gerçekleştiği tespit edilmiştir (131). Nitrosaminlerin vücutta kanser oluşum riskini arttırdığı yapılan birçok klinik çalışmada tespit edilmiştir (132).

2.9.1. Nitrosaminlerin Çevre ve İnsan Sağlığına Etkileri

Nitrosaminler, kuvvetli kanserojen etkiye sahip maddeler olmaları yanında; mutajenik ve teratojenik etki de gösterirler (133,134). Yapılan çalışmalarda, 300' den fazla nitroso bileşiği deney hayvanları üzerinde denenmiş ve bunların % 90' ın kanserojen etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Fare, balık, tavşan gibi birçok hayvan türü üzerinde yapılan çalışmalarda nitrosaminlerin, kanserojen etkileri denenmiş ve karaciğer, akciğer, böbrek, idrar kesesi, yemek borusu, mide, bağırsak beyin ve sinir sistemi gibi önemli organlarda tümör oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu oluşumlar nitrosaminlerin yapısına ve alınan miktarına bağlı olarak bir veya birkaç organda görülebilmektedir (135-138). 1981' de National Academy of Sciences günlük çeşitli gıdalardan alınan 1 mikrogram nitrosaminin kanser riskini arttırabileceğini belirtmiştir. Sigara içen bir kişinin günlük olarak 17 mikrogram nitrosamine maruz kaldığı bilinmektedir. Bununla birlikte plastik fabrikaları gibi endüstrilerde çalışan kişilerin çok yüksek seviyelerde nitrosaminlere maruz kaldıkları tespit edilmiştir. Nitrosaminler tütün ürünlerindeki en önemli kanserojen sınıftaki bileşiklerden olup tütün ürünleri ve kanser oluşumu arasındaki ilişkinin son derece yüksek olduğu bilinmektedir (138,139).

Nitrosaminlerin sebep olduğu düşünülen önemli kanser türlerinden birisi de pankreas kanseridir. Amerika'daki kanser hastalıklarının % 25' ini pankreas kanseri oluşturmaktadır (140,141).

Nitrosaminlerin vücutta sebep oldukları en önemli zararlardan birisi de hücrelerde mutasyon etki göstermeleridir. Fizyolojik şartlar altında kararlı olan nitrosaminlerde nitroso grubuna bağlı karbon atomunda sitokrom P-450' ye bağlı olarak hidroksillenmesi sonucunda α -hidroksi nitrosamin oluşur. Bu bileşikteki karbon-azot bağının kopması sonucu bir aldehitin kendiliğinden ayrılmasıyla alkil diazo hidroksit oluşur. Alkil diazo hidroksitin parçalanması sonucunda oluşan

elektrofilik alkil diazonyum iyonu, çeşitli hücrelerin nükleofilik bölgelerinde reaksiyona girerek tümör oluşmasında etkili olan ara ürünleri oluşturur. Tümörleşme, genellikle DNA'ya alkil gruplarının bağlanması sonucu önemli hücresel faaliyetlerin değişmesiyle oluşur (142-144).

DNA'nın dialkilnitrosaminlerle alkilenmesi bir seri değişik reaksiyonlar sonucunda gerçekleşir. Fare akciğeri üzerinde yapılan bir çalışmada DNA'ya metil grubunun bağlanmasıyla oluşan ürünlerin % 90'ının Nitrosodimetilamin (NDMA)'in metabolik aktivasyonu sonucu oluştuğu tespit edilmiştir. Nitrosaminlerin canlı vücudunda meydana getirdikleri değişimlerden bazıları biyolojik bakımdan önemlidir. Bu reaksiyonlar DNA'nın anormal eşleşmesine ve tümör oluşmasına neden olmaktadır (145).

Nitrosaminlerin canlı organlarında meydana getirdiği kanserojenik etkilerin farklılığı, vücutta meydana gelen iki olaya bağlı olarak açıklanabilir. Birincisi; canlı vücudunda farklı dokulardaki enzim alt sınıflarının farklı aktivasyon kapasitesine sahip olması, ikincisi ise aynı organdaki farklı hücre tiplerinin veya farklı organlardaki aynı hücre tiplerinin alkil guanini farklı yenileme tiplerine sahip olmasıdır. Nitrosaminler genellikle uygulama yerinden uzakta sistematik tümörler oluştururlar (146).

Herhangi bir gıda maddesiyle vücuda alınan belirli düzeydeki nitrosaminlerin insan vücudunda tek başına kanser oluşturma riski düşüktür. Ancak solunan hava ve sigara gibi değişik kaynaklardan sürekli alınan farklı türdeki nitrosaminler, kanser oluşum riskini artırır. Aynı zamanda insan vücudunda endojen oluşan nitrosamin bileşikler de kanser oluşum riskinin artmasında rol oynayabilir (147,148).

Mide kanseri dünyada en sık görülen kanser türlerinden biridir. Midenin asidik ortamında nitrit ve sekonder aminlerin reaksiyonu sonucu oluşan nitrosaminler mide kanseri oluşum riskini arttırmaktadır (149-153).

Mide kanseri, ülkemizde mide-bağırsak kanserleri arasında ilk sırada ve tüm kanserler arasında ikinci sırada yer alır. Çevresel faktörler ve beslenmenin mide kanseri üzerine olan etkisi uzun zamandır araştırılmaktadır. Japonya, Kore, Kolombiya, İrlanda gibi ülkelerde mide kanseri diğer ülkelere göre daha sık görülmektedir. Yüksek risk bölgelerinden düşük risk bölgelerine göç eden ırkların

sonraki nesillerde mide kanseri görülme olasılığının belirgin biçimde azaldığı saptanmıştır. Bu da genç yaşlardan itibaren etyolojik faktörlere maruz kalmanın kanser oluşum riskini artırdığını göstermektedir. Bu etyolojik ajanın ne olduğu bilinmemekle birlikte beslenmenin önemi üzerinde durulmaktadır (154). Correa et al. (1975) mide kanseri prevalansı yüksek olan bölgelerde yaşayan kişilerde; iç ve dış kaynaklı nitroso bileşiklerinin çeşitli gastritlere yol açtığını ve bunu nitroso bileşikleri üretebilen mide bakterilerinin oluşmasıyla birlikte aklorhidri (mide suyunda hidroklorik asit eksikliği) ve ardından bunu atrofinin takip ettiğini ve sonuçta kanser oluşumunun başladığını ileri sürmüşlerdir (66).

Çalışmalarda karbonhidrat, turşular, tuzlanmış et ve balık gibi gıdaların mide kanseri riskini arttırdığı, süt ve süt ürünleri, taze sebzeler ve C vitaminince zengin gıdaların tüketiminin ise mide kanseri riskini azalttığı belirtilmektedir. Besinlerde yağ oranının aşırı düşük ya da aşırı yüksek olması da kanser riskini yükseltmektedir. Yüksek miktarda tuz alımının kanser oluşma olasılığını artırıcı etkisi vardır. Mide kanseri prevalansı yüksek olan Kolombia'da tuz tüketiminin yüksek olduğu bildirilmiştir. Tuzun kanser yapıcı etkisi, tuzun kronik gastrite sebep olduğu, oradan da atrofik gastrite neden olabileceği düşünülerek açıklanmaktadır. Atrofik gastritte oluşacak hipoklorhidri (mide mukozasındaki hidroklorik asit üretiminin yetersiz olması) ile mide lümeninde nitrosamin artışı olması neticesinde mide kanseri oluşum oranının artabileceği öngörülmektedir (155-157). Mide kanserinin oluşmasında neden olduğu düşünülen nitrit, mideye gıdalar ile alınmakla birlikte nitratın bakteriyel, kimyasal ve enzimatik olarak indirgenmesiyle de oluştuğu gösterilmektedir (158,159). Midenin hipo veya aklorhidri (mide asitliğinin yetersiz olması) durumunda nitrit yapan bakterilerde artış olduğu belirtilmektedir (160,161).

Nitrosaminlerin protein ve nükleik asitlere bağlanarak kanserojen etki gösterdikleri bilinmektedir. Mide, yemek borusu, nazofarenks, mesane ve karaciğer kanserleriyle, nitrat ve nitrit ve nitrosaminlerin vücuda dışarıdan alınması ve vücut içerisinde nitrosamin oluşumu arasında kuvvetli ilişkiler bulunmuştur (162,163). Düşük miktarda bile olsa sürekli olarak nitrosamine maruz kalınması durumunda çeşitli organlarda tümör oluşumunun arttığı yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir.

Nitrosaminlerin metabolik aktivasyonu ile kendiliğinden oluşan N-nitroso üre, hedef dokunun DNA' sını ile etkileşerek bazlarının değişimine neden olmakta ve tümör oluşumunu başlatmaktadır. Nitrosodimetilaminin başlıca metabolize olduğu yer karaciğer mikrozomal sistemdir. Rat, fare ve kemirgen karaciğer mikrozomlarında NDMA'nin demetilasyonla formaldehide ve denitrozasyonla ise nitrite dönüştüğü, bu nitrosaminin kendisinden çok metabolitlerinin karsinojenik ve mutajeni etkilerinin olduğu birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir (164,165).

2.9.2. Nitrosaminlerin Analiz Yöntemleri

Nitrosaminlerin biyolojik sıvılar, gıda ve çevre örneklerinde çok düşük konsantrasyonlarda belirlenmesi aşırı derecede karmaşık bir analitik problemdir. Çünkü bu örneklerin analizinde birçok girişimler bulunmaktadır. Literatürde değişik örneklerdeki nitrosaminlerin belirlenmesi için gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GC-MS) GC-TEA, gaz kromatografisi-alev iyonlaşma dedektörü (GC-FID), gaz kromatografisi-alev fotometrik dedektör (GC-FPD) sıvı kromatografisi (LC) sıvı kromatografisi-LC-MS, sıvı kromatografi-floresans dedektör (LC-FL), sıvı kromatografi-görünür bölge (LC-UV/CE), miseller elektrokinetik kapiler kromatografi (MEKC) gibi birçok analitik yöntem mevcuttur.

Bu çalışmada serum ve mide sıvısı nitrosaminleri organik bir çözücü ile ekstrakte edildikten sonra GC-MS ile analiz edilmişlerdir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Bülent Ecevit Üniversitesi (BEÜ) İç Hastalıkları Anabilim Dalı Gastroenteroloji Bilim Dalında gerçekleştirilmiştir. Araştırma için Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulundan etik kurul onayı alınmıştır.

Dispeptik şikayetleri nedeni ile BEÜ Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Bilim Dalında üst GİS endoskopisi yapılan toplam 44 olgu çalışmaya alınmıştır. Endoskopik biyopsilerinde H. pylori negatif saptanan 6 olgu çalışma dışı bırakılmıştır. Endoskopik biyopsilerinde H. pylori pozitif saptanan ve H. pylori eradikasyon tedavisi planlanan 38 olgu çalışma grubuna dahil edilmiştir.

Çalışmaya katılan tüm olgulara çalışma hakkında bilgi verildi ve olguların rızasının alındığını belgeleyen bilgilendirilmiş onay formu imzalatıldı.

Bilinen kronik hastalığı olanlar, daha önce H. pylori eradikasyon tedavisi alanlar, malignite tanısı olanlar, sistemik enfeksiyonu olanlar, serum düzeylerini etkileyecek ilaç kullanan olgular çalışma dışı bırakıldı.

Olguların yaş cinsiyet ağırlık boy gibi demografik verileri ve sigara kullanım öyküleri kaydedildi.

Üst GİS endoskopi işlemi öncesinde tüm olgulardan 4 ml venöz kan örneği alındı. Venöz kan örnekleri bekletilmeden 4000/dk devirde 5 dk santrifüj edildi. Yapılan santrifüj işlemi sonrası elde olunan hasta serum örnekleri ependorf tüplere ayrılarak analiz yapılmaya kadar -80 °C' de derin dondurucuda saklandı.

Üst GİS endoskopisi ile eş zamanlı olarak tüm olgulardan 4 ml mide sıvısı alındı. Mide sıvıları steril tüpe konularak analiz yapılmaya kadar -80 °C' de derin dondurucuda saklandı.

Üst GİS endoskopisinde sırasında biri mide preplorik antrumdan diğeri mide antrum insisura angularis kesiminden 2 adet biyopsi örneği alındı. Alınan biyopsi örnekleri histopatolojik inceleme için %10' luk formalin içine konularak patoloji laboratuvarına gönderildi.

Helicobacter pylori pozitif olan ve H. pylori tedavi endikasyonu konulan 38 olguya H. pylori eradikasyon tedavisi olarak klaritromisin 500 mg tablet 2x1/gün, amoksisilin 1000 mg tablet 2x1/gün ve lansoprazol 30 mg tablet 2x1/gün'den oluşan üçlü tedavi 14 gün süre ile verildi.

Tedavi bitiminden 2 ay sonra H. pylori eradikasyonunu değerlendirmek amacıyla kontrol üst GIS endoskopisi yapıldı. Kontrol üst GIS endoskopi işlemi öncesinde venoz kan örneği, endoskopik işlem sırasında mide sıvısı ve aynı bölgelerden mide antrum biyopsileri tekrar alınarak aynı prosedürlere uyularak saklandı. .

Mide sıvısında pH: Alınan mide sıvısı örneklerinin pH' ları cam elektrot kullanarak hassas bir pH metre ile ölçüldü. Elektrodun kalibrasyonu pH' 1 bilinen standart çözeltiyle yapıldı; yumuşak bir bezle silindikten sonra pH' 1 ölçülecek olan mide sıvısına daldırıldı. Skalada okunan sayı, mide sıvısının pH' 1 kabul edildi..

Serum ve mide sıvısında nitrat ve nitrit ölçümü: Serum ve mide sıvısı oda ısısında eritildikten sonra mide sıvısı ve serum nitrat ve nitrit ölçümü için proje personelleri tarafından geliştirilen ve uluslararası literatürde yayınlanan analiz metotları kullanılmıştır. Nitrat ve nitrit analiz metodu sulu çözeltide nitritin 2,3-diaminonaftalen ile türetilmesi, nitratın nitrite enzimatik olarak indirgenmesi, nitritin yüksek floresans özellikteki 2,3-naftotriazol türevinin toluen ile ekstraksiyonu ve seçici iyon modunda GC-MS ve sıvı kromatografisi-floresans (LC-FL) kullanılarak kromatografik analizleri yapılması sonucunda ölçülmüştür.

Serum ve mide sıvısında nitrosaminlerin ölçümü: Serum ve mide sıvısı oda ısısında eritildikten sonra mide sıvısı ve serum örneklerindeki nitrosaminler organik bir çözücü ve/veya çözücü karışımı ile ekstrakte edildikten sonra kromatografik analizleri elektron impakt ve pozitif ve negatif iyon kimyasal iyonlaşma modunda GC-MS ile yapıldı.

Histopatolojik inceleme: Formol içinde patoloji laboratuvarına gönderilen mide biyopsi materyalleri %10' luk formaldehit fiksasyonu sonrası 3 saat akan suda yıkandı. Alkol serilerinden geçirilen dokular parafin bloklarda 3-5 µm kesilerek Hematoksilen Eosin (H.E) ile boyandı. Kesitler aynı zamanda toluidin mavisi ile boyanarak ışık mikroskobu altında H. pylori arandı. Her bir kesit aynı zamanda histolojik aktivite, inflamasyon, atrofi ve intestinal metaplazi varlığı bakımında değerlendirildi. Sydney klasifikasyonunda yer alan H. pylori yoğunluğu sıfırdan dört pozitif kadar derecelendirildi. Sydney klasifikasyonuna göre H. pylori görülmemesi: H. pylori yoğunluğu = '0'; tek tek organizmaların

bulunması veya mukozal yüzeyin üçte birinden daha azını kaplayan küçük grupların bulunması: H. pylori yoğunluğu = '1'; mukozal yüzeyde büyük organizma gruplarının bulunması, mukozal yüzeylerin 2/3'ünden daha fazla alanda tespit edilmesi: H. pylori yoğunluğu = '3'; 1-3 arası bulgular H. pylori yoğunluğu = '2' olarak değerlendirildi. Aktivasyon; polimorfonüveli lökosit (PMNL) durumuna göre = 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi. İnflamasyon; mononükleer lökosit (MNL) durumuna göre = 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi. İntestinal metaplazi (İMT)= 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (şiddetli) ve atrofi 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta), 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi (Tablo 1) (166).

Tablo 1: Sydney sistemine göre gastritlerin histopatolojik skorlanması

	Normal	Hafif	Orta	Şiddetli
İnflamasyon	0	1	2	3
Aktivite	0	1	2	3
Atrofi	0	1	2	3
İntertinal metaplazi	0	1	2	3
HP	0	1	2	3

3.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilks testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma ve ortanca (minimum-maksimum), kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlandığında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Tekrarlı ölçümlerin değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları sağlanıyor ise iki eş arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmıyor ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. İki sayısal değişken arasındaki

ilişki araştırılırken korelasyon analizi uygulandı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p<0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamıza *H. pylori* pozitif ve eradikasyon tedavisi alan 38 olgu dahil edilmiştir. 26 (%68.4) olgu kadın, 12 (%31.6) olgu ise erkekti. Olguların yaşları 18-59 arasında değişmekte olup, yaş ortalamaları 34.1 ± 11.38 idi. Çalışmamıza katılan olguların 11' i (%28.9) sigara içmekte olup, 27 olgu (%71.1) sigara içmemektedir. Olguların vücut kitle indeksi (VKİ) ortalaması 24.99 ± 4.98 olarak bulunmuştur. *Helicobacter pylori* eradikasyon tedavisi sonrası kontrol endoskopide 9 olguda (%23.7) *H. pylori* negatifleşmiştir (Tablo 2).

Tablo 2: Çalışmaya alınan olguların demografik özellikleri

		Olgu Sayısı (n=38)	
Yaş		34.07±11.38 (18-59)	
VKİ(kg/m ²)		24.99±4.98 (16.16-37.78)	
		Sayı	Yüzde (%)
Cinsiyet	Kadın	26	68.4
	Erkek	12	31.6
Sigara	İçen	11	28.9
	İçmeyen	27	71.1

Sigara içen ve içmeyen olgularda pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyeleri arasındaki farklılıklar karşılaştırılmış ve sigara içenlerde mide sıvısında sadece nitrosamin düzeyinde anlamlı yükseklik saptanmıştır (sırasıyla $p=0.894$; $p=0.669$; $p=0.936$; $p=0.027$). Serum örnekleri incelendiğinde ise pH dışındaki tüm değişkenlerde anlamlı yükseklik saptanmıştır (sırasıyla $p=0.334$; $p<0.001$; $p=0.002$; $p<0.001$) (Tablo 3).

Tablo 3: Sigara içen ve içmeyen olgulardaki mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin konsantrasyonları arasındaki farklılıklar

		Sigara İçen	Sigara İçmeyen	p
Mide Sıvısı	pH	1.47 (0.95-5.35)	1.88 (0.68-7.37)	0.894
	Nitrat (µg/mL)	18.22(10.16-25.42)	16.84(5.70-26.8)	0.669
	Nitrit	9.45 (2.22-14.28)	8.41 (1.86-14.25)	0.936
	NAs (ng/mL)	266.57 (115.68-652.76)	167.42(39.93-513.75)	0.027
Serum	pH	8.18 (7.51-8.53)	8.09 (7.40-8.42)	0.334
	Nitrat (µg/mL)	388.70 (74.82-858.05)	168.32 (73.69-553.87)	<0.001
	Nitrit (µg/mL)	193.41 (51.05-311.98)	90.22 (40.22-248.79)	0.002
	NAs (ng/mL)	18.04 (5.23-32.51)	8.73(2.63-19.94)	<0.001

NAs : Nitrosamin

Çalışmaya katılan olguların yaş değişimi ile mide sıvısı ve serum pH nitrit nitrat ve nitrosamin değişimi değerleri karşılaştırıldığında anlamlı korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca VKİ değişimi ile mide sıvısı ve serum pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi değerleri karşılaştırıldığında mide sıvısı ve serum nitrat ve nitrosamin düzeylerinde anlamlı pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur.

Sigara içenlerle içmeyenlerin tedavi öncesi ve sonrası mide sıvısı ve serum pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeyleri incelendiğinde mide sıvısında sigara içenlerin sadece nitrosamin düzeylerindeki değişim ortalaması daha yüksek bulunurken (sırasıyla p=0.612, p=0.929, p=0.737, p=0.035) serumda ise nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeylerindeki değişim ortalamaları daha yüksekti (sırasıyla p<0.001,p=0.001, p=0.010) (Tablo 4).

Tablo 4: Yaş, VKİ değişimi ve sigara kullanımı ile mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi korelasyonu

		Yaş		VKİ		Sigara Kullanımı
		r	p	r	p	p
Mide Sıvısı	pH	0.19	0.243	-0.10	0.551	0.612
	Nitrat (µg/mL)	0.17	0.318	0.34	0.037	0.929
	Nitrit (µg/mL)	0.14	0.418	0.21	0.199	0.737
	NAs (ng/mL)	0.22	0.184	0.58	<0.001	0.035
Serum	pH	-0.06	0.723	0.08	0.631	0.195
	Nitrat (µg/mL)	-0.06	0.707	0.42	0.008	<0.001
	Nitrit (µg/mL)	0.04	0.794	0.30	0.070	0.001
	NAs (ng/mL)	0.24	0.225	0.31	0.103	0.010

NAs : Nitrosamin

Olguların *H. pylori* tedavisi öncesi ve tedavi sonrası biyopsi sonuçları Sydney klasifikasyonuna göre değerlendirilmiştir. Buna göre tedavi öncesi ve tedavi sonrası inflamasyon, aktivasyon ve *H. pylori* yoğunluğunda fark anlamlı bulunmuştur. Tedavi öncesi olgulardan sadece 1' inde atrofi (%2.6) ve 6' sında intestinal metaplazi (%15.7) saptanmıştır. Vaka sayısının azlığı nedeniyle atrofi ve intestinal metaplazide açısından istatistiksel değerlendirme yapılamamıştır (Tablo 5).

Tablo 5: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası Sydney Klasifikasyon sonuçları

	Tedavi öncesi	Tedavi sonrası	P
	n=38	n=38	
İnflamasyon	3 (1-3)	2 (1-3)	<0.001
Aktivasyon	2 (0-2)	0 (0-3)	<0.001
HP yoğunluğu	2 (0-3)	1 (0-2)	<0.001

Olguların *H. pylori* eradikasyon tedavisi öncesi ve tedavi sonrası, mide sıvısı serumda; pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyeleri değerlendirilmiştir. *H. pylori* eradikasyon tedavisi sonrası hem mide sıvısında hem de serumda pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerlerinde de anlamlı azalma saptanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6: Tedavi öncesi ve tedavi sonrası mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerleri

		Tedavi öncesi (n=38)	Tedavi sonrası (n=38)	P
Mide Sıvısı	pH	1.71 (0.68-7.37)	1.16 (0.96-1.02)	<0.001
	Nitrat (µg/mL)	18.14±5.46	14.36±5.71	<0.001
	Nitrit	9.88 (2.22-14.28)	6.73 (2.03-15.83)	0.002
	NAs (ng/mL)	211.64 (68.62-652.76)	165.25 (39.05-522.72)	<0.001
Serum	pH	8.13 (7.40-8.53)	8.32 (7.18-8.79)	0.010
	Nitrat (µg/mL)	205.11 (74.82-858.05)	146.20 (61.21-586.51)	<0.001
	Nitrit (µg/mL)	106.77 (51.05-311.98)	77.80 (27.75-255.39)	<0.001
	NAs (ng/mL)	13.85 (2.63-32.51)	10.12 (4.48-22.45)	<0.001

NAs : Nitrosamin

İstatistiksel yöntemle yapılan korelasyon analizlerinde *H. pylori* eradikasyon tedavisi öncesi ve tedavi sonrasında mide biyopsisindeki aktivasyondaki değişimle, mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerlerindeki değişim değerlendirildiğinde sadece mide sıvısı pH, nitrat ve nitrosamin seviyeleri arasında anlamlı pozitif yönlü korelasyon saptandı.

Benzer şekilde *H. pylori* tedavisi sonrası inflamasyondaki değişimle mide sıvısı ve serum pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerlerindeki değişim arasında değerlendirme yapıldığında sadece mide sıvısı nitrat ile anlamlı pozitif yönlü zayıf korelasyon saptandı.

Helicobacter pylori yoğunluğundaki değişim ile mide sıvısında nitrat ve nitrosamin seviyesinde, serumda ise nitrat ve nitritde anlamlı pozitif yönde korelasyon saptandı (Tablo 7).

Tablo 7: Tedavi sonrası aktivasyon, inflamasyon ve H. pylori yoğunluğundaki değişim ile mide sıvısı ve serumdaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerindeki değişimin korelasyonu

		Aktivasyon		İnflamasyon		H. Pylori Yoğunluğu	
		r	p	r	p	r	p
Mide Sıvısı	Ph	0.38	0.018	0.09	0.600	0.24	0.143
	Nitrat (µg/mL)	0.35	0.032	0.33	0.041	0.35	0.029
	Nitrit (µg/mL)	0.25	0.134	0.22	0.177	0.29	0.081
	NAs (ng/mL)	0.36	0.028	0.22	0.192	0.53	0.001
Serum	Ph	0.13	0.424	0.09	0.584	0.08	0.656
	Nitrat (µg/mL)	0.32	0.050	0.18	0.278	0.54	0.001
	Nitrit (µg/mL)	0.18	0.290	0.17	0.034	0.41	0.011
	NAs (ng/mL)	0.30	0.127	0.13	0.500	0.34	0.075

NAs : Nitrosamin

Mide sıvısı pH değişimi ile mide sıvısı nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (sırasıyla $p=0.228$ $r =0.20$; $p=0.102$ $r =0.27$; $p=0.612$ $r =0.09$). Mide sıvısı pH değişimi ile serum nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi arasında anlamlı korelasyon bulunmadı.(sırasıyla $p=0.887$ $r =0.02$; $p=0.696$ $r =0.07$; $p=0.137$ $r =0.29$) (Tablo 8).

Tablo 8: Tedavi sonrası mide sıvısı pH değişimi ile mide sıvısı ve serumdaki nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi arasında korelasyonu

		Mide Sıvısı pH	
		r	p
Mide Sıvısı	Nitrat ($\mu\text{g/mL}$)	0.20	0.228
	Nitrit ($\mu\text{g/mL}$)	0.27	0.102
	NAs (ng/mL)	0.09	0.612
Serum	Nitrat ($\mu\text{g/mL}$)	0.02	0.887
	Nitrit ($\mu\text{g/mL}$)	0.07	0.696
	NAs (ng/mL)	0.29	0.137

NAs : Nitrosamin

Çalışmamıza katılan 38 olgunun mide sıvısı ve serum pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeyleri karşılaştırıldığında nitrit ve nitrosamin de pozitif yönlü zayıf korelasyon saptandı (sırasıyla $r=-0.01$ $p=0.997$; $r=0.22$ $p=0.152$; $r=0.45$ $p=0.002$; $r=0.49$ $p=0.005$).

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori; gram-negatif bir bakteri olup, dünyada ve Türkiye' de en yaygın enfeksiyon etkenidir. Dünya nüfusunun %60' ının bu bakteri ile kolonize olduğu tahmin edilmektedir. Ülkemizde ise *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı %80' ler civarındadır. Gastrit, peptik ülser hastalığı (duodenal ve mide ülseri), fonksiyonel dispepsi, MALT lenfoma gibi hastalıkların en sık etyolojik nedeni olmakla birlikte mide adenokanserlerinin en önemli risk faktörü olarak kabul edilmektedir (30). Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı 1994 yılında *H. pylori*' yi mide kanseri açısından class 1 kanserojen olarak kabul etmiştir (12).

Helicobacter pylori mide kanser ilişkisine ait güçlü kanıtlar, olguların mide kanseri gelişiminden önce alınan örneklerinde *H. pylori* enfeksiyonunun serolojik kanıtına dayalı vaka kontrol çalışmalarından gelmektedir. Bu konuda yapılan metanalizlerden altısının ortak sonucu *H. pylori* enfeksiyonunun mide kanser gelişiminde yaklaşık olarak 2 kat artmış risk ile ilişkili olduğu şeklindedir (65).

Helicobacter pylori' nin mide kanseri etyopatogenezindeki rolü ile ilgili pek çok faktör ileri sürülmüştür. Nitratlı bileşikler mide kanseri etyopatogenezinde suçlanan önemli faktörlerden biridir.

Mide ortamındaki nitrat ve nitrit ile mide kanseri arasında muhtemel bir ilişki olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmektedir (86). Belirli koşullar altında *H. pylori* gibi bakterilerin midede çoğalması nitratın nitrite dönüşmesine ve nitrit konsantrasyonunun yükselmesine sebep olmaktadır (82-88). Nitrit mide içerisinde pH değişiklikleri ile ilişkili olarak aminler ile reaksiyona girerek kanserojen özellikleri bilinen nitroso bileşiklerini oluşturmaktadır. Bu bileşiklerin kanserojen özellikleri yanında toksisite ve mutajenisite gibi diğer potansiyel tehlikeleri de vardır. Söz konusu bileşiklerin insan vücudunda en fazla gastrointestinal sistemde ve özellikle de midede olduğu için mide kanseri oluşumundaki rolünün araştırılması ile ilgili çalışmalar son yıllarda önem kazanmıştır (89-92).

Çalışmamızda *H. pylori* pozitif olan olgularda *H. pylori* tedavisinin serum ve mide sıvısında nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerine etkisi araştırılmıştır. *H. pylori* tedavisi sonrası hem mide sıvısında hem de serumda pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerlerinde de anlamlı azalma saptanmıştır.

Çalışmamızda olgulara H. pylori eradikasyon tedavisi olarak klaritromisin 500 mg tablet 2x1/gün, amoksisilin 1000 mg tablet 2x1/gün ve lansoprazol 30 mg tablet 2x1/gün'den oluşan üçlü tedavi 14 gün süre ile verilmiştir. Helicobacter pylori tedavisinde üçlü tedaviyi protokolü (PPI+Amoksisilin ve klaritromisin) ilk olarak Kasım 2000' de Japonya'da onaylanmıştır. Helicobacter pylori enfeksiyonunun tedavisinde son uzlaşma raporuna gere (Maasstricht IV Konsensus raporu) 7-14 gün süre ile PPI-Klaritromisin-Amoksisilin veya Metronidazol den oluşan tedavi protokolü direnç oranı düşük olan bölgelerde ilk seçenek olarak önerilmektedir (58).

Çalışmamızda bu tedavi protokolüyle yaklaşık 8 hafta sonra H. pylori eradikasyon oranını % 23.7 olarak bulduk. Çalışmamızda tedavi başarısı oldukça düşük bulunmuştur.

Kadayıfçı ve ark.'nın yaptıkları meta analizde 1996 - 2005 yılları arasında standart üçlü tedavi ile yapılmış 94 çalışma incelenmiş, 1996 yılından 2005 yılına kadar eradikasyon oranları sırayla %79.4, %83.7, %81.8, %81.8, %75.1, %61.3, %65.6, %65.1, %55.3 ve %61.1 bulunmuştur (62,167).

Genel kural olarak diğer enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde de olduğu gibi, %90' dan fazla eradikasyon oranı hedeflenmişken, birçok geniş klinik çalışmalar da ortaya koymuş ki, standart üçlü tedavinin eradikasyon oranları %80 altındadır. Bazı Avrupa ülkelerinde bu oran %25-60' lara kadar düşmektedir. Klaritromisin direnci %20 den fazla olan ülkelerde (İspanya, Türkiye, İtalya, Alaska, Çin, Japonya) ise bu oran %85 altına düşmektedir (168).

Helicobacter pylori eradikasyon başarısızlığının önemli nedenleri arasında yaş, sigara içme alışkanlığı, ilaç uyumu, CYP2C19 gen polimorfizmleri, ilaca hassasiyet ve özellikle klaritromisin direncinden etkilenmesine bağlı olabilmektedir (169). Ülkemizdeki yüksek klaritromisin direncinin tedavi başarısındaki düşüklüğün ana nedeni olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda eradikasyon sonrası Sydney klasifikasyonuna göre yapılan değerlendirmede inflamasyon, aktivasyon ve H. pylori yoğunluğunda anlamlı derecede azalma saptanmıştır. Tedavi öncesi olguların endoskopik biyopsilerinin histopatolojik incelemesinde sadece 1'inde (%2.6) atrofi, 6'sında (%15.7)

intestinal metaplazi saptanması nedeniyle tedavinin etkisi istatistiksel olarak değerlendirilememiştir.

Dispeptik hastalarda H. pylori' ye bağlı morfolojik değişikliklerin derecesinin saptanması hastanın takip ve tedavisi açısından önemlidir. Dispeptik hastada H. pylori yoğunluğu arttıkça aktivasyon, inflamasyon ve intestinal metaplazi artmaktadır (170).

Yapılan çalışmalarda H. pylori eradikasyon tedavisi sonrasında çalışmamızdaki bulgularla uyumlu olarak inflamasyon, aktivasyon ve H. pylori yoğunluğunda azalma olduğu gösterilmiştir (171,172). Helicobacter pylori eradikasyon tedavisinin atrofi ve intestinal metaplazi üzerine etkisi konusunda ise literatürde çelişkili sonuçlar bildirilmektedir (173,174).

Nitrosaminlerin en sık bulunduğu organların başında mide gelmektedir. Bu bileşikler mide ortamına gıdalarla alınabileceği gibi uygun koşullarda nitrit ve aminlerin reaksiyonu ile de oluşabilmektedirler (121,122). Ayrıca sigara içiminin de midede nitrosaminleri arttırdığı bilinmektedir. Sigara kullanımı vücuttaki amin miktarını önemli ölçüde arttırmaktadır. Sigara dumanında kanserojen aromatik ve heterosiklik aminler bulunmaktadır (175,176). Daha önceki yapılan çalışmalarda nitrosamin oluşumları ve konsantrasyonları üzerine biyolojik parametrelerin (mide sıvısının pH' ı, cinsiyet ve sigara kullanımı) etkileri araştırılmış ve midedeki nitrosamin oluşumları ve konsantrasyonlarını etkileyen biyolojik parametreler arasında, mide sıvısının pH' ı ve sigara kullanımı, en önemli faktörler olarak bulunmuştur. Mide sıvısı örneklerindeki nitrat, nitrit, sekonder amin ve nitrosamin konsantrasyonları olguların sigara kullanım bilgileri ile karşılaştırılmış ve sigara kullanımı bilgileri ile pH ve nitrit konsantrasyonu dışındaki tüm değişkenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar görülmüştür. Bu çalışmada sigara içen olgulardaki mide sıvısı nitrat ve nitrosamin konsantrasyonlarının sigara içmeyenlere göre 2-3 kat daha fazla olduğu görülmüştür. Sigara içen ve içmeyen olgulardaki pH ve nitrit konsantrasyonları arasındaki istatistiksel olarak fark görülmemiştir (177).

Çalışmamızda sigara içen ve içmeyen olgulardaki pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin konsantrasyonları arasındaki farklılıklar karşılaştırılmış ve sigara içenlerde mide sıvısında sadece nitrosamin düzeyinde anlamlı yükseklik

saptanırken, serum örnekleri incelendiğinde ise nitrat, nitrit ve nitrosamin konsantrasyonlarında anlamlı yükseklik saptanmıştır. Verilerimiz literatürdeki çalışmalarla uyumlu görülmektedir.

Çalışmamızda ayrıca H. pylori eradikasyon tedavisinin sigara içen ve içmeyen olgularda serum ve mide sıvısında nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeylerine etkisi araştırılmıştır.

Sigara içenlerde H. pylori tedavisi sonrasında mide sıvısında nitrosamin düzeylerindeki azalma ortalaması daha yüksek bulunurken, serumda ise nitrat, nitrit ve nitrosamin düzeylerindeki azalma ortalamaları daha yüksek bulunmuştur. Bu sonuca göre sigara içenlerde H. pylori tedavisi nitratlı bileşikler üzerine azaltıcı etkisi sigara içmeyenlere göre daha fazladır. H. pylori ve sigara sinerjistik etki göstererek nitratlı bileşikler ikisinin toplamından daha fazla artırıyor olabilir.

Çalışmamızda VKİ değişimi ile mide sıvısı ve serum pH nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi değerleri karşılaştırıldığında mide sıvısı ve serum nitrat ve nitrosamin düzeylerinde anlamlı pozitif yönlü korelasyon bulunmuştur. Bununla ilgili mide sıvısında literatürde yapılmış çalışma bulunmadık. Fakat serum ile yapılan çalışmalarda serum nitrat oranının VKİ ile pozitif yönlü korelasyon gösterdiği görülmüş. Kesin yargıya varmak içinse daha fazla olgu sayısı ile çalışma yapmak gerekir (178).

Correa ardışık evreleri içeren insan mide karsinogenez modelini önermiştir. Bu model patolojik ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen kanıtlara dayanarak mide karsinogenez aşamalarını kronik gastrit, atrofi, intestinal metaplazi, displazi ve kanser olarak tanımlamıştır (179). Gastrit ve atrofının ilk evreleri aşırı tuz alımı ve H. Pylori enfeksiyonuyla ilişkilendirilmiştir. Bu olaylar zinciri hipoklorhidrinin başlaması ve midenin çeşitli nitrozan bakterilerle kolonizasyonu ile tetiklenmektedir. Nitrozan organizmalar, potansiyel karsinogenik N-nitroso bileşikler oluşturacak şekilde mide sıvısında bulunan nitrit ve diğer organik nitrojen bileşikler arasında bir reaksiyonu katalizleme kapasitesine sahiptir (180,181). Mide sıvısındaki nitrit düzeyleri hipoklorhidri ile artar (182); bu durum muhtemelen mide içindeki bakterilerin gıdalarla alınan nitrattan nitrit üretmesinin bir sonucudur. Alternatif veya ek olarak, bu durum ağız

içindeki bakteriler tarafından nitrattan dönüştürülen nitritin tükürükle yutulmasının sonucu olabilir (183–185). Nitrit mide asidiyle karşılaştığında, askorbik asit tarafından güçlenen bir reaksiyonla hızla nitrik oksit gazına dönüşür. Sonuçta, açken asit pH'daki mide sıvısında nitrit büyük ölçüde saptanamaz düzeydedir. Ancak hipoklorhidri veya aklorhidri varlığında, nitrit stabildir ve çözelti içinde varlığını sürdürür.

Çalışmamızda eradikasyon tedavi öncesi bakılan mide sıvısı pH'ı 1.71 (0.68-7.37) iken tedavi sonrası bakılan mide sıvısı pH'ı ise 1.16 (0.96-1.02) idi ve tedavi sonrasında mide sıvısı pH seviyesinde anlamlı azalma saptanmıştı. Mide sıvısı pH değişimi ile mide sıvısı ve serumdaki nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı korelasyon saptanmasa da *H. pylori* tedavisi sonrasında mide sıvısı pH'ında azalma görülmüştür. Bu azalma ile korele olarak mide sıvısı ve serumda nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerinde azalma olmuştur.

Fukuda ve ark. (186), Asaka ve ark. nın yaptığı iki çalışmada (187,188), ve Kawaguchi ve ark.'ın (189) yaptıkları çalışmalara göre mide içi pH'ı, atrofi derecesi, nitrit konsantrasyonları ve vitamin C konsantrasyonları arasındaki farklar yaşa göre değil *H. pylori* enfeksiyonunun durumuna bağlı olabilir. Çalışmamızda katılan olguların yaş değişimi ile mide sıvısı ve serum pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değişimi değerleri karşılaştırıldığında daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak anlamlı korelasyon saptanmamıştır.

Helicobacter pylori enfeksiyonu nitratlı bileşikleri sadece mide sıvısı içinde değil, aynı zamanda hastanın serumu içinde de artırır. 2011 ağustos ayında yapılan bir çalışmada serum nitrat ve nitrit konsantrasyonunun proksimal midede mutagenез için belirteç olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür. Bu çalışmada mide sıvısındaki nitrat ve nitrit konsantrasyonu ile serum nitrat, nitrit konsantrasyonu ile korele bulunmuştur (190). Çalışmamızda da 38 olgunun serum ve mide sıvısı nitrat ve nitrit düzeyleri karşılaştırıldığında nitrit seviyeleri mide sıvısı ve serumda korele bulunmuştur. Ek olarak çalışmamızda nitrosamin seviyeleri de mide sıvısı ve serumda korele bulunmuştur.

Yapılan çalışmalarda H. pylori pozitif hastalarda mide sıvısında nitratlı bileşiklerde artış olduğu gösterilmiştir (190,191). Ancak, bu kronik bakteriyel enfeksiyonun nitratlı bileşikler üzerine olan etkilerinde hangi mekanizmaları kullandığı belirsizliğini korumaktadır.

Helicobacter pylori enfeksiyonu in vivo ve in vitro koşullarda doku nötrofilleri ve mononükleer hücrelerde iNOS ekspresyonuyla arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (192). Gobert ve ark. (13) iNOS ekspresyonundaki artıştan H. pylori tarafından salınan üreaz enzimini sorumlu tutmuşlardır.

Antimikrobiyal ilaçlarla tedavi ve enfeksiyonun eradikasyonu biyopsi örneklerinde immünohistokimyasal yolla belirlenen iNOS ekspresyonunda anlamlı azalma olduğu gösterilmiştir (193-195). Daha önce yapılan bir çalışmada mide sıvısındaki nitrat ve nitrit konsantrasyonunun H. pylori pozitif olgularda anlamlı düzeyde yükseldiği ve artan nitrat, nitrit oluşumunun H. pylori eradikasyon tedavisinin tamamlanmasından sonra normale geldiği belirtilmişti (196).

Shiotani ve ark'nın yaptıkları çalışmada ise H. Pylori enfeksiyonunun nitrit düzeylerini hem asit sekresyonunda bozulma hem de süperoksit anyonu oluşumunda artışa bağlı olarak arttırdığı ileri sürülmüştür. Bu çalışmada nitrit düzeyleri ile pH ve korpustaki histopatolojik değişiklikler arasında anlamlı korelasyonlar saptanmıştır (197).

Çalışmamızda H. pylori pozitif olan olgularda H. pylori tedavisi sonrası hem mide sıvısında hem de serumda pH, nitrat, nitrit ve nitrosamin değerlerinde de anlamlı azalma saptanmıştır. Bu azalma muhtemelen literatürde de belirtildiği gibi hem mide pH'ındaki azalma, hem de midede inflamasyondaki gerileme sonucunda gerçekleştiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda H. pylori eradikasyon tedavisi sonrası histopatolojik olarak inflamasyon, aktivasyon ve H pylori yoğunluğundaki azalma ile mide sıvısı ve serumdaki nitrat, nitrit ve nitrosamin seviyelerinin bazıları arasında anlamlı pozitif yönlü korelasyon saptanmış olması inflamasyonun mide nitrit bileşikleri üzerine olan etkisini desteklemektedir.

Sonuç olarak bu çalışma ile H. pylori tedavisinin mide kanseri etyolojisinde suçlanan nitrat bileşiklerini azaltarak mide kanseri riskini

azaltabileceği gösterilmiştir. Özellikle sigara içenlerde H. pylori eradikasyonu öncelikli olarak düşünölmelidir.

6. KAYNAKLAR

1. Misiewicz JJ. Helicobacter pylori Past, present and future. Scand J Gastroenterol 1992; 27:25-9
2. Shiotani A, Nurgalieva ZZ, Yamaoka Y, Graham DY. Helicobacter pylori. Med Clin North Am 2000;84:633-40.
3. Editorial: Helicobacter pylori factors associated with disease. Gastroenterol 1999; 117:257-60.
4. Ni YH, Lin JT, Huang SF, Yang JC, Chang MH. Accurate diagnosis of Helicobacter pylori infection by stool antigen test and 6 other currently available tests in children. J of Pediat 2000;36:823-7.
5. Ohkura R, Miwa H, Murai T, Nagahara A, Ohta K, Sato K et al. Usefulness of a novel enzyme immunoassay for the detection of Helicobacter pylori in feces. Scand J Gastroenterol 2000;35:49-53.
6. Howden CW. Clinical expressions of Helicobacter pylori infection. Am J Med 1996;100:27-34.
7. Kusters JG, Kuipers EJ. Bacterial agents and atherosclerosis. Am Heart J 1999; 138:523-7.
8. Vaira D, Malfertheiner P, Megraud F, Axon AT, Deltenre M, Hirschl AM et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection with a new non-invasive antigen based assay. Lancet 1999;354:30-3.
9. Yılmaz M, Aydın A, Urgan M. The relationship between cagA positivity and serum gastrin and TNF- α levels in patients with chronic active gastritis and duodenal ulcer associated with Helicobacter pylori. Turk J Gastroenterol 1999; 10(4):385-90.

- 10.** Peterson WL, Graham DY. Helicobacter pylori. In: Feldman M, Scharschmidt BF, Sleisenger MH (Eds.) Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease Pathophysiology, Diagnosis, Management. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Co; 1998. p.604-17.
- 11.** Crew KD, Neugut AI. Epidemiology of gastric cancer. World J Gastroenterol 2006;12(3): 354-362.
- 12.** Ohkusa T, Fujiki K, Takashimizu I, et al. Improvement in atrophic gastritis and intestinal metaplasia in patients in whom Helicobacter pylori was eradicated. Ann Intern Med 2001;134:380.
- 13.** Alain P. Gobert, Benjamin D. Mersey, Yulan Cheng, Darren R. Blumberg, Jamie C. Newton, and Keith T. Wilson 2 Urease Release by Helicobacter pylori Stimulates Macrophage Inducible Nitric Oxide Synthase 1 J Immunol 2002; 168:6002-6006;
- 14.** Reckelhoff J F, Kellum J A, Blanchard E J, Bacon E E, Wesley A J and Kruckeberg WC (1994) Changes in nitric oxide precursor, L-arginine, and metabolites, nitrate and nitrite, with aging. Life Sciences, 55: 1895-1902.
- 15.** Joossens JV, Hill MJ, Elliott P, et al. Dietary Salt, Nitrate and Stomach Cancer Mortality in 24 Countries. Int J Epidemiol 1996;25:3.
- 16.** El-Rifai W, Frierson HF Jr, Moskaluk CA, et al. Genetic differences between adenocarcinomas arising in Barrett's esophagus and gastric mucosa. Gastroenterology 2001;121:592.
- 17.** Erdem B. Campylobacter ve Helicobacter. In: Ustaçelebi Ş. Mutlu G, İmir T, Cengiz A. T, Tümbay E, Mete Ö, Editors. Temel ve Klinik Mikrobiyoloji, Ankara: Güneş kitabevi 1999:531-547.

- 18.** Stathopoulos P, Zundt B, Spelsberg FW, Kollings L, Diebold J, Goke B et al. Relation of Gallbladder Function and Helicobacter pylori Infection to Gastric Mucosa Inflammation in Patients with Symptomatic Cholecystolithiasis. *Digestion* 2006;73(2-3):69-74.
- 19.** Valle JD. Peptic Ulcer Disease and related disorders. In: Braunwald E, Fauci SA, Kasper LD, Hauser LS, Longo DD, Jameson JL (Eds.). *Harrison's Principles of Internal Medicine* 16th ed. New York: Mc Graw-Hill; 2005. p.1746-52.
- 20.** Karasu Z, Akarca US. Helicobacter pylori ve mide kanser patogenezindeki rolü. *Güncel Gastroenteroloji* 2000;4:8-18.
- 21.** Aydın Y, Ceran F, Ateş Y, Yıldız M. Helicobacter pylori enfeksiyonu. *Progres* 2003;4:123-27.
- 22.** Aspinal GO, Moran AP. Helicobacter pylori lipopolisaccharide structure and mimicry of Lewis blood group antigens. In: Moran AP, O' Morain CA (Eds.). *Pathogenesis and Host Response in Helicobacter Pylori Infections*. Bad Homburg: Normed –Verl; 1997. p.34-42.
- 23.** Alarcon T, Martinez MJ, Urruzuno P, Cilleruelo ML, Madruga D, Sebastian M, et al. Prevalence of CagA and VacA antibodies in children with Helicobacter pylori-associated peptic ulcer compared to prevalence in pediatric patients with active or nonactive chronic gastritis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000; 7: 842-4.
- 24.** Goosen C, Theron J, Ntsala M, Maree FF, Olckers A, Botha SJ, et al. Evaluation of a novel heminested PCR assay based on the pHospHoglucosamine mutase gene for detection of Helicobacter pylori in saliva and dental plaque. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 205-9.
- 25.** Dunn BE, Cohen H, Blaser MJ. Helicobacter pylori. *Clinical Microbiology Reviews* 1997: 720-41.

- 26.** Monteiro L, Gras N, Megraud F. Magnetic immuno-PCR assay with inhibitor removal for direct detection of *Helicobacter pylori* in human feces. *J Clin Microbiol* 2001;39:3778-80.
- 27.** Drumm B, Perez-Perez Gi, Biaser MJ. Intrafamilial clustering of *Helicobacter pylori* infection. *N Eng J Med* 1990; 322:359-63.
- 28.** Kikuchi S, Dore MP. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2005; 10 (Suppl 1): 1-4.
- 29.** Kadayıfci A, Buyukhatipoglu H, Cemil Savas M, Simsek I. Eradication of *Helicobacter pylori* with triple therapy: an epidemiologic analysis of trends in Turkey over 10 years. *Clin Ther.* 2006; 28: 1960-6.
- 30.** Ozden A, Dumlu S, Soylu K ve ark. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun ulkemizde seroepidemiolojisi. *Gastroenteroloji* 1992;3:664-68.
- 31.** İç Hastalıkları Dergisi sayı 18 yıl 2011 Prof. Dr. İlkay ŞİMŞEK, Uzm. Dr. Ömer Burçak BİNİCİER
- 32.** Dunn BE. Pathogenic mechanisms of *Helicobacter pylori*. *Gastroenterol Clin North Am* 1993; 22: 43-57.
- 33.** Censini, S.; Lange, C.; Xiang, Z.; Crabtree, J. E.; Ghiara, P.; Borodovsky, M.; Rappuoli, R.; Covacci, A. Cag, a Pathogenicity Island of *Helicobacter Pylori*, Encodes Type I-Specific and Disease-Associated Virulence Factors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 93, 14648-14653, 1996.
- 34.** Akopyants, N. S.; Taylor, N. S.; Fox, J. G.; Berg, D. E.; Thompson, N.; Shames, B.; Yan, L.; Fontham, E.; Janney, F.; Hunter, F. M.; . Long-Term Colonization With Single and Multiple Strains of *Helicobacter Pylori* Assessed by DNA Fingerprinting. *J. Clin. Microbiol.*, 33, 918-923, 1995.

- 35.** Hocker, M.; Hohenberger, P. Helicobacter Pylori Virulence Factors--One Part of a Big Picture. *Lancet*, 362, 1231-1233, 2003.
- 36.** Yamaoka, Y.; Kita, M.; Kodama, T.; Sawai, N.; Tanahashi, T.; Kashima, K.; Imanishi, J. Chemokines in the Gastric Mucosa in Helicobacter Pylori Infection. *Gut*, 42, 609-617, 1998.
- 37.** Asahi M, Azuma T, Ito S, Ito Y, Suto H, Nagai Y, et al. Helicobacter pylori CagA protein can be tyrosine phosphorylated in gastric epithelial cells. *J Exp Med* 2000; 191: 593-602.
- 38.** Nilsson C, Sillén A, Eriksson L, Strand ML, Enroth H, Normark S, et al. Correlation between cag pathogenicity island composition and Helicobacter pylori-associated gastroduodenal disease. *Infect Immun* 2003; 71: 6573-81.
- 39.** Hatakeyama, M. Helicobacter Pylori Cag A., Bacterial Intruder Conspiring Gastric Carcinogenesis. *Int. J. Cancer*, 119, 1217-1223, 2006.
- 40.** Akopyants, N. S.; Clifton, S. W.; Kersulyte, D.; Crabtree, J. E.; Youree, B. E.; Reece, C. A.; Bukanov, N. O.; Drazek, E. S.; Roe, B. A.; Berg, D. E. Analyses of the Cag Pathogenicity Island of Helicobacter Pylori. *Mol. Microbiol.*, 28, 37-53, 1998.
- 41.** Donati M, Storni E, D'Apote L, Moreno S, Tucci A, Poli L, et al. PCR-based restriction pattern typing of the vacA gene provides evidence for a homogeneous group among Helicobacter pylori strains associated with peptic ulcer disease. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 912-5.
- 42.** Galmiche, A.; Rasso, J.; Doye, A.; Cagnol, S.; Chambard, J. C.; Contamin, S.; de, T., V; Just, I.; Ricci, V.; Solcia, E.; Van, O. E.; Boquet, P. The N-Terminal 34 KDa Fragment of Helicobacter Pylori Vacuolating Cytotoxin Targets Mitochondria and Induces Cytochrome c Release. *EMBO J.*, 19, 6361-6370, 2000.

43. Ashour AA, Collares GB, Mendes EN, de Gusmão VR, Queiroz DM, Magalhães PP, et al. *iceA* genotypes of *Helicobacter pylori* strains isolated from Brazilian children and adults. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1746-50.
44. Pride DT, Meinersmann RJ, Blaser MJ. Allelic variation within *Helicobacter pylori* *babA* and *babB*. *Infect Immun* 2001; 69: 1160-71.
45. Ando T, Wassenaar TM, Peek RM Jr, Aras RA, Tschumi AI, van Doorn LJ, et al. A *Helicobacter pylori* restriction endonuclease-replacing gene, *hrgA*, is associated with gastric cancer in Asian strains. *Cancer Res* 2002; 62: 2385-9.
46. Koehler CI, Mues MB, Dienes H. *pylori*, Kriegsmann J, Schirmacher P, Odenthal M. *Helicobacter pylori* genotyping in gastric adenocarcinoma and MALT lymphoma by multiplex PCR analyses of paraffin wax embedded tissues. *Mol Pathol* 2003; 56: 36-42.
47. Vaira D & Vakil N. Blood, urine, stool, breath, money and *Helicobacter pylori*. *Gut* 2001; 48:287-89.
48. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morain C et al. Current concepts in the management of *H. pylori* infection—the Maastricht 2-2002 consensus report. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16:167-80.
49. 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, Lippincott-Raven, p.15-28, 1997.
50. Kiesslich R, Goetz M, Vieth M et al. Confocal laser endomicroscopy. *Gastrointest Endosc Clin North Am* 2005;15:15-31.

- 51.** Uedo N, Ishihara R, Iiishi H et al. A new method of diagnosing gastric intestinal metaplasia: narrow band imaging with magnifying endoscopy. *Endoscopy* 2006;38: 819-24.
- 52.** Hachem, C. Y.; Clarridge, J. E.; Evans, D. G.; Graham, D. Y. Comparison of Agar Based Media for Primary Isolation of *Helicobacter Pylori*. *J. Clin. Pathol.*, 48, 714-716, 1995.
- 53.** Ricci C, Holton J, Vaira D. Diagnosis of *Helicobacter pylori*: Invasive and non-invasive tests. *Best Practice and Research Clin Gastroenterol* 2007;21: 299-313.
- 54.** Huijsdens XW, Linskens RK, Koppes J, Tang YL, Meuwissen SG, Vandenbroucke-Grauls CM, et al. Detection of *Helicobacter* species DNA by quantitative PCR in the gastrointestinal tract of healthy individuals and of patients with inflammatory bowel disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004; 41: 79-84.
- 55.** Ho B, Marshall BJ. Accurate diagnosis of *H. pylori* . serologic testing. *Gastroenterol Clin North Am* 2000;29:853-62.
- 56.** Zúñiga-Noriega JR, Bosques-Padilla FJ, Pérez-Pérez GI, Tijerina-Menchaca R, Flores-Gutiérrez JP, Maldonado Garza HJ, et al. Diagnostic utility of invasive tests and serology for the diagnosis of *Helicobacter pylori* infection in different clinical presentations. *Arch Med Res* 2006; 37: 123-8.
- 57.** Francesco F, Antonio G. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2007;21(2):325-36.
- 58.** Özdemir M, Baykan M. Dispeptik olgularda *H. pylori* enfeksiyonu tanısında *H. pylori* gaita antijeninin tanı değerinin incelenmesi. *Genel Tıp Derg*;15(2):65-70, 2005.

- 59.** Peter Malfertheiner, Francis Megraud, Colm A O'Morain, John Atherton, Anthony T R Axon, Franco Bazzoli, Gian Franco Gensini, Javier P Gisbert David Y Graham, Theodore Rokkas, Emad M El-Omar, Ernst J Kuipers, The European Helicobacter Study Group (EHSg) Management of Helicobacter pylori infectionthe Maastricht IV/ Florence Consensus Report.
- 60.** Cavallaro LG, Egan B, O'Morain C, Di Mario F. Treatment of Helicobacter pylori infection. *Helicobacter* 2006; 11 (Suppl 1): 36-9.
- 61.** Fischbach L, Evans EL. Meta-analysis: the effect of antibiotic resistance status on the efficacy of triple and quadruple first-line therapies for Helicobacter pylori. *Aliment PHarmacol Ther* 26:343–57, 2007.
- 62.** Kadayıfçı A, Büyükhatipoğlu H, Cemil SM, Şimşek I. Eradication of Helicobacter pylori with triple therapy: an epidemiologic analysis of trends in Turkey over 10 years. *Clin Ther* 2006; 28(11): 1960-66
- 63.** Uygun A, Kadayıfçı A, Safalı M, Ilgan S, Bağcı S. The efficacy of bismuth containing quadruple therapy as a first-line treatment option for Helicobacter pylori. *J Dig Dis* 2007; 8(4): 211-15
- 64.** Uygun A, Kadayıfçı A, Yesilova Z, Safalı M, Ilgan S, Karaeren N. Comparison of sequential and standard triple-drug regimen for Helicobacter pylori eradication: a 14-day, open-label, randomized, prospective, parallel-arm study in adult patients with nonulcer dyspepsia. *Clin Ther* 2008; 30: 528-34.
- 65.** Chang YW, Jang JY, Kim NH, Lee JW, Lee HJ, Jung WW, et al. Interleukin-1B (IL-1B) polymorphisms and gastric mucosal levels of IL-1beta cytokine in Korean patients with gastric cancer. *Int J Cancer* 2005; 114: 465-71.
- 66.** Abbruzzese JL. *Gastrointestinal Oncology. Pathology and Natural History of Gastric Cancer.* Oxford University Press, Inc, 2004, Chapter 23.

- 67.** Correa P. Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process. First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Res* 1992;52: 6735-6740.
- 68.** Mera R, Fontham ET, Bravo LE, et al. Long term follow up of patients treated for *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 2005;54:1536
- 69.** Forman D. *Helicobacter* and Cancer Collaborative Group. Gastric cancer and *Helicobacter pylori*: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut* 2001; 49: 347-353.
- 70.** Crowe SE. *Helicobacter* infection, chronic inflammation, and the development of malignancy. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21:32.
- 71.** Huang JQ, Zheng GF, Sumanac K, et al. Metaanalysis of the relationship between *cagA* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology* 2003;125:1636-1644.
- 72.** Beales ILP, Davey NJ, Pusey CD, et al. Long-term sequelae of *Helicobacter pylori* gastritis [Letter]. *Lancet* 346: 381-82, 1995.
- 73.** Ruiz B, Correa P, Fontham ETH, Ramakrishnan T. Antral atrophy, *Helicobacter Pylon*, colonization and gastric pH. *Am J Clin Pathol*, 105:96- 101. 1996.74 .
- 74.** Blanchard TG, Czinn SJ. Review article: immunological determinants that may effect the *Helicobacter pylori* cancer risk. *Aliment Pharmacol Ther* 12 (Suppl 1): 83a, 1998.
- 75.** Stemmermann G, Heffelfinger SC, Noffsinger A, et al: The molecular biology of esophageal and gastric cancer and their precursors: oncogenes, tumor suppressor genes and growth factors. *Hum Pathol* 25:968-81, 1994.

- 76.** Forne M, Dominguez J, Banares FF, Lite J, Esteve M, Gali N, et al. Accuracy of an enzyme immunoassay for the detection of *Helicobacter pylori* in stool specimens in the diagnosis of infection and posttreatment check-up. *Am J Gastroenterol* 95:2200-5, 2000.
- 77.** Singhal R S and Kulkarni P R (2004) Preservatives: Permitted Preservatives; Nitrate and Nitrite. *Encyclopedia of Food Microbiology*, 7: 1762-1769.
- 78.** Cammack R, Joannou C L, Cui X Y, Martinez C T, Maraj S R and Hughes M N (1999) Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1411: 475-488.
- 79.** Xu J, Xu X and Verstraete W (2001) Quantitative measurement of the nitrate reductase activity in the human oral cavity. *Food and Chemical Toxicology*, 39: 393-400.
- 80.** Granli T, Dahl R, Brodin P and Bockman O C (1989) Nitrate and nitrite concentrations in human saliva: Variations with salivary flow-rate. *Food and Chemical Toxicology*, 27:675-680.
- 81.** Honikel K O (2008) The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78: 68-76.
- 82.** Ellis G, Adatia I, Yazdanpanah M and Makela S K (1998) Nitrite and Nitrate Analyses: A Clinical Biochemistry Perspective. *Clinical Biochemistry*, 31: 195-220.
- 83.** Chow C K and Hong C B (2002) Dietary vitamin E and selenium and toxicity of nitrite and nitrate. *Toxicology*, 180: 2, 195-207.
- 84.** Govoni M, Jansson E A, Weitzberg E and Lundberg J O (2008) The increase in plasma nitrite after a dietary nitrate load is markedly attenuated by an antibacterial mouthwash. *Nitric Oxide*, 19: 333-337.

- 85.** Raat Nicolaas J H, NoguchivAudrey C, Liu Virginia B, Raghavachari N ,Liu D, Xu X, Shiva S, Munson Peter J and Gladwin Mark T (2009) Dietary nitrate and nitrite modulate blood and organ nitrite and the cellular ischemic stress response. *Free Radical Biology and Medicine*, 47: 510-517.
- 86.** Hamilton J P and Meltzer S J (2006) A Review of the Genomics of Gastric Cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4: 416-425.
- 87.** Sobko T, Reinders C I, Jansson E A, Norin E, Midtvedt T and Lundberg J O (2005) Gastrointestinal bacteria generate nitric oxide from nitrate and nitrite. *Nitric Oxide*, 13: 272-278.
- 88.** Janulaityte-Günther D, Kupcinskas L, Pavilonis A, Valuckas K, Andersen L P and Wadström T (2005) Helicobacter pylori antibodies and gastric cancer: a genderrelated difference. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 44: 191-195.
- 89.** Stemmermann G N and Mower H (1982) Gastritis, nitrosamines and gastric cancer. *Acta Endoscopica*, 12: 171-175.
- 90.** Gangolli S D, Brandt P A van den, Feron V J, Janzowsky C, Koeman J H, Speijers G JA, Spiegelhalter B, Walker R and Wishnok J S (1994) Nitrate, nitrite and N-nitroso compounds. *European Journal of PHarmacology: Environmental Toxicology and PHarmacology*, 292: 1-38.
- 91.** Dallinga J W, Pachen D M F A, Lousberg A H P J, van Geel A M, Houben G M P R, Stockbrügger W van Maanen J M S and Kleinjans J C S (1998) Volatile Nnitrosamines in gastric juice of patients with various conditions of the gastrointestinal tract determined by gas chromatographHy–mass spectrometry and related to intragastric pH and nitrate and nitrite levels. *Cancer Letters*, 124: 2, 119-125.

- 92.** Jo C, Ahn H J, Son J H, Lee J W and Byun M W (2003) Packaging and irradiation effect on lipid oxidation, color, residual nitrite content, and nitrosamine formation in cooked pork sausage. *Food Control*, 14: 7-12.
- 93.** Granger D L, Taintor R R, Boockvar K S and Hibbs Jr J B (1996) Measurement of nitrate and nitrite in biological samples using nitrate reductase and Griess reaction. *Methods in Enzymology*, 268: 142-151.
- 94.** Monaghan J M, Cook K, Gara D, Crowther D (1997) Determination of nitrite and nitrate in human serum. *Journal of Chromatography A*, 770: 143-149.
- 95.** Guevara I, Iwanejko J, Dembińska-Kiec A, Pankiewicz J, Wanat A, Anna P, Gołabek I, Bartuś S, Malczewska-Malec M and Szczudlik A (1998) Determination of nitrite /nitrate in human biological material by the simple Griess reaction. *Clinica Chimica Acta*, 274: 177-188.
- 96.** Romitelli F, Angelo S, Chierici S E, Pitocco D, Tavazzi B, Amorini A M, Lazzarino Gand Stasio E D (2007) Comparison of nitrite/nitrate concentration in human plasma and serum samples measured by the enzymatic batch Griess assay, ion-pairing H. pylori LC and ion-trap GC–MS: The importance of a correct removal of proteins in the Griess assay. *Journal of Chromatography B*, 851: 257-267.
- 97.** Tsikas D, Thumb T, Becker T, PHama V V, Chobanyan K, Mitschke A, BeckmannaGutzki F M, Bauersachs J and Stichtenoth D O (2007) Accurate quantification of dimethylamine (DMA) in human urine by gas chromatography-mass spectrometry as pentafluorobenzamide derivative: Evaluation of the relationship between DMA and its precursor asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease. *Journal of Chromatography B*, 851: 229-239.

- 98.** Li Hui, Meininger C J and W Guoyao (2000) Rapid determination of nitrite by reversed-phase high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 746: 199-207.
- 99.** Wada M, Ikehata T Yoshida Y Kuroda N and Nakashima K (1998) A Simple and Selective Monitoring Method for Nitric Oxide Capturing Ability by *H. pylori* LC Fluorescence Detection with 2,3-Diaminonaphthalene as a Fluorogenic Reagent. *Analytical Sciences*, 14.
- 100.** Carre M C, Mahieux B Andre J C and Viriot M L (1999) Fluorimetric nitrite analysis using 2,3-diaminonaphthalene: an improvement of the method. *Analisis*, 27: 835-838.
- 101.** Fernandez-Cancio M, Fernandez-Vitos E M, Centelles J J and Imperial S (2001) Sources of interference in the use of 2,3-diaminonaphthalene for the fluorimetric determination of nitric oxide synthase activity in biological samples. *Clinica Chimica Acta*, 312:205-212.
- 102.** Jobgen W S, Jobgen S C, Li H, Meininger C J and Wu G (2007) Analysis of nitrite and nitrate in biological samples using high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 851: 71-82.
- 103.** Tsikas D (2000) Simultaneous Derivatization and Quantification of the Nitric Oxide Metabolites Nitrite and Nitrate in Biological Fluids by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 72: 4064-4072.
- 104.** Helmke S M and Duncan M W (2007) Measurement of the NO metabolites, nitrite and nitrate, in human biological fluids by GC-MS. *Journal of Chromatography B*, 851:83-92.
- 105.** Goodsell DS. The molecular perspective: nicotine and nitrosamines. *Oncologist*. 2004; 9: 353-4.

- 106.** Zeisel SH, DaCosta KA. Increase in human exposure to methylamine precursors of N-nitrosamines after eating fish. *Cancer Res.* 1986; 46: 6136-8.
- 107.** Ziebarth D, Spiegelhalder B, Bartsch H. N-nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastro-intestinal tract, including *Helicobacter pylori*. *Carcinogenesis.* 1997; 18: 383-9.
- 108.** Dallinga JW, Pachen DM, Lousberg AH, van Geel JA, Houben GM, Stockbrugger RW, van Maanen JM, Kleinjans JC. Volatile N-nitrosamines in gastric juice of patients with various conditions of the gastrointestinal tract determined by gas chromatography-mass spectrometry and related to intragastric pH and nitrate and nitrite levels. *Cancer Lett.* 1998; 124: 119-25.
- 109.** Calmels S, Ohshima H, Henry Y, Bartsch H. Characterization of bacterial cytochrome cd(1)-nitrite reductase as one enzyme responsible for catalysis of nitrosation of secondary amines. *Carcinogenesis.* 1996; 17: 533-6.
- 110.** Harford WV, Barnett C, Lee E, Perez-Perez G, Blaser MJ, Peterson WL. Acute gastritis with hypochlorhydria: report of 35 cases with long term follow up. *Gut.* 2000; 47: 467-72.
- 111.** Gledhill T, Leicester RJ, Addis B, Lightfoot N, Barnard J, Viney N, Darkin D, Hunt RH. Epidemic hypochlorhydria. *Br Med J (Clin Res Ed).* 1985; 290:1383-6.
- 112.** Jalving M, Koornstra JJ, Wesseling J, Boezen HM, DE Jong S, Kleibeuker JH. Increased risk of fundic gland polyps during long-term proton pump inhibitor therapy. *Aliment Pharmacol Ther.* 2006; 24: 1341-8.

- 113.** Watt PC, Sloan JM, Donaldson J, Campbell G, Kennedy TL. Relation between gastric histology and gastric juice pH and nitrite and N-nitroso compound concentrations in the stomach after surgery for duodenal ulcer. *J Clin Pathol.* 1984; 37: 511-5.
- 114.** Sierra R, Chinnock A, Ohshima H, Pignatelli B, Malaveille C, Gamboa C, Teuchmann S, Munoz N, Bartsch H. In vivo nitrosoproline formation and other risk factors in Costa Rican children from high- and low-risk areas for gastric cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1993; 2: 563-8.
- 115.** Goodsell DS. The molecular perspective: nicotine and nitrosamines. *Oncologist.* 2004; 9: 353-4.
- 116.** Beland FA, Poirier MC. Significance of DNA adduct studies in animal models for cancer molecular dosimetry and risk assessment. *Environ Health Perspect.* 1993; 99: 5-10.
- 117.** Hecht SS, Young R. Metabolic alpha-hydroxylation of N-nitrosomorpholine and 3,3,5,5-tetradeutero-N-nitrosomorpholine in the F344 rat. *Cancer Res.* 1981; 41: 5039-43.
- 118.** Castonguay A, Foiles PG, Trushin N, Hecht SS. Study of DNA methylation by tobacco-specific N-nitrosamines. *Environ Health Perspect.* 1985; 62: 197-202.
- 119.** Goldman R, Shields PG. Food mutagens. *J Nutr.* 2003;133: 965S-973S.
- 120.** Hoffmann D, Castonguay A, Rivenson A, Hecht SS. Comparative carcinogenicity and metabolism of 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone and N'-nitrosornicotine in Syrian golden hamsters. *Cancer Res.* 1981; 41: 2386-93.

- 121.** Hecht SS, Chen CB, Ohmori T, Hoffmann D. Comparative carcinogenicity in F344 rats of the tobacco-specific nitrosamines, N'-nitrosonornicotine and 4-(N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanone. *Cancer Res.* 1980;40: 298-302.
- 122.** Stemmermann G N and Mower H (1982) Gastritis, nitrosamines and gastric cancer. *Acta Endoscopy*, 12: 171-175.
- 123.** Vermeer I T M (2002) Intra-gastric volatile N-nitrosamines, nitrite, pH, and *Helicobacter pylori* during long-term treatment with omeprazole. *Gastroenterology*, 3: 517-25.
- 124.** StepHany R W and Schuller P L (1980) Daily dietary intakes of nitrates, nitrite and volatile N-nitrosamines in the Netherland using the duplicate portion sampling technique. *Oncology*, 37: 203–210.
- 125.** Walters C L and Smith P L R (1981) The effect of water-borne nitrate on salivary nitrite. *Food and Chemical Toxicology*, 19: 297-302.
- 126.** Al-Mamary M, Al-Habori M, Al-Shoaibi Z and Shamsan B (2006) Nitrosamine formation from different *Catha edulis* leaves extracts under simulated gastric condition. *Food Chemistry*, 97: 586-590.
- 127.** Mirvish S S (1983) The etiology of gastric cancer: Intra-gastric nitrosamide formation and other theories. *Journal of National Cancer Institute*, 71: 631-647.
- 128.** Bartsch J M and Spiegelhander B (1996) Environmental exposure to N-nitroso compounds (NNOC) and precursors: an overview. *European Journal of Cancer Prevention*, 5:11-17.

- 129.** Dallinga J W, Pachen D M F A, Lousberg A H P J, van Geel A M, Houben G M PR, Stockbrügger W van Maanen J M S and Kleinjans J C S (1998) Volatile N-nitrosamines in gastric juice of patients with various conditions of the gastrointestinal tract determined by gas chromatography–mass spectrometry and related to intragastric pH and nitrate and nitrite levels. *Cancer Letters*, 124: 2, 119-125.
- 130.** Krul C A, Zeilmaier M J, Schothorst RC, Havenaar R. *Food Chem Toxicol.* 2004 Jan;42(1):51-63. PMID:14630130
- 131.** Leaf C D, Wishnok J S and Tannenbaum S R (1991) Endogenous incorporation of nitric oxide from L-arginine into N-nitrosomorpholine stimulated by Escherichia coli lipopolysaccharide in the rat. *Carcinogenesis*, 12: 537-539.
- 132.** M. J. Hill, G. Hfawaksworth R-U G. Tattersall Frano the Department of Bacteriology. St Mary's Hospital Medical School.London W2 1PG and the Medical Officer of Health, Wforksop Received 15 August 1972, Aeptd 18 August 1973.
- 133.** Rywotycki R (2003) Meat nitrosamine contamination level depending on animal breeding factors. *Meat Science*, 65: 669-676.
- 134.** Byun M-W, Ahn H-J, Kim J-H, Lee J-W, Yook H-S and Han S-B (2004) Determination of volatile N-nitrosamines in irradiated fermented sausage by gas chromatography coupled to a thermal energy analyzer. *Journal of Chromatography A*, 1054: 403-407.
- 135.** Magee P N (1971) Toxicity of nitrosamines: Their possible human health hazards. *Food and Cosmetics Toxicology*, 9: 207-218.

- 136.** Mitacek E J, Brunnemann K D, Suttajit M, Martin N, Limsila T, Ohshima and Caplan L S (1999) Exposure to N-Nitroso Compounds in a Population of High Liver Cancer Regions in Thailand: Volatile Nitrosamine (VNA) Levels in Thai Food. *Food and Chemical Toxicology*, 37: 297-305.
- 137.** Proksch E (2001) Review, Toxicological evaluation of nitrosamines in condoms. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 204: 103-110.
- 138.** Hoffmann D, Rivenson A, and Hecht S S (1996). The biological significance of tobaccospecific N-nitrosamines: smoking and adenocarcinoma of the lung. *Critical Reviews in Toxicology*, 26: 199-211
- 139.** Hecht S S (1999) DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines. *Mutation Research*, 424: 127–142.
- 140.** Dario C, Cristina N Anna A Angela B Marco T and Re A A M D (1996) N-Nitrosation of Triazines in Human Gastric Juice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44:2852-2855.
- 141.** Stiborava M, Schmeiser H H, Wiessler M and Frei E (1999) Direct evidence for the formation of deoxyribonucleotide adducts from carcinogenic N-nitroso-Nmethylaniline revealed by the ³²P-postlabeling technique. *Cancer Letters*, 138: 61-66.
- 142.** Craddock V M and Magee P N (1963) Reaction of the carcinogen dimethylnitrosamine with nucleic acids in vivo. *Journal of Biochemistry*, 89: 32–37.
- 143.** Swann P F and Magee P N (1971) Nitrosamine-induced carcinogenesis. The alkylation of N-7 of guanine of nucleic acids of the rat by diethylnitrosamine, N-ethyl-Nnitrosourea and ethyl methanesulphonate. *The Journal of Biochemistry*, 125: 841–847.

- 144.** Loeppky R N, Yu L, Gu F and Ye Q (1996) DNA Guanine Adducts from 3-Methyl-1,2,3-oxadiazolinium Ions. *Journal of the American Chemical Society*, 118: 10995-11005.
- 145.** Snyder C M, Farrelly J G and Lijinsky W (1977) Metabolism of Three Cyclic Nitrosamines in Sprague Dawley Rats. *Cancer Research*, 37: 3530-3532.
- 146.** Hecht S S (1999) DNA adduct formation from tobacco-specific N-nitrosamines. *Mutation Research*, 424: 127–142.
- 147.** Swann P F, Graves R J and Mace R (1987) Effect of ethanol on nitrosamine metabolism and distribution: Implications for the role of nitrosamines in human cancer and for the influence of alcohol consumption on cancer incidence. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 186: 261-267.
- 148.** Tricker A R and Preussmann R (1991b) Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanism and carcinogenic potential. *Mutat. Research*, 259: 277-289.
- 149.** Lakritz L and Pensabene J W (1981) Survey of Fluid and Nonfat Dry Milks for Nitrosamines. *Journal of Dairy Science*, 64: 371-374.
- 150.** Tricker A R, Siddiqi M and Preussmann R (1988) Occurrence of volatile N-nitrosamines in dried chillies. *Cancer Letters*, 3: 271-273.
- 151.** Dallinga J W, Pachen D M F A, Lousberg A H P J, van Geel A M, Houben G M P R, Stockbrügger W van Maanen JMS and Kleinjans JCS (1998). Volatile Nnitrosamines in gastric juice of patients with various conditions of the gastrointestinal tract determined by gas chromatography–mass spectrometry and related to intragastric pH and nitrate and nitrite levels. *Cancer Letters*, 124: 2, 119-125.

- 152.** Al-Mamary M, Al-Habori M, Al-Shoaibi Z and Shamsan B (2006) Nitrosamine formation from different *Catha edulis* leaves extracts under simulated gastric condition. *Food Chemistry*, 97: 586-590.
- 153.** Binato M, Krueel Schmidt M, Silveira Volkweis B, Behrend Silva Ribeiro G, Isabel Edelweiss M and Ricachenevsky Gurski R (2008) Mouse Model of Diethylnitrosamine-Induced Gastric Cancer. *Journal of Surgical Research*, 148: 152-157.
- 154.** Dadük Y (2006) Mide Kanserinde Totalsialik Asit, Glutasyon, Malondialdehit Seviyeleri ve Bu Parametrelerin Birbiriyle ve Kanser Evresi ile İlişkinin İncelenmesi. Uzmanlık Tezi.
- 155.** Farinati F, Lima V, Naccarato R and Garro A J (1989) Mutagenic activity in gastric juice and urine of subjects with chronic atrophic gastritis, gastric epithelial dysplasia and gastric cancer. *Cancer Letters*, 48: 169-175.
- 156.** Terry M B, Gaudet M M and Gammon M D (2002). The epidemiology of gastric cancer. *Seminars in Radiation Oncology*, 12: 111-127.
- 157.** Hamilton J P and Meltzer S J (2006) A Review of the Genomics of Gastric Cancer. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 4: 416-425.
- 158.** Cohen A J and Roe F J C (1997) Evaluation of the aetiological role of dietary salt exposure in gastric and other cancers in humans. *Food and Chemical Toxicology*, 35: 271-293.
- 159.** Shiotani A, Iishi H, Kumamoto M and Nakae Y (2004) *Helicobacter pylori* infection and increased nitrite synthesis in the stomach Inflammation and atrophy connections. *Digestive and Liver Disease*, 36: 327-332.

- 160.** International Agency for Research on Cancer (IARC) (2007) Monographs on The Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans⁸⁹, Smokeless Tobacco and Some Tobacco-Specific N-Nitrosamines. Lyon, France.
- 161.** Lochhead P and El-Omar E M (2007) Helicobacter pylori infection and gastric cancer. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology, 21: 281-297.
- 162.** Andrews A W, Lijinsky W and Snyder S W (1984) Mutagenicity of amine drugs and their products of nitrosation. Mutation Research, 135: 105-108.
- 163.** Aiub C A, Pinto L F and Felzenszwalb I (2003) N-nitrosodiethylamine mutagenicity at low concentrations. Toxicology Letters, 145: 36-45.
- 164.** Sheweita S A and Mostafa M H (1996) Nitrosamines and their effects on the level of glutathione, glutathione reductase and glutathione S-transferase activities in the liver of male mice. Cancer Letters, 99: 29-34.
- 165.** Farombi E O, Shrotriya S and Surh Y J (2009) Kolaviron inhibits dimethyl nitrosamine-induced liver injury by suppressing COX-2 and iNOS expression via NF- κ B and AP-1. Life Sciences, 84: 149-155.
- 166.** Dixon, M. F. , Path, F.R.C., Genta, R. M., Yardley, J. H., Correa, P.: Classification and Grading of Gastritis: The Updated Sydney System, Am.J. Surg. Pathol., 20(10):1161-1181, 1996.
- 167.** Gülseren SEVEN, Ali ÖZDEN Helikobakter pilori'nin klaritromisine karşı kazandığı dirençteki artış stabilite mi kazanmakta? Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Gastroenteroloji Bilim Dalı, Ankara, 15.10.2010
- 168.** Chuah SK, Tsay FW, Hsu PI, Wu DC. A new look at anti- Helicobacter pylori therapy. World Journal of Gastroenterol 2011;21;17: 3971-75.

- 169.** Sasaki M, Ogasawara N, Utsumi K, Kawamura N, Kamiya T, Kataoka H, Tanida S, Mizoshita T, Kasugai K, Joh T. Changes in 12-Year First-Line Eradication Rate of *Helicobacter pylori* Based on Triple Therapy with Proton Pump Inhibitor, Amoxicillin and Clarithromycin. *J Clin Biochem Nutr* 47(1):53-8, 2010.
- 170.** Turkyay C, Erbayrak M, Bavbek N, et al. *Helicobacter pylori* and histopathological findings in patients with dyspepsia. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 122-7.
- 171.** Kyzekova J, Mour J. The Effect Of Eradication Therapy On Histological Changes In The Gastric Mucosa In Patients With Non Ulcer Dyspepsia and *Helicobacter Pylori* Infection Prospective Randomized Study. *Hepatogastroenterology*. 1999 May-Jun;46(27):2048-56.
- 172.** Kyzeková J. Effect Of Eradication Treatment On Histological Changes Of The Gastric Mucosa In Patients With Non-Ulcer Dyspepsia And *Helicobacter Pylori* Infection. Randomized Prospective Study. *Vnitr Lek*. 1999 Feb;45(2):90-6.
- 173.** Kilciler G, Polat Z, Uygun A, et al. The effect of *Helicobacter pylori* eradication on atrophic gastritis and intestinal metaplasia. *J Clin Anal Med* 2011;2: 17-20.
- 174.** Uyanıkoğlu A, Davutođlu C, Togan M, Gultepe I. Ranitidin bizmut sitrat ve klaritromisin ile alternatif *Helicobacter pylori* tedavisi. *İstanbul Tip Derg* 2008; 71: 61-4.
- 175.** Singer G M, Chuan J, Roman J, Min-Hsin L and Lijinsky W (1986) Nitrosamines and nitrosamine precursors in foods from Linxian, China, a high incidence area for esophageal cancer. *Carcinogenesis*, 5: 733-736.

- 176.** Saha S, Mistri R and Ray B C (2009) Rapid and sensitive method for simultaneous determination of six carcinogenic aromatic amines in mainstream cigarette smoke by liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1216: 3059-306.
- 177.** Şevket ATA, Doç. Dr. Mehmet AKYÜZ Biyolojik, Gıda Ve Çevre Örneklerindeki Nitrit, Nitrat, Sekonder Amin Ve Nitrozaminler. Zonguldak Karaelmas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Doktora tezi Şubat 2010, 3.
- 178.** Takahashi H, Nakanishi T, Nishimura M, Tanaka H, Yoshimura M. Measurements of serum levels of nitrate ions in men and women: implications of endothelium-derived relaxing factor in blood pressure regulation and atherosclerosis. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1992;20 Suppl 12:S214-6.
- 179.** Correa P: Human gastric carcinogenesis: a multistep and multifactorial process-first American cancer society award lecture on cancer epidemiology and prevention. *Cancer Res* 52: 6735–6740, 1992.
- 180.** Ziebarth D, Spiegelhalder B, Bartsch H: N -Nitrosation of medicinal drugs catalysed by bacteria from human saliva and gastrointestinal tract, including *Helicobacter pylori*. *Carcinogenesis* 18: 383–389, 1997.
- 181.** Xu GP, Reed PI: N -Nitroso compounds in fresh gastric juice and their relation to intragastric pH and nitrite employing an improved analytical method. *Carcinogenesis* 14:2547–2551, 1993.
- 182.** Ruddell WSJ, Bone ES, Hill MJ, Blendis LM, Walters CL: Gastric juice nitrite: a risk factor for cancer in the hypochlorhydric stomach. *Lancet* 2: 1037–1039, 1976.

183. Mowat C, Carswell A, Wirz A, McColl KEL: Omeprazole and dietary nitrate independently affect levels of vitamin C and nitrite in gastric juice. *Gastroenterology* 116:813–822, 1999.

184. Tannenbaum SR, Weisman M, Fett D: The effect of nitrate intake on nitrite formation in human saliva. *Food Cosmet Toxicol* 14: 549–552, 1976. Spiegelhalder B, Eisenbrand G, Preussman R: Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to the in vitro formation of N-nitroso compounds. *Food Cosmet Toxicol* 14:545–548, 1976.

185. Spiegelhalder B, Eisenbrand G, Preussman R: Influence of dietary nitrate on nitrite content of human saliva: possible relevance to the in vitro formation of N-nitroso compounds. *Food Cosmet Toxicol* 14: 545–548, 1976.

186. Fukuda H, Saito D, Hayashi S, Hisai H, Ono H, Yoshida S, Oguro Y, Noda T, Sato T, Katoh M, Terada M, Sugimura T: Helicobacter pylori infection, serum pepsinogen level and gastric cancer: a case-control study in Japan. *Jpn J Cancer Res* 86:64–71, 1995.

187. Asaka M, Kato M, Kudo M, Katagiri M, Nishikawa K, Yoshida J, Takeda H, Miki K: Relationship between Helicobacter pylori infection, atrophic gastritis and gastric carcinoma in a Japanese population. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 7(suppl 1): s7–s10, 1995.

188. Asaka M, Kimura T, Kudo M, Takeda H, Mitani S, Miyazaki T, Miki K, Graham DY: Relationship of Helicobacter pylori to serum pepsinogen in an asymptomatic Japanese population. *Gastroenterology* 102:760–766, 1992.

189. Kawaguchi H, Haruma K, Komoto K, Yoshihara M, Sumii K, Kajiyama G: Helicobacter pylori infection is the major risk factor for atrophic gastritis. *Am J Gastroenterol* 91: 959–962, 1996.

190.Hiroshi Kishikawa, Jiro Nishida, Hitoshi Ichikawa, Shogo Kaida , Takashi Matsukubo, Soichiro Miura,Tetsuo Morishita, Toshifumi Hibi :Marker for Mutagenesis of the Proximal Stomach. Digestion 2011; 84: 62–6968.

191. Ateş M. Helicobacter pylori pozitif olgularda tedavi öncesi ve sonrası mide sıvısı ve serumda nitrik oksit düzeylerinin karşılaştırılması. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık tezi 2002

192. Shapiro KB, Hotchkiss JH. Induction of nitric oxide synthesis in murine macrophages by Helicobacter pylori. Cancer Lett 1996;102:49–56.

193. Tsuji S, Kawano S, Tsujii M, Takei Y, Tanaka M, Sawaoka H, et al. Helicobacter pylori extract stimulates inflammatory nitric oxide production. Cancer Lett 1996;108:195–200.

194. Mannick EE, Bravo LE, Zarama G, Realpe JL, Zhang XJ, Ruiz B, et al. Inducible nitric oxide synthase, nitrotyrosine, and apoptosis in Helicobacter pylori gastritis: Effect of antibiotics and antioxidants. Cancer Res 1996; 56: 3238–43.

195. Fu S, Ramanujam KS, Wong A, Fantry GT, Drachenberg CB, James SP, et al. Increased expression and cellular localization of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase 2 in Helicobacter pylori gastritis. Gastroenterology 1999;116:1319–29.

196. Shiotani A, Yanaoka K, Iguchi M, Saika A, Itoh H, Nishioka S. Helicobacter pylori-infection reduces intraluminal nitric oxide in humans. J Gastroenterol 1999;34: 668–74.

197. A. Shiotani, H. Iishi, M. Kumamoto, Y. Nakae Helicobacter pylori infection and increased nitrite synthesis in the stomach Inflammation and atrophy connections Digestive and Liver Disease 36 (2004) 327–332.

7. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



T.C.
ZONGULDAK KARAELMASÜNİVERSİTESİ
Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı

20

TOPLANTI TARİHİ : 28/03/2012

TOPLANTI NO : 2012/07

KARARLAR :

- 3- ZKÜ Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Selim AYDEMİR'in sorumluluğunda yapılacak olan 2012-44-20/03 Protokol no'lu "Helicobacter Pylori Enfeksiyonunun Serum ve Mide Sıvısı Nitrat, Nitrit ve Nitrosamin Seviyelerine Etkisi" konulu çalışmanın Etik Kurallara uygunluğuna,

Oy birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

Doç. Dr. Banu DOĞAN GÜN
ZKÜ Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanı