

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

H.pylori(+) PEPTİK ÜLSERLİ HASTALARDA
ENDOTOKSİN ve DNA
HASAR SEVİYESİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İslim GÜLER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR

ŞANLIURFA

2019

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

H.pylori(+) PEPTİK ÜLSERLİ HASTALARDA
ENDOTOKSİN ve DNA
HASAR SEVİYESİNİN İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İslim GÜLER

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR

Bu tez hiçbir kurum tarafından desteklenmemiştir.

ŞANLIURFA

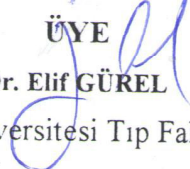
2019

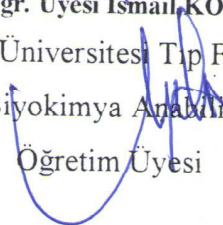
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

İslim GÜLER'in hazırladığı "*H.pylori* (+) Peptik Ülserli Hastalarda Endotoksin ve DNA Hasar Seviyesinin İncelenmesi" konulu çalışma, 21.06.2019 tarihinde jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

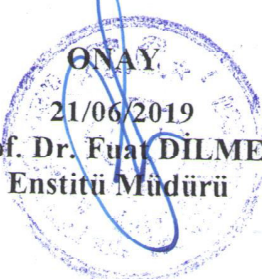

BAŞKAN

Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR (Danışman)
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

ÜYE

Prof. Dr. Elif GÜREL
İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

ÜYE
Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU
Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Öğretim Üyesi

Harran üniversitesi sağlık bilimleri enstitüsü yönetim kurulunun 27/06/2019 tarih ve 2019/11/26 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

ONAY
21/06/2019
Prof. Dr. Fuat DİLMEÇ
Enstitü Müdürü


TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitim sürecimin sonlarında tanıştığım ancak her zaman yanımda olan, maddi manevi desteklerini esirgemeyen, bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım ve bütün samimiyetini hissettiğim çok değerli hocam Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR'a

Tezimin planlanması ve yürütülmesinde maddi desteğini gördüğüm, hocam Dr. Öğr. Üyesi İsmail KOYUNCU'ya ve diğer hocalarıma,

Hayatım boyunca yanımda olup bana hep destek veren, her zaman huzur içinde olmamı sağlayan kocaman aileme, her türlü fedakârlığı gösteren sevgili babam Ömer GÜLER ve canım annem Azize GÜLER'e en içten teşekkürlerimi sunuyorum.

İslim GÜLER
2019

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ	iv
TABLOLAR DİZİNİ	v
GRAFİKLER DİZİNİ	vi
KISALTMALAR	vii
ÖZET	viii
ABSTRACT.....	ix
1. GİRİŞ ve AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. <i>H.pylori</i> 'nin Tarihçesi.....	3
2.2. <i>H.pylori</i> 'nin Mikrobiyolojisi	4
2.2.1. Doğal Ortamları.....	4
2.2.2. Görünüm Özellikleri.....	5
2.3. <i>H.pylori</i> 'nin Yapısal Özellikleri.....	6
2.3.1. <i>H.pylori</i> 'nin Hücre Duvar Yapısı	6
2.3.2. <i>H.pylori</i> Lipopolisakaritleri	6
2.4. <i>H.pylori</i> 'nin Genomik Özellikleri	7
2.5. <i>H.pylori</i> 'nin Kültür ve Üreme Özellikleri	7
2.6. <i>H.pylori</i> Enfeksiyonu ve Bulaşma Yolları	7
2.7. Patogeneizde Etkili Bakteriye Ait Virulans Faktörleri	8
2.7.1. Adhezinler.....	8
2.7.2. Katalaz ve Süperoksit Dismutaz.....	9
2.8. Organizmada Hasar Oluşturan Virulans Faktörleri.....	9
2.8.1. <i>cagA</i> Patojenite Adası (<i>cag PI</i>) ve <i>cagA</i> Geni.....	9
2.8.2. <i>vacA</i> (Vakualizasyon Yapan Sitotoksin) Geni.....	10
2.9. <i>H.pylori</i> ve Oksidatif Hasar-DNA Hasarı.....	11
2.10. İmmünite	12
2.11. İnflamasyon ve Karsinogenez.....	14
2.12. <i>Helicobacter</i> Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi.....	16

2.13. <i>H.pylori</i> 'nin Etkili Rol Oynadığı Hastalıklar.....	16
2.13.1. Gastrit.....	16
2.13.2. Peptik Ülser.....	16
2.13.3. Gastrik Atrofi, Mide Kanseri ve MALT Lenfoma.....	17
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. İstatistiksel Analiz.....	19
3.2. Yöntem.....	19
3.2.1. 8-OHdG-DNA Hasar Seviyesinin Belirlenmesi.....	19
3.2.2. Endotoksin Analizi.....	21
3.3. HEK-Blue™- 4Hücrelerin Kit Protokolüne Göre Kullanımı.....	21
3.3.1. HEK-Blue™- 4 Hücreleri ve Medium.....	21
3.3.2. Büyüme Ortamı.....	22
3.3.3. QUANTI-Blue™.....	22
3.3.4. HEK-Blue™ Endotoksin Standardı.....	22
3.3.5. Dondurulmuş HEK-Blue™- 4 Hücrelerinin Çözdürülmesi.....	23
3.4. Kit Protokolünün Uygulanması -Endotoksin Analizi.....	24
4. BULGULAR.....	25
4.1. ELISA Yöntemiyle 8-OHdG Miktarının Belirlenmesi.....	27
4.2. HEK-Blue™ LPS Detection Kit ile Endotoksin Analizi.....	28
5. TARTIŞMA.....	31
6. KAYNAKLAR.....	35
7. EKLER.....	39
EK 1: Etik Kurul.....	39
EK 2: Orjinallik Raporu.....	40
EK 3: İntihal Raporu.....	41

Şekil 1. <i>H.pylori</i>	5
Şekil 2. <i>H.pylori</i> 'nin Virulans Faktörleri	8
Şekil 3. AZ-521 hücrelerinde <i>H.pylori</i> enfeksiyonu sırasında Vac A kaynaklı CagA fosforilasyonu.....	10
Şekil 4. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin.....	11
Şekil 5. <i>H.pylori</i> 'nin çeşitli patojenite faktörleri ve polarize gastrik epitel hücreleri arasındaki etkileşim.....	13
Şekil 6. <i>H.pylori</i> ve enfeksiyon tablosu	14
Şekil 7. HEK-Blue™ LPS Detection Kit Elemanları.....	21
Şekil 8. HEK-Blue™ LPS Detection Kit çalışma prensibi.....	28

Tablo-1. Kanser gelişiminde <i>H.pylori</i> 'nin indüklediği faktörler	15
Tablo-2. Konsantre standart çözelti dilüsyonları	19
Tablo-3. HEK-Blue™ Endotoksin Standart stok çözeltisi seri dilüsyonları	22
Tablo-4. Bireylerin yaş-cinsiyet özellikleri	25
Tablo-5. Sigara kullanımı	26
Tablo-6. Hastaların patoloji sonuçlarının değerlendirilmesi	26
Tablo-7. Hastaların gaitada <i>H.pylori</i> antijen testi	26
Tablo-8. Hastaların üre nefes testi	27
Tablo-9. <i>H.pylori</i> (+) Peptik Ülserli Hastalar ve Kontrol Grubu serum örneklerinde 8-OHdG değerleri	28
Tablo-10. <i>H.pylori</i> (+) Peptik Ülserli Hastalar ve Kontrol Grubu serum örneklerinde endotoksin absorbans değerleri	29
Tablo-11. Pearson Korelasyon analizi	30

Grafik 1. Hasta ve Kontrol Grubu 8-OHdG açısından karşılaştırılması27

Grafik 2. Hasta ve Kontrol Grubu Endotoksin açısından karşılaştırılması29



KISALTMALAR

8-OHdG	: 8-Hidroksideoksiguanozin
BabA	: The Blood Group Antigen-Binding Adhesin
Cag A	: Cytotoxin-Associated Gene A
Cag PAI	: Cag Pathogenity Island
CEACAM	: Carcino Embryonic Antigen-related Cell Adhesion Molecules
CLO	: Camlyobacter Like Organism
CO₂	: Karbondioksit
COX-2	: Siklooksijenaz-2
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EHPSG	: European Helicobacter Pylori Study Group
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
IL-8	: İnterlökin-8
LPS	: Lipopolisakkarit
MALT	: Mucosa Associated Lenfoid Tissue
NFκB	: Nukleer Faktör Kappa B
NIH	: National Institutes of Health
NSAII	: Steroid Olmayan Anti-İnflamatuvar İlaçlar
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Türevleri
SHP	: Src homology domain containing protein tyrosine phosphatase
T4SS	: Tip IV Sekresyon Sistemi
TLR	: Toll-Like Reseptör
TNF α	: Tümör Nekrozis Faktör- α
Vac A	: Vakuolisasyon Sitotoksin A
VEGF	: Vasküler Endotelial Growth Factor

ÖZET

***H.pylori* (+) PEPTİK ÜLSERLİ HASTALARDA ENDOTOKSİN ve DNA HASAR SEVİYESİNİN İNCELENMESİ**

İslim GÜLER

Tıbbi Biyokimya, Yüksek Lisans Tezi

Kanserojen olduğu tespit edilen ilk bakteri olan *Helicobacter pylori*, mide suyu asiditesine rağmen mide mukozasının mukus tabakasının altında, dünya nüfusunun yarısından fazlasında bu bakteri kolonizedir. Farklı gastro-dudenol klinik tablolardan ve komplikasyonlardan (gastrit, mide ve peptik ülserler ve mide kanserleri) sorumludur. Mide kanseri büyük bir halk sağlığı sorunu olarak kabul edilir ve kötü prognozu tetikleyerek, kansere bağlı ölümlerde en yaygın üçüncü neden olarak yer almaktadır. Dünya çapında her yıl yarım milyondan fazla kişinin ölümüne neden olmasından sorumlu tutulmaktadır. Bu çalışmadaki amacımız pozitif peptik ülserli hastalarda, aralarında bir korelasyon olup olmadığını bulmak için DNA hasar seviyesini tespit etmek ve bakteriyel endotoksini hücresel boyutta analiz etmektir. Bir korelasyon varsa, bunu değerlendirmek ve *H.pylori*'nin neden olduğu patogeneizde molekül bazında hücrelerin etkilenip etkilenmediğini belirlemektir. DNA hasarı, kitler kullanılarak ELISA yöntemi ile belirlendi (marker 8-OHdG (Hidroksideoksiguanozin)). Endotoksin analizi HEK-Blue™ LPS Detection kiti ile yapıldı. Elde edilen veriler analiz edildi. Analizler sonucunda elde edilen verilere göre hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı fark bulundu ve bu iki parametre arasında zayıf bir korelasyon olduğu gözlemlendi. Günümüzde, *H.pylori* enfeksiyonu ve mide kanserleri için mükemmel başarılı tedavi zor olmakta, bu nedenle yeni tedavi yaklaşımları ve stratejileri geliştirmeye ve mide kanserine karşı mücadelede bu tür çabalara katkıda bulunmaya ihtiyaç vardır. Antikanser ilaçların en büyük dezavantajları kişiye özgün olmaması ve zararlı yan etkileri olmalarıdır.

Anahtar Kelimeler: *H.pylori*, DNA Hasarı, Peptik Ülser, Endotoksin, Mide Kanseri

ABSTRACT

INVESTIGATION of ENDOTOXIN and DNA DAMAGE LEVEL in PATIENTS with *H.pylori* (+) PEPTIC ULCER

İslim GÜLER

Medical Biochemistry, Master Thesis

Helicobacter pylori, the first bacterium found to be carcinogenic, despite the acidity of gastric juice the protective mucus layer of the stomach mucosa of more than half of the world's population colonized with this bacterium. It is responsible for different gastro-dudenol clinical pictures and complications (gastritis, gastric and peptic ulcers and gastric cancers). Gastric cancer is considered as a major public health issue and ranks as the third most common cause of cancer-related mortality triggering bad prognosis. It is incriminated in more deaths than half a million people worldwide every year. Our aim is to determine the level of DNA damage level and analyse bacterial endotoxin through cellular dimension in positive peptic ulcer patients as well as to find whether there is a correlation between them. If there is a correlation, to assess it and to determine whether or not the cells affected in molecule basis in pathogenesis caused by *H. pylori*. DNA damage was determined by ELISA method using kits (marker 8-OHdG (Hydroxydeoxyguanosine)). Endotoxin analysis was performed with HEK-Blue™ LPS Detection kit. Obtained data were analysed. According to the data, significant difference found between patient and control group and between these two parameters observed there is a weak correlation. Nowadays, perfect successful treatment for *H.pylori* infection and gastric cancers is difficult, so there a need to develop new treatment approaches and strategies and to contribute in such efforts in the fighting against gastric cancer. The major disadvantages of anticancer drugs are they are not original and have harmful side effects.

Key words: *H.pylori*, DNA Damage, Peptic Ulcer, Endotoxin, Stomach Cancer

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Tarih boyunca insan hayatını, enfeksiyonel hastalıklar ve bu hastalıklara neden olan mikroorganizmalar büyük oranda etkilemiştir. İnsanda vücudun farklı bölgelerinde, mikroorganizmayı herhangi bir zarara uğratmadan hatta mikroorganizmaya birtakım yararlar sağlayarak, konakçısı ile yaşayan mikroorganizmalar, normal mikrobiyal florayı oluşturmaktadır. Organizma ile ilişkili mikroorganizmalar, vücutta farklı pH, nemi ve mevcut doğal inhibitör etkilere göre hayatını idame ettirebilecekleri uygun bölgeyi seçer ve kolonize olurlar. Bu mikroskobik canlılar insanın yaşamını olumsuz yönde de etkilemektedir. Bu bağlamda yaşam boyunca salgın hastalıklar çok sayıda kişinin ölümüne neden olup, toplumların nüfusunu önemli oranda azaltmaktadır.

Gram-negatif bakteri varlığı insan mide mukozasında 19.yy sonlarında tespit edilmiştir. Gram negatif bakteri olan *Helicobacter pylori*, kanserojen olduğu tespit edilen ilk bakteridir. Mide suyu asiditesine rağmen *H.pylori*, mukozal mukus tabakasının alt kısmına yerleşip çeşitli klinik süreçlerin oluşmasında etkili bir bakteridir.

H.pylori enfeksiyonu peptik ülser, gastrit ve mide karsinomu ile önemli ölçüde ilişkili olduğu bilinmektedir. Aynı zamanda dünya genelindeki en yaygın hastalıklardan biridir. Ayrıca günümüzde gastrik kanserin diğer doku ve organları önemli derecede etkileyebilme potansiyeline sahip, önemli bir tehdit oluşturduğu kabul edilebilmektedir. *H.pylori*'nin gastroduodenal hastalıkların oluşması sürecinde etken bir faktör olduğunun bulunması, bakteriyoloji ve gastroenteroloji bilim dallarındaki önemli buluşlardan birisidir. Dünyada en yaygın görülen bakteriyel enfeksiyon, *H.pylori*'nin sebep olduğu aktif kronik gastrit enfeksiyonudur. *H.pylori* bakterisi dünya çapında nüfusun yarısından fazlasında mide dokusunda kolonize olabilen patojen bir bakteridir. Tüm dünyada enfeksiyon riski, yaş ve sosyoekonomik düzeyin düşük olmasıyla doğru orantılı olarak artabilmektedir. *H.pylori* tedavisi, son yıllarda yapılan kapsamlı çalışmalara rağmen hala zorlu bir klinik sorun olarak görülebilmektedir.

Günümüzde *H.pylori*'nin gastrit oluşum sürecindeki etken rolü, peptik ülser ile ilişkisi ve gerek primer gastrik MALT (Mucosa Associated Lymphoid Tissue) gerekse karsinom oluşumunda rol alması sebebiyle patojenik öneme sahip olduğu görülmektedir. *H.pylori*

patojenitesinin mide dokusunda yol açtığı harabiyetin hücresel boyutta da hasara neden olabileceği merak konusu olmaktadır. Bu bağlamda hücresel boyuttaki söz konusu hasar DNA hasarı olabilmektedir. Tüm canlılar genetik materyallerini çevresel zararlara karşı koruyabilmek amacıyla DNA tamir mekanizmasına sahip olabilmektedir. DNA onarımı; yalnızca tek bir mutasyon ile başlayıp hasarlı DNA'nın oluşumu, hatta kansere kadar gidebilen süreçte hücreyi koruyan önemli bir mekanizmadır. Bu yüzden mutasyon, replikasyon hataları, hücre ölümü, DNA hasarının devamlılığında ve genomik kararsızlığın giderilmesi gibi işlemlerde DNA onarımı söz konusu olabilmektedir. Bu süreçteki herhangi bir anormallik kansere veya yaşlanmaya neden olabilir. Genetik değişiklikler ve kanser arasındaki ilişki birçok deneysel ve epidemiyolojik verilerle desteklenebilmektedir.

Genetik yapı bütünlüğü DNA hasarına neden olabilecek sayısız farklı etkene maruz kalması sebebiyle, bu bütünlük korunmayabilir. Hasar kaynakları olarak ultraviyole radyasyon, mantar türevli aflatoxin, kemoterapötik ajanlar, oksidatif metabolizma gibi etmenler gösterilebilir. Genetik yapı bütünlüğünün bozulması ile oluşabilen genetik kararsızlık, kanserin karakteristik özelliği olması sebebiyle DNA hasar çalışmaları dikkat çekmektedir.

Bu çalışmanın amacı; gastroduodenal hastalıklarda etkili rol oynadığı günümüzde açık bir şekilde ortaya konulmuş olan *H.pylori* bakterisinin neden olduğu pozitif peptik ülserli hastalarda endotoksin ve DNA hasar seviyesinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Gastroenteroloji polikliniğine herhangi bir gastroduodenal yakınma sebebi ile başvuran ve *H.pylori* pozitif peptik ülserli 43 hasta ve sağlıklı 43 gönüllü bu çalışmaya alındı. DNA hasarı için 8-OHdG ELISA testi ile endotoksin analizi ise HEK-Blue™ LPS Detection Kit ile saptanıp analiz edildi. Analizler sonucunda elde edilen veriler arasında bir ilişki olup olmadığı değerlendirildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Helicobacter pylori*'nin Tarihçesi

İnsanlar doğduğu andan itibaren hayat boyu mikroorganizmalar ile temas halindedir. Mikroorganizmalar ile gastroduodenal patoloji arasında bir ilişkinin olabilmesi yaklaşımı 19.yy'ın sonlarına doğru odak noktası olmuştur. 1875 yılında M. Ltulle ve G. Bottcher'in ülseratif yara etrafındaki dokularda bakterilerin kolonizasyonlarını göstermesiyle araştırmalar başlamış ve 1985 sonrasında ise bu yöndeki araştırmalar artmıştır (1). G. Bizzozero, 1893'te köpeklerin mide hücre vakuol ve stoplazma yapılarında spiral haldeki mikroorganizmaları göstermiştir (2). 1938 yılında Doenges 242 insan midesinde inceleme sonrası %43'ün de spiral haldeki mikroorganizmaların varlığını bildirmiştir (1,2).

H.pylori bakterisinin gastroduodenal hastalıkların patogenezi ile ilişkisi ilk kez 1979 yılında gösterilmiş ve spiral mikroorganizmalar mide mukoza tabakasının altında tespit edilmiştir. Mikroorganizmayı, in vitro olarak, ilk kez Berry Marshall 1982'de üretmiştir (3). İlk defa Dr. Robin Warren ve Dr. Berry Marshall *H.pylori* bakterisini 1982'de gastrit ve mide ülserli hastaların midelerinde saptamıştır. *H.pylori*, görünüm özellikleri açısından *Campylobacter*'e benzemektedir. Bu nedenle “*Campylobacter like* bakteri (CLO)” ismi verilmiş, ancak yapısal olarak *Campylobacter* grubundan tamamen farklı bulunmuştur. 1987 yılında *H.pylori* bakterisi, “*Campylobacter pylori*” olarak isimlendirilmiştir (4). 1989 yılında Goodwin ile arkadaşları sözkonusu bakteriyi *Campylobacter* genusundan ayırmış; helikal yapısı ve çoğunlukla midede pilor alanında izole edilmesi sebebiyle “*Helicobacter pylori*” olarak isimlendirmişlerdir (5). Ayrıca *H.pylori*'nin biyolojik yapısını aydınlatacak bilgiler bütün genomun sekans analizi 1994'te yapılması sonucunda sağlanan verilerle elde edilmiş, sınıflandırma çalışmaları ve virulans faktörlerin belirlenebilmesi amacıyla ileri düzeydeki moleküler araştırmalara olanak sağlamıştır. Genom yapısıyla ilgili bilgiler doğrultusunda yapılan 16S rDNA temelli filogenik analizler sonucunda *Helicobacter* ve diğer genuslar, *Proteobacteria* alt sınıfında sınıflandırılmıştır (6).

H.pylori enfeksiyonun, gastrik ve duodenal ülserle ilişkisi olduğu Marshall ve Warren tarafından gösterilmiştir (4). Peptik ülser, dünya üzerinde tüm toplumlarda halen en çok maddi ve iş gücü kayıplara neden olan hastalıkların başında gelmesinin yanısıra peptik ülser tarihçesi

çok eskilere dayanmaktadır. İlk olarak 1586 yılında İtalyan Marcellus Donatus tarafından mide ülseri ve 1688’de Johannes Von Murault tarafından ise duodenal ülser tarif edilmiştir. 1799’da Matthew Baillie ilk olarak ülser hastalığı ve kliniğini açıklamıştır. 1823’te Dr. William Prout memeli hayvan midesindeki hidroklorik asidin dispeptik semptomlara yol açtığını açıklamıştır. 1885 yılında Prof. Dr. Ewald ve Boos, midedeki asidin laktik asit olduğunu ve yemek sonrası hidroklorik aside dönüştüğünü tanımlamışlardır (7).

1991’de *H.pylori* enfeksiyonu ile gastrik kanser ilişkisini araştıran çalışmalar bildirilmiştir. 1994’te National Institute of Health (NIH) ve Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), *H.pylori* bakterisinin peptik ülserin en önemli nedeni olduğu, aynı zamanda ülser hastalarının *H.pylori* için tedavi olmaları gerektiği yönünde karar alınmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün bir uzantısı konumundaki International Agency for Cancer Research’te *H.pylori*’nin kanserojen etkiye sahip olduğunu kabul etmiştir (8). Ayrıca gastrik mukozada gelişen lenfoid doku lenfomasının (MALToma) ve kronik *H.pylori* enfeksiyonun gastrik Non-Hodgkin lenfomaların gelişiminde rol oynadığı tespit edilmiştir (9). Son olarak *H.pylori* eradikasyon tedavisinin intestinal metaplazi ve displaziye bağlı mide kanseri görülme sıklığının azaldığı, ancak mide kanserine bağlı ölüm oranlarında azalma olmadığı bildirilmektedir (10).

2.2. *Helicobacter pylori*’nin Mikrobiyolojisi

2.2.1. Doğal Ortamları

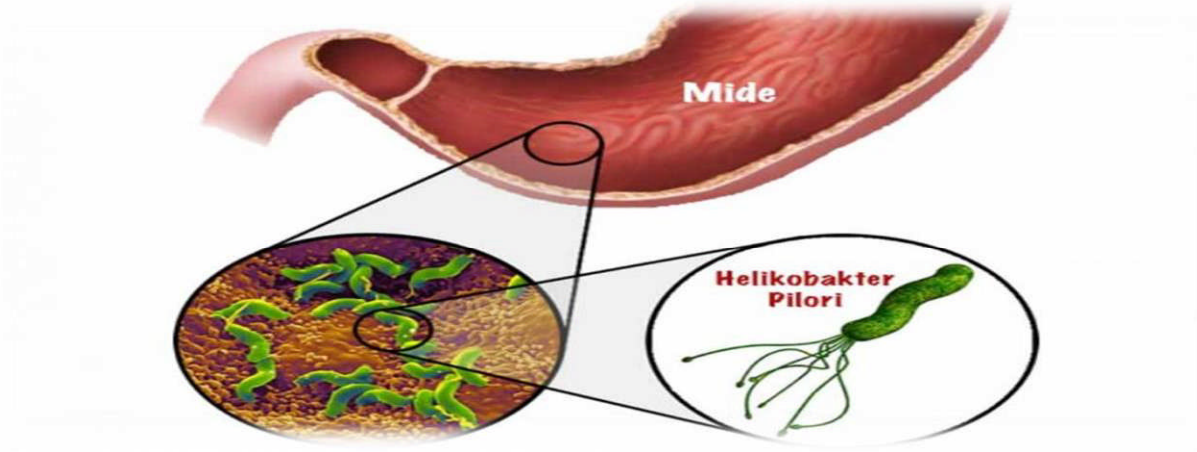
Helicobacteraceae ailesi içerisinde yer alan *Helicobacter*’ler hayvan ve insanların gastrointestinal sistemde sıklıkla görülen mikroaerofilik spiral şeklindeki gram negatif bakterilerdir. Bu mikroorganizmaların 20 türü saptanmıştır. *Helicobacter* familiesının bilinen tek cinsi “*Helicobacter*” dir. Burada yer alan mikroorganizmaların ilişkilerin bütününde gastrointestinal sistem yapılarına karşı bir tropizme sahip oldukları görülmektedir (1).

Helicobacter’ler insanların mide veya barsak mukozalarına yerleşmektedirler. *H.pylori*; tükürük ve dış plağında görülmekte, safra taşının oluşumunda da etkili olduğu, yapılan moleküler araştırmalarla kanıtlanmıştır (11).

H.pylori için en önemli doğal ortam gastrik mukozadır. Mikroorganizma mukozal yüzeyde ilerlemekte ve özellikle antrum bölgesine yerleşmektedir. Antrum bölgesi alkali mukus sekrete etmektedir. Hastalardan alınmış doku örnekleri elektron mikroskopunda incelendiğinde *H.pylori* midede mukozal hücrelerle etkileşime girdiği bildirilmiştir. Ayrıca histopatolojik farklılıklarda göz ardı edilmemelidir. Ek olarak mikrovillus yapılarında hücresel iskeletin deforma uğradığı, hücre morfolojisini etkilediği, münin granüllerinin kaybolduğu ve hücreler arası desmosom gibi yapıların kaybolduğu gözlemlenmiştir (12).

2.2.2. Görünüm Özellikleri

H.pylori bakterisinin boyu 2,5-5,0 µm, eni 0,5-1,0 µm, sporsuz, spiral ya da virgül şeklinde görülebilmektedir. Mukus yüzeyinden hazırlanan preparatlarda daha uzun ve kıvrım morfoloji baskın olurken, besiyerine ekilmiş bakteri kolonilerinde spiral formlara az rastlanmakta, çoğunlukla kıvrımları kısa, basil şekindedirler. Ayrıca oksidatif strese maruz bırakılan gastrik doku örneklerinden hazırlanan preparatlar ise düzensiz, çubuk ya da yuvarlak morfolojiye sahip olabilmektedir (13).



Şekil 1. *H.pylori*

Orijinal formdaki *Helicobacter* türleri sahip oldukları 1-6 adet unipolar flajellaları sayesinde oldukça hareketli mikroorganizmalardır (14).

2.3. *H.pylori*'nin Yapısal Özellikleri

2.3.1. *H.pylori*'nin Hücre Duvar Yapısı

Helicobacter 'ler hücre yapılarına somatik antijenik özelliği sağlayan lipopolisakkaritlere sahiptir. Bunun yanında peptidoglikan tabakası ince, dış duvar yapısı yarı geçirgen özelliktedir. Fazla sayıda fosfolipit içeren sitoplazmik membrana sahip, tipik gram negatif hücre duvarına sahiptirler. *H.pylori* hücre duvarı yapısında fosfatidil kolin gibi polar başlı nötral fosfolipitlerle birlikte fosfatidiserin gibi asidik fosfolipitler de bulunmaktadır. *H.pylori* gram negatif bakterisinin peptidoglikan tabakası yüksek derecede muropeptit yapısı içermektedir. Ayrıca zincir glisin aminoasidiyle sonlanmakta ve anhidro-N-asetilmuramik asit içermesi sebebiyle gram negatif özellikteki diğer bakterilerden farklılık göstermektedir (15).

H.pylori dıştaki lipopolisakkaritleri enfeksiyonun sürekliliğini sağlamaktadır. Bakteri bu sayede immun toleransı, kolonileşmeyi ve patolojiye sebebiyet vermektedir (14, 16). Ayrıca antijenik güç bakımından endotoksin aktivitesini kaybeden lipopolisakkarit, diğer gram negatif bakterilere oranla düşük olabilmektedir (16).

2.3.2. *H.pylori* Lipopolisakkaritleri (LPS)

Bakterinin "S" suşlarında ve gram negatiflerde Lipit A görülmektedir. Lipit A zincirden oluşmayan polisakkaritleri içermektedir. Ayrıca lipopolisakkarit yapısı antijenik özelliği sağlamaktadır. *H.pylori* düşük antijenik özelliğe sahiptir. Bu sayede bakteri mide mukozasında uzun süre kalıcılığına devam etmektedir. Ayrıca ortama adaptasyona olanak sağlamaktadır (18). Ayrıca *H.pylori* lipopolisakkaritleri doku antijenlerinin N-asetillaktozamin rezidülerini içerdiğinden konakçının immun yanıtından kaçmakta, mide mukozasında kalıcılığını sürdürmektedir (19).

H.pylori'nin sahip olduğu Lipid A; gram negatiflerdeki özelliklerle aynı değildir. Genellikle kolonizasyonda Lipid A'nın yapısında mutasyonların sürekli olduğu bildirilmiştir. Diğer bakterilerden farklı, *H.pylori* suşlarında Lipid A yapısında biyolojik olarak aktivitesinin yüksek olmadığı, yağ asitlerinin ise fosforile olduğu görülmektedir (20).

2.4. *H.pylori*'nin Genomik Özellikleri

H.pylori'nin tüm genom dizi analizi çalışmalarıyla çeşitli veriler elde edilmiştir. Borriello ve ark. tarafından 300'den fazla genin hücre zarıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bunların yanında β -galaktozidazın dışında glukoz monomerinin metabolizmasıyla alakalı genler ve çeşitli enzimlerle ilgili olan oksidasyon-redüksiyon genleri gibi çeşitli gen bölgelerini tanımlamıştır. Bakteride virulans faktörü olarak; saptanmış bölgeler arasında *cagA*, *hpaA*, *flaA-flaB*, lipopolisakkarit yapılarından sorumlu genler ve *vacA* geni gösterilebilir. Genomda çoğu genin tekrarladığı belirlenmesi sebebiyle *H.pylori*'nin genomik faaliyetlerinde özellikle eşleşme hatalarının sıklıkla olduğuna işaret ettiği düşünülmektedir (18).

2.5. *H.pylori*'nin Kültür ve Üreme Özellikleri

H.pylori mikroaerofilik bir bakteridir (%10 CO₂, %5 O₂, %85 N₂). Üremeleri için ideal sıcaklık değeri 35–37°C'dir (1). *H.pylori* için Skirrow agar gibi modifiye zenginleştirilmiş besiyerleri kullanılmaktadır. Bazı besiyerlerinde 4-7 gün arasında düzgün kenarlı, pigmentsiz koloniler oluşmaktadır (21).

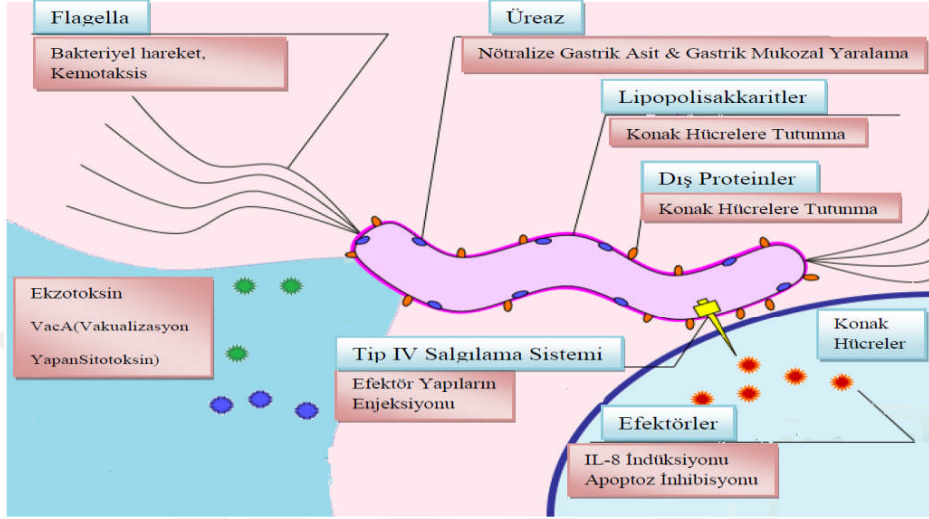
2.6. *H.pylori* Enfeksiyonu ve Bulaşma Yolları

Dünya genelinde çok sayıda insanda *H.pylori*'nin kolonize olmaktadır. Bu nedenle *H.pylori*'nin güçlü bir yayılma stratejisine sahip olduğu düşünülebilir. *H.pylori*'nin insanlar arasında oral-oral yolla geçebildiği, öpüşmenin bir geçiş yolu olabileceği gibi enfeksiyon için ağzın rezervuar olduğu, ağızda kolonize olan suşlarla mideye bakteri geçişinin sürekli olabileceği de ileri sürülmüştür (22).

H.pylori enfeksiyonunda düşük sosyo-ekonomik şartlar, kötü hijyen, kalabalık aile ortamı, anne-babanın bu bakteri ile enfekte olması gibi ailesel etmenlerin etkili olduğu bildirilmiştir. *H.pylori*'nin insan dışında doğal kaynağı bulunmamaktadır (23). Ayrıca ailedeki fert sayısı *H.pylori* bulaş riskini arttırmaktadır (24).

2.7. Patogenezde Etkili Bakteriye Ait Virulans Faktörleri

H.pylori'nin sahip olduğu flagellalar, dış proteinleri ve üreaz enzimi gibi yapılar, gastrointestinal sisteme kolonizasyonda önemli rol oynamaktadır.



Şekil 2. *H.pylori* virulans faktörleri (26).

Enfekte bireylerde genellikle belirgin klinik semptomlar olmamakla birlikte histopatolojik olarak kronik gastrik inflamasyon ile karakteristiktir. Mikroorganizmanın spiral şekli ve kılıflı yapıdaki polar flagellaları bakterinin mukusta ilerlemesinin sağlarken, üreaz aracılığıyla oluşturulan bikarbonat-amonyak katmanıyla, gastrik asit engeli ile mukoza tabakasını aşabilmektedir (21).

Nitekim flajella ile ilgili proteini kodlayan *flgE* genindeki mutasyonlara bakıldığında, flagellasız, hareketsiz özellikteki mikroorganizmalar oluşmuş; ancak flagellinin sentezi sürdürülse de kolonizasyonun gerçekleşmediği bildirilmektedir (27).

2.7.1. Adhezinler

H.pylori bakterisi öncelikle konakçının hücredeki reseptörlere bağlanmaktadır. Sonrasında *H.pylori*'nin mide lümeninin hareketine rağmen kolonize olabilmesi ve besin maddelerine erişebilmesi amacıyla adhezyon olması gerekmektedir. Bakteri, gastrik epitele tutunması amacıyla çeşitli adhezin yapılarını kullanmakta, örneğin; SabA, OipA ve HspA vs. daha ilk belirlenen adhezinlerdir (28).

Membran bağılı protein BabA, tanımlanmış en iyi *H.pylori* adhezini. Bu adhezinin terminalinde bulunan bazı yapılar, gastrointestinal sistem mukozasında bulunan kan grup antijenlerini taklit ettiği bildirilmektedir (29).

2.7.2. Katalaz ve Süperoksit Dismutaz

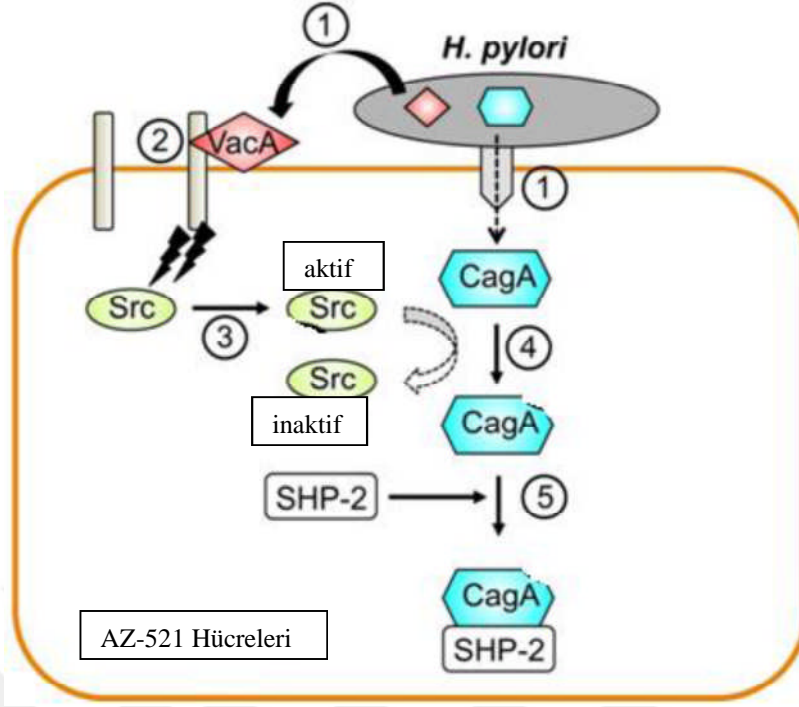
H.pylori'nin mukozal ortamda hayatını sürdürmesine yardımcı olan, antioksidan koruma mekanizmasında rol oynayan katalaz ve süperoksit dismutazdır. Bunlar bakterinin nötrofillerden salgılanan reaktif oksijen türlerinden; hidrojen peroksit radikali ve hidroksil moleküllerinden korunmasını sağlamaktadır (30).

2.8. Organizmada Hasar Oluşturan Virulans Faktörleri

2.8.1. *cagA* Patojenite Adası (*cagPI*) ve *cagA* Geni

Sitotoksin geni olan *cagA* geni, genomik patojenite adasına işaret eden bir gösterge görevi üstlenmektedir. Genomik patojenite adasında kodlanan genler Tip-IV sekresyon sistemini (T4SS) kodlamaktadır. Bu sistem CagA protein yapısını mide dokusundaki hücreye taşımaktadır (31). CagA hücre sitozolüne taşınır, sonra Src kinaz yapılarıyla fosforilasyona uğramaktadır. Src kinaz molekülleri; temel hücre iskeletiyle ilgili olaylarda, proliferasyonda ve karsinogenezde önemli rol oynamaktadırlar (32).

H. pylori, Tip IV sekresyon sistemi ile CagA'yı gastrik epitel hücrelerine enjekte ederken, VacA'yı hücre dışı boşluğa salgılamaktadır. VacA aktif Src fosforilasyonu uyarmaktadır. Aktive Src tirozin fosforilasyonunu arttırmaktadır. Son olarak CagA, SHP2 fosfataz da dahil olmak üzere diğer konakçı moleküller ile etkileşime girmektedir (33). CagA'nın N-terminal ucu hücre – hücre arasındaki desmozom ve tight junction yapılarını bazalmaktadır (35). Burada E-cadherin gibi proteinlerle mukoza fonksiyonlarını ve adherensi bozmaktadır (36).



Şekil 3. AZ-521 hücrelerinde *H. pylori* enfeksiyonu sırasında VacA kaynaklı CagA fosforilasyonu (33).

Sonuçta epitelyal polarite kaybolmakta ve transforme karsinoma hücreler invaziv tipi hüresel davranışlar sergilemektedirler (35). Yapılan hücre kültürü çalışmalarında CagA E-katherini etkileyip, β -katherin sinyalini bozmaktadır. Gastrik epitel hücrelerde intestinal diferansiyonu ilerleterek karsinogenezisi tetiklediği gösterilmektedir (36, 37).

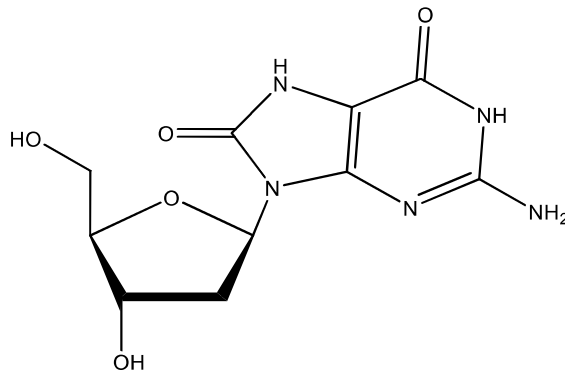
2.8.2. *vacA* (Vakualizasyon Yapan Sitotoksin) Geni

H. pylori patojenitesinde vakuol yapıcı sitotoksin önemli bir yere sahiptir. *vacA* geni, sitotoksin proteinini kodlayan gen olarak adlandırılmaktadır. VacA'nın çeşitli toksijenik özellikleri vardır. Toksin mitokondriyal membranlardaki por oluşumu yoluyla apoptozis yolağını uyararak konak hücre ölümünü indüklediği düşünülmektedir (38). Aynı zamanda dolaylı olarak pro-apoptotik sinyal moleküllerinin aktivasyonu ile etki gösterdiği düşünülmektedir (39).

2.9. *H.pylori* ve Oksidatif Hasar-DNA Hasarı

Gastrointestinal (GI) mukoza yediklerimizden veya mide dokusunda bulunan çeşitli antijenlerle sürekli olarak stres altındadır. Dışarıdan alınan faktörler ile GI kanalının fizyolojik engelleri arasındaki etkileşime kadar, GI lümeni dışında mevcut olan her şey hücresel düzeyde antijen tehdidi içeren mekanizmalar yoluyla stresli reaksiyonlara neden olabilmektedir. GI lümeni için *H.pylori*, steroid olmayan antienflamatuar ilaçlar ve gastrik asit dahil birçok faktör tarafından enflamasyon sebebi olabilmektedir. Özellikle oksijen önemli bir saldırı aracıdır. Oksijen hayatın devamlılığı için gerekli ve vücuttaki en önemli metabolik maddedir. Buna rağmen oksijen, reaktif oksijen türleri (ROS) üreterek oksidatif stres olarak adlandırılan çeşitli hücresel streslere neden olabilmektedir. ROS, hücresel sinyal ve enerji iletiminin önemli bir düzenleyicisi olmasına rağmen, ROS oksidan-antioksidan arasındaki dengeyi bozarak potansiyel hücresel hasara yol açmaktadır. ROS, hücresel proteinleri veya lipitleri okside olmuş formlara dönüştürebilir veya nükleik asitlerle bağlanarak mutasyonlara neden olabilmektedir. Ayrıca oksidatif stres kanserojeniz ile yakından ilişkili olduğu bildirilmektedir (40).

Organizmalar hayatın devamlılığı için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. Ancak savunma sisteminin yetersiz kaldığı noktada hastalıkların oluşması kaçınılmaz olabilmektedir. Hastalık faktörü olabilecek oksidatif stresin derecesini öngören hassas bir belirteç olabilecek, klinik öneme sahip biyobelirteç 1980'lerin sonlarında keşfedilen 8-hidroksideoksiguanozindir (8-OHdG). 8-OHdG, oksidatif stresle ilişkili hastaların serum veya idrarlarında artış olduğu kanıtlanmıştır (40).



Şekil 4. 8-hidroksi-2-deoksiguanozin.

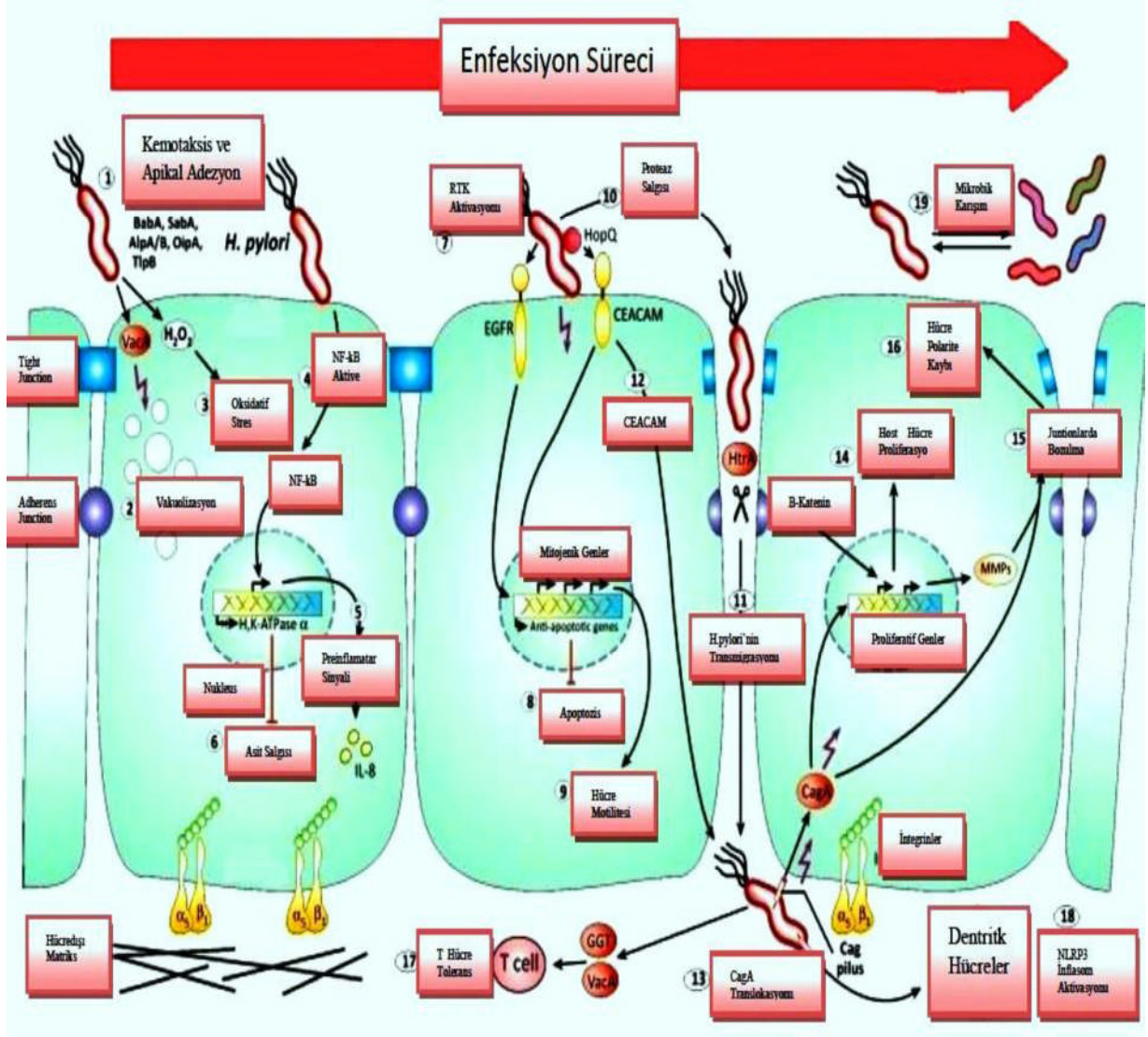
Genetik kalıtımı sağlayan DNA molekülü ROS, ultraviyole ışık veya genotoksik ajanlar gibi faktörlerle oksidatif strese maruz kaldığında, Guanin bazı kolayca 8-okso-7,8-dihidroguanin (8-okso-Gua) halinde okside edilir. Bu okside olmuş guaninin genomik DNA'da varlığı G-T veya G-A bağlanması gibi transversiyonlara neden olabilmektedir. Memeli hücrelerindeki nükleotit eksizyon tamir (NER) enzimleri gibi çoklu tamir sistemlerinin yetersizliğinde 8-oxo-Gua'nin tehlikeli etkileri engellenemebilmektedir. Sonuç olarak, 8-OHdG, sitoplazmik okside edilmiş nükleotitler gibi hasarlı oligomerden üretilir (40).

Okside deoksiguanozin, mutajenezi indüklediğinden çoğu araştırmacı 8-OHdG'nin hücrelerde mutajenik veya zararlı etkileri olabileceğini düşünmüştür. Hücresel membranların, proteinlerin ve DNA'nın lipitlerinde oksidatif hasarın kalıcı olarak meydana geldiğine dair kapsamlı deneysel kanıtlar vardır. 8-OHdG, okside guanin içeren diğer türlerin aksine hücre zarını geçebilmektedir. Nükleer ve mitokondriyal DNA'da 8-OHdG, serbest radikal kaynaklı oksidatif lezyonların baskın ajanlarından biridir (40).

2.10. İmmünite

Konak, *H.pylori* ile temasta yüksek derecede immün yanıtlar olmakta, ancak bakterinin sahip olduğu çeşitli mekanizmalarla enfeksiyon, yıllarca sürebilmektedir (41). *H.pylori* mukozal ortama kolonize olduğunda konağın doğal bağışıklık mekanizması uyarılmakta, enflamasyon öncüsü gibi etkili moleküllerin sekresyonu artmaktadır. Bu yapılar, bazı sinyal yolağını aktive ederek hücre proliferasyonunu uyarıcı, apoptozisi inhibe edici etkilerini ortaya çıkarmaktadırlar (42).

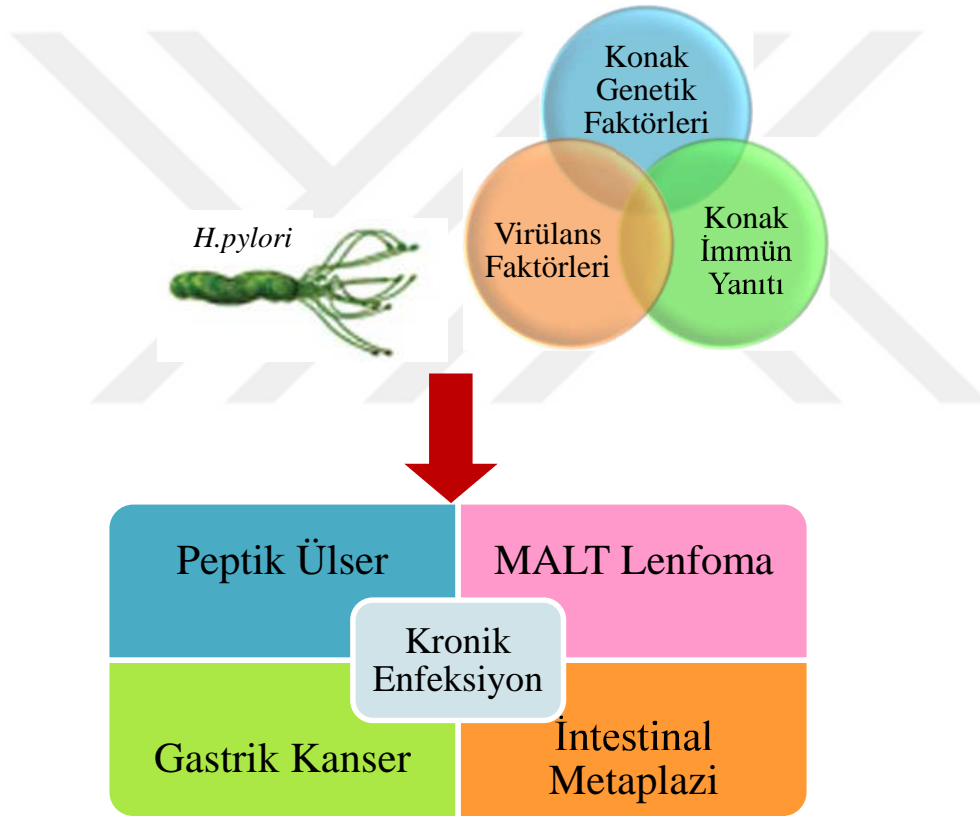
Mukozada programlı bir fizyolojik süreç olan mide epitelyal apoptozisi ile proliferasyonu dengeli bir biçimde hücre siklusunu düzenlemektedir. Örneğin, apoptoziste bir düşüş veya proliferasyonunda artış gibi etkenlerle sözkonusu dengenin sağlanamaması karsinogenezde büyük role sahiptir (42).



Şekil 5. *H. pylori*'nin çeşitli patojenite faktörleri ve polarize gastrik epitel hücreleri arasındaki etkileşim (34).

2.11. İnflamasyon ve Karsinogenez

H.pylori kronik gastrit oluşumuna neden olmaktadır. Kronik gastrit, gastrik karsinomun gelişiminde etkili bir etkidir. Ek olarak metaplazi ve diğer faktörler *H.pylori* enfeksiyon beraberliği midede kanserogenez oluşumunda iki patolojik etmendir. Karsinomanın gelişmesini açıklayan hipoteze göre, nitrattan nitrit oluşumunun azaltılmasını bakteriler sağlayarak karsinojenik özellikteki nitrozamine neden olmaktadır. Başka bir mekanizma ise; hücrelerin süperoksit ve nitrooksit açığa çıkararak karsinojenik nitrozamine neden olmalarıdır. Bugün kabul gören; kronik gastritin intestinal metaplaziye yol açmasına sebep olmasıdır. Buda malign değişime uğramaktadır (16).



Şekil 6: *H.pylori* ve Enfeksiyon Tablosu

Kanser; genetik bozukluk yani kontrolsüz hücre çoğalması olarak tanımlanmaktadır. Onkogenlerin aktif olması, tümör süpressör genlerin inaktivasyonu, DNA tamir mekanizmasının bozulması ve tümör hücresinin immun sistemden kendisini koruması gibi durumlar temel fizyopatolojiyi oluşturmaktadır (43).

Mide kanseri; mide mukoza epitelinde orijinlenip, lümen içinde yayılım gösteren malign bir hastalıktır. Malign hastalıklar arasında en sık ölüm nedenleri arasında yer alan mide kanseridir (43). Mide kanseri dünya genelinde dördüncü sıklıkta görülmekte, ancak kanserle ilişkili ölümlerde üçüncü sırada yer almaktadır. Dünya genelinde yeni tanı alan kanserlerin %8'i ve kanser nedeniyle olan ölümlerin %10'u mide kanserine bağlıdır. Vakaların %75'i gelişmiş ülkelerde özellikle uzak doğu ülkelerinde görülmektedir. Türkiye'de kanser türlerinde mide kanseri ikinci sırada yer almaktadır. Genel olarak, erkekler kadınlara göre iki kat daha sıklıkla etkilenmekte ve ortalama görülme yaşı 60-70'tir. Erken evrelerde asemptomatik olduğundan kötü prognozun en önemli nedeni tanının geç evrelerde konulmasıdır (44). Ayrıca yapılan çalışmalar sonucunda mide kanseri etiyojisi için önemli mekanizmanın DNA onarım sisteminde çoklu gen defekti olduğu görüşü ağırlık kazanmaktadır (45).

Tablo-1: Kanser gelişiminde *H.pylori*'nin indüklediği faktörler (46).

Faktör	İnflamatuvar etki	Kanser gelişimindeki rolü
IL-8	Lenfosit ve nötrofilleri tanıma.	Gastrin salınımını uyararak epitelyal hücrelerde proliferasyona neden olur. NF-Kb aktivasyonu ve COX-2 ekspresyonu, pro-angiogenic aktivite.
IL-1 β	Makrofaj ve aktivasyonu. IL-6 salınımını uyarma, COX-2 Ekspresyonu	Hipergastrinemi ve epitelyal hücre proliferasyonunu uyarır. Pro angiogenic aktivite. Matrix metalloproteinaz sekresyonunu uyarır ve aktive eder.
TNF α	Makrofaj aktivasyonu ve farklılaşması. Epitelyal hücrelerde apoptozis ve epitelyal bariyerde bozulma. Mikrovasküler epitelyal hücre proliferasyonu ve yara iyileşme inhibisyonu	Hipergastrinemi ve epitelyal hücrelerde proliferasyon. NF- κ B aktivasyonu ve COX-2 ekspresyonu.
Reaktif Oksijen Ürünleri	DNA hasarı ve bakterinin Öldürülmesi	DNA hasarı. Mutasyon. Konakçı sinyal yollarının aktivasyonu ve angiogenezis.
Nitrikoksit	DNA hasarı ve bakterinin Öldürülmesi	Doku DNA hasarı, mutasyon, DNA tamir mekanizmalarının inhibisyonu, apoptozis inhibisyonu, Angiogenik aktivite.

2.12. *Helicobacter* Enfeksiyonlarının Epidemiyolojisi

Dünyadaki en yaygın enfeksiyonlardan biriside *H.pylori* enfeksiyonudur. Enfeksiyonun görülme sıklığı, bulaşı ve etmenin bulaşmasında etkili faktörler üzerinde odaklanan çeşitli araştırmalar yapılmıştır. *H.pylori* görülme sıklığı devletlerin ekonomik, sosyal, kültürel gelişme düzeyleri ile ilişkili olduğu kabul edilmektedir. Ayrıca tükürükte PCR yöntemi kullanılarak oral yolla bulaşabildiği fikrini desteklemektedir. İnsandan insana kontamine materyalde bulaşı olabilmektedir (18).

H.pylori kolonizasyonu yaşla ve coğrafik bölgeyle yüksek oranda ilişkilidir. Kolonizasyon riski olarak cinsiyet ayrımında farklılık görülmemektedir. Gelişmişliğini tamamlayan ülkelerde erişkin nüfusunun yarısı, gelişmeye devam eden ülkelerde ise nüfusun % 80-90 enfekte olmaktadır. Yaşam standartları düşük olan ülkelerde etkenin alınması kolay olmakta ve ömür boyu devam etmektedir (47).

2.13. *H.pylori*'nin Etkili Rol Oynadığı Hastalıklar

2.13.1. Gastrit

H.pylori enfeksiyonu olarak en çok görülen kronik gastrittir. Gastrit sınıflandırılmaları son olarak Sydney sistemine göre yapılmıştır. Gastrit patogenezinde *H.pylori*'nin pozitifliğinede bakılarak Sydney Klasifikasyon Sistemi ile gastrik patolojiler, histopatolojik ve endoskopik olarak iki gruba ayrılmıştır. Gastrik dokuda *H.pylori*'nin neden olduğu hasar ispatlanabilmektedir. *H.pylori*; direkt veya indirekt süreçlerle mukozayı harabiyete uğratabilmektedir (48). Mukozada bakteri genellikle yamalı bohça şeklinde lokalize olmaktadır. Ayrıca hücrelerde düzenli olmayan dizilim görülmüş ve mukusta azalmanın olduğu bildirilmiştir (49).

2.13.2. Peptik Ülser

Peptik ülser, mide asidi ve pepsin gibi agresif faktörlerle mukozal savunma arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklanan bir hastalıktır. Asit ve pepsin ile ilişkilerinden dolayı üst gastrointestinal sistemde görülen ülserlere peptik ülser denir. Duodenal ve gastrik ülseri kapsamaktadır. Peptik ülser hastalığı etiyolojisi multifaktöriyel bir hastalıktır. Carrick ve arkadaşları *H.pylori*'nin ülserasyonu 52 kat arttırdığını göstermişlerdir (47).

2.13.3. Gastrik Atrofi, Mide Kanseri ve MALT Lenfoma

H.pylori gastriti; antrum ve korpus ağırlıklı olmasına göre çeşitli ülserasyonlara neden olmaktadır. Bu bağlamda duodenal ülser, gastrik ülser veya kanser prognozu ile sonuçlanabilmektedir. Söz konusu mikroorganizma adenokarsinom mekanizmalarını indüklemekte, metaplazi oluşmasında da patolojik bir etkidir. Correa tarafından intestinal tip gastrik kansere yol açtığı savunulan hipotezde, asit salgılayan bezler zamanla gerilemektedir. Yapılan çalışmalarda *H.pylori* ile infekteli kronik gastritli bireylerin çok azında midede asidik salgının bariz bir şekilde azaldığı tespit edilmiş, Correa hipotezi desteklenmiştir. *H.pylori* bir taraftan mide salgısındaki hem hidroklorik asit hem de askorbik asit seviyesini azaltırken, buraya diğer bakterilerin yerleşmesiyle nitrozamin oluşumuna neden olması, diğer taraftan infekte olmuş mukozada kronik inflamasyonun neden olduğu hızlı hücre değişimi sırasında DNA da oluşan hasarlar nihayetinde kanserojeneze sebebiyet vermektedir (47). *H.pylori* gastritinde mukozada lenfoid moleküller görülmektedir. Gastrik lenfomaların çoğu B lenfosit hücre yardımıyla oluşur, lenfoid tümör (MALToma) oluşumların görülmesiyle sonlanır. Ayrıca *H.pylori* ile infekte kişiler olmayanlarla kıyaslandığında B hücreli MALT lenfomanın altı kat arttığı gösterilmiştir (47).

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

Çalışma için herhangi bir gastroduodenal yakınma sebebi olan, prospektif olarak gastroskopik tetkikinde peptik ülser saptanan, üre nefes testi, histopatoloji veya gaitada *H.pylori* antijeni sonuçlarından en az ikisinde pozitiflik saptanan *H.pylori* pozitif peptik ülserli 43 hasta ve çalışmanın kontrol grubunu oluşturacak sağlıklı 43 gönüllü alındı. Çalışmaya 18-70 yaşları arasında *H.pylori* pozitif peptik ülserli hastalar dahil edildi. Özellikle ileri evre demans, ciddi solunum yetmezliği gibi nedenlerle üre nefes testini yapamayan hastalar çalışma dışında bırakıldı. 18 yaş altı ve 70 yaş üstü hastalarda çalışma dışında bırakıldı. Hastalar, endoskopi öncesi en az 12 saat aç bırakıldı. Endoskopilerin tamamı deneyimli gastroenterologlar tarafından yapıldı. Hastalar 10 saatlik katı ve 5 saatlik sıvı kısıtlamalarını takiben işleme alınıp, örnekler Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Patoloji Laboratuvarı'na gönderildi. Tüm hastalara C14 üre nefes testi, en az altı saatlik açlık sonrası 37 kBq (1µCi) C14 üre/sitrik asit içeren kapsül 25 ml'lik su ile içirilerek yapıldı. Hasta kapsülü içtikten 10 dakika sonra, Heliprobe kartuşlarına pH indikatörü turuncudan sarıya dönüşene kadar üfletildi. Kartuşlardaki C14 aktivitesi Heliprobe analizörle 250 saniye ölçüldü. Pozitif ve negatif sonuçlar Hegedus ve ark. önerdikleri değerler esas alınarak değerlendirildi ve <25 cpm: negatif, 25-50 cpm: şüpheli, >50 cpm: pozitif olarak kaydedildi (17). Çalışmada serum örneklerinde DNA hasar seviyesi 8-OHdG (8-Hydroxydeoxyguanosine) Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (Fine Test; Wuhan Fine Biotech Co., Ltd., Catalogue No: EU2548) kit ve endotoksin analizi için HEK-Blue™ LPS Detection Kit 2 (InvivoGen; Colorimetric cell-based assay; Catalog: rep-lps2; Version: 15C04-MT) kitleri satın alınıp, kit protokolleri uygulandı. Analizler sonucunda elde edilen veriler SPSS (Statistical Package for Social Science) istatistik programına aktarılıp, DNA hasar seviyesi için serum örneklerinde 8-OHdG miktarının ve endotoksin analizi içinde endotoksin miktarının hasta ve kontrol grubu arasında fark olup olmadığı, ayrıca bu iki analiz sonuçları arasında ilişki olup olmadığı değerlendirildi. Çalışmaya dahil edilen hastaların tümünden işlem öncesinde aydınlatılmış onam formu alındı.

3.1.1. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonucunda data analizi için SPSS 16 paket programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler değişkenler için ortalama standart sapma olarak, nominal değişkenler için gözlem ve yüzde olarak ifade edildi. Parametrik değişkenler ise student t testi ile karşılaştırıldı ve korelasyon analizi için pearsons's korelasyon katsayısı kullanıldı.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. 8-OHdG - DNA Hasar Seviyesinin Belirlenmesi

Çalışmada DNA hasar belirteci olarak 8-OHdG referans alındı, 8-OHdG ELISA kiti kullanılıp, üretici firmanın (Fine Test, EU2548) bildirdiği metoda göre gerçekleştirildi. Metod, ELISA testinin saptama aralığının 1.563 ng/ml - 100 ng/ml olduğunu ve saptayabildiği en düşük konsantrasyon 0.938 ng/ml'nin altında olduğu belirtmiştir.

Test metoduna göre tüm solüsyonlar kullanılmadan önce oda sıcaklığına getirildi. Kit içerisinde mevcut liyofilize standart tüp içerisine 1 ml Sample/Standart dilüsyon tamponu eklendi. Konsantre standart 100 ng/ml olup, 6 adet ependorf tüpe(Isolab) 300 µl Sample/Standart dilüsyon tamponu eklendi. Konsantre standart aşağıdaki tabloya göre 2 katlı olarak sulandırıldı (Tablo 2).

Tablo-2. Konsantre 100 ng/ml (1ml) standart çözelti dilüsyonları

Standart Konsantrasyon	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6
Standart Konsantrasyon(ng/ml)	100	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56

Konsantre 25X olan yıkama solüsyonu hazırlandı. Bunun için 30 ml konsantre yıkama tamponu 750 ml distile su ile karıştırıldı. Sonrasında Biotin İşaretli Antikor Çalışma Solüsyonu hazırlandı. Bu nedenle Biotin işaretli antikor (Biotin-labeled Antibody(Concentrated)), Antikor dilüsyon tamponu ile 1:100 oranında sulandırıldı. Örneğin; 60µl Biotin-antikoruna 5.94 ml Antikor dilüsyon tamponu ilave edilir. Son olarak HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonu hazırlandı. Bunun içinde SABC, SABC dilüsyon tamponu ile 1:100 oranında

sulandırıldı. 0.1 ml SABC'a 9.90 ml SABC dilüsyon tamponu ilave edildi. Kullanılacak kit elemanlarının hazırlanması sonrasında kit protokolü aşağıda ifade edildiği gibi adım adım uygulandı:

1. Çalışma öncesinde kit içerisinde mevcut tüm solüsyonlar oda sıcaklığına getirildi. Daha sonra plak ilk sütununda 7 kuyucuğa 50µl standart dilüsyonları, son kuyucuğa 50µl blank (Sample/Standard dilüsyon tamponu) ve sırasıyla diğer kuyucuklara 50 µl serum örnekleri eklendi.
2. Hemen sonrasında tüm kuyucuklara 50 µl Biotin işaretli antikor çalışma solüsyonu eklenip, kit içerisindeki plak kapatma aparatı ile kapatıldı. İnkübatörde(Thermo) 37°C'de 45 dk inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrasında kuyucuk içeriği boşaltılıp, her kuyucuğa 350 µl yıkama tamponu eklenip, yıkama tamponuyla yıkandı. Bu işlem üç kez tekrarlandı.
4. Sonrasında tüm kuyucuklara 100 µl HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) çalışma solüsyonu eklendi. Plak yüzeyi kapatılıp, 37°C'de 30 dk inkübe edildi. Süre sonunda plak beş kez yıkama tamponuyla yıkandı.
5. Herbir kuyucuğa 90µl TMB substrat eklenerek, 37°C'de 15-30 dk ışısız ortamda inkübe edildi. İnkübasyon süresi aşılmadan, renk değişimi gözleendiğinde, kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve sarı renk oluşumu gözleendi.
6. Son olarak, 450 nm'de mikropalak okuyucuda (Thermo, Multiskan Go) optik yoğunluk(OD₄₅₀) değeri belirlendi ve analiz verileri değerlendirildi.

3.2.2. Endotoksin Analizi

Serum örneklerinde biyolojik olarak aktif endotoksinin tespitini sağlayan HEK-Blue™ LPS Detection Kit2 kullanılarak, üretici firmanın (InvivoGen) tavsiyeleri doğrultusunda kit protokolü çalışıldı.



Şekil 7. HEK-Blue™ LPS Detection Kit Elemanları

➤ Çalışma Protokolü ve Uygulanacak İşlemler

3.3. HEK-Blue™-4 Hücrelerin Kit Protokolüne Göre Kullanımı

3.4. Kit Protokolünün Uygulanması- Endotoksin Analizi

3.3. HEK-Blue™ -4 Hücrelerin Kit Protokolüne Göre Kullanımı

3.3.1. HEK-Blue™-4 Hücreleri ve Medium

Endotoksin sensör hücreleri olan ve LPS'ye karşı son derece duyarlı olarak tasarlanan HEK-Blue™-4 hücreleri, tasarlanmış HEK293 hücreleridir. Bu hücreler TLR4 yolağı ile TLR4 ve birçok gen eksprese etmektedir. Ayrıca NF- κ B ile indüklenebilen, salgılanan embriyonik alkalın fosfataz (SEAP) raportör gen ile birlikte eksprese etmektedirler. Dakikada LPS miktarı, NF- κ B aktivasyonuna yol açan HEK-Blue™-4 hücreleri tarafından tespit edilmektedir.

3.3.2. Büyüme Ortamı

Hücrelerin beslenmesini ve büyümesini sağlayacak; %10 endotoksinsiz FBS (50 ml Endotoksinsiz Fetal Sığır Serumı (FBS) (InvivoGen), %1 l-glutamin(Sigma) ve %1 penisilin/streptomisin(Sigma) takviye edilmiş Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) ve 1X Normocin™ (InvivoGen) büyüme ortamını içerir. Test mediumu ise 30 dakika 56°C'de ısı ile inaktive edilmiş % 10 FBS içeren besiyortamıdır.

3.3.3. QUANTI-Blue™

Kit içerisinde mevcut SEAP substratı olan QUANTI-Blue™ tozu, 250 ml'lik steril bir cam şişeye konulup, 100 ml endotoksinsiz su eklenerek yavaşça karıştırıldı. QUANTI-Blue™, 30 dakika 37°C'de bekletilip kullanıldı.

Seyreltilmiş Tripsin-EDTA çözeltisi içinde 10 ml 1X Tripsin-EDTA (Sigma) ile 20ml PBS karıştırıldı.

3.3.4. HEK-Blue™ Endotoksin Standardı

Kit içerisindeki HEK-Blue™ Endotoksin Standardın bir tüpü 50 EU (Endotoxin Unit) liofilize endotoksin içermektedir. Başlangıç stok solüsyonu elde etmek için, tüp içeriğine 1 ml endotoksin içermeyen su eklenip, sulandırıldı. Endotoksin cama tutunma eğiliminde olduğundan vorteksleyerek kuvvetlice karıştırıldı. Böylece başlangıç stok solüsyonu 50 EU/ml'lik bir konsantrasyona sahiptir. Başlangıç stok solüsyonu 1: 50 oranında seyreltilerek 1.0 EU/ml HEK-Blue™ Endotoksin Standart stok çözeltisi hazırlandı. 1.0 EU/ml HEK-Blue™ Endotoksin Standart stok çözeltisi vortekslenip, kuvvetlice karıştırıldı. Aşağıda belirtildiği gibi endotoksin içermeyen su kullanarak mikropakta 1.0 EU/ml HEK-Blue™ Endotoksin Standart stok çözeltisi iki katlı seri dilüsyonlar halinde hazırlandı.

Tablo-3. HEK-Blue™ Endotoksin 1.0 EU/ml Standart stok çözeltisi iki katlı seri dilüsyonları

Standart Konsatrasyon	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9
Standart Konsatrasyon(EU/ml)	1.0	0.5	0.25	0.125	0.062	0.031	0.016	0.008	0.004	Blank

3.3.5. Dondurulmuş HEK-Blue™-4 Hücrelerinin Çözdürülmesi

Hücre kültürü için kullanılacak malzemeler üretici firmalardan temin edilip, 160°C'de 60-90 dakika sterilizasyonu sağlandı. 0,2 µm por çapına sahip filtre kullanılarak kullanılacak olan sıvı malzemeler (antibiyotikler vs.) dekontamine edildi. Çalışma için hava akışlı kabin, 15 dakika ultraviyole ışık ile steril edildi. Daha sonra kabin, %70 etilalkolle silindi. Sterilize edilmiş kabine, kullanılacak materyaller %70 etilalkolle silinip alındı. Kullanılacak materyaller özenle kabin içerisinde ambalajdan çıkarılıp, çalışma ortamı hazır hale getirildi. HEK-Blue™ LPS Detection Kit ile dondurulmuş olarak temin edilen HEK-Blue™-4 hücreleri 37°C su banyosunda hafifçe çalkalayarak çözdürüldü. Çözülme işlemi hızlıca olup, yaklaşık 2 dakikada tamamlandı. İçerik çözülür çözülmez su banyosundan çıkarıldı ve % 70 etanol püskürtülerek dekontamine edilip, steril kabine alındı. Önceden ısıtılmış 20 ml büyüme ortamı içeren steril falkon tüp içine çözdürülmüş hücreler nazikçe aktarıldı ve 1200 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonunda hücreler, pelet kısmında çöktürüldü. Vakum sistemi ile süpernatant kısım atıldı ve pelet üzerine 5 ml büyüme ortamı eklenip, hücreler yeniden süspanse edildi. Ortamın aşırı alkalinitesini önlemek için önceden ısıtılmış 15 ml büyüme ortamı içeren 75 cm²'lik hücre kültürü şişesi (flask) CO₂ inkübatöründe(Thermo) 15 dakika bekletildikten sonra alınıp, flaska hücre solüsyonu aktarıldı. + hareketiyle flaskta yayılım sağlandı. Flask 37°C'de ve %5 CO₂ ortamda gece boyunca inkübe edildi. İnvirt mikroskop(Olympus CKX41) ile kültür günlük gözlemlenerek hücrelerin büyümesi takip edildi. 75 cm²'lik flakstaki hücreler %50-80'e ulaştığında, büyüme ortamı uzaklaştırılıp, 2-3 ml seyreltilmiş tripsin ile hücreler tripsinize edildi. Tripsinizasyon yoluyla, flask yüzeyine tutunan hücreler kaldırıldı. Daha sonra büyüme ortamı ve 1X HEK-Blue™ Selection ile desteklenmiş seçim(Selection) ortamında hücreler büyütüldü. Endotoksin analizi için kit prosedüründe kullanabilmek için; 1X HEK-Blue™ Selection büyüme ortamında hazırlanan HEK-Blue™-4 hücrelerin kültür ortamından ayrılması amacıyla ılık 7 ml PBS ile dikkatlice yıkanıp, CO₂ inkübatöründe 37°C'de 2-5 dakika inkübe edildi. PBS varlığında hücreler flask yüzeyinden kaldırılıp, ortama eklenen PBS; vakum sistemi ile uzaklaştırıldı. Daha sonra flask yüzeyinden kaldırılmış hücreler, önceden ısıtılmış Test Medium'da pipetle hafifçe hücre süspansiyonu homojenize edildi. Hücreler Test Medium'da seyreltildi. Kullanılmayan HEK-Blue™-4 hücreleri, hücre stoğu için kaldırıldı. Stok alınacak hücreler dondurucu ortamda (5ml siteril DMSO takviye edilmiş büyüme ortamı) hücreler süspanse edilip, kriyotüp başına 1 ml hücre süspansiyonu dağıtıldı, önce 30 dk -20°C de, sonra -80°C'de muhafaza edildi.

3.4. Kit Protokolünün Uygulanması - Endotoksin Analizi

1. 96 kuyucuklu düz tabanlı plakta (Test plak) ilk kuyucuktan başlanıp 20 µl HEK-Blue™ Endotoksin Standart dilüsyonları, diğer kalan kuyucuklara sırasıyla kontrol ve hasta serumları eklendi. Sonrasında tüm kuyucuklara 20 µl endotoksinsiz su eklendi.
2. Test Medium'da seyreltilmiş 160µl HEK-Blue™-4 hücre süspansiyonu, tüm kuyucuklara eklendi. Test plak % 5 CO₂ inkübatöründe 37°C'de 18-24 saat inkübe edildi.
3. İnkübasyon sonrasında Test plakın karşılık gelen her bir kuyucuğundan 20 µl alınıp, yeni bir plakın (Detection plak) her kuyucuğuna özenle aktarıldı.
4. Detection plak kuyucuklarına, 180 µl QUANTI-Blue™ eklendi ve 1-6 saat 37°C'de inkübe edildi.
5. Son olarak inkübasyon sonrasında Detection plak, 620-655nm'de mikropalak okuyucuda optik yoğunluk değeri belirlendi. Numunelerin endotoksin konsantrasyonu hesaplandı.

4. BULGULAR

Araştırma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Polikliniğine herhangi bir gastroduodenal yakınma sebebi ile başvuran, *H.pylori* pozitif peptik ülserli 43 hasta ve 43 sağlıklı gönüllü alınarak, hasta ve kontrol grubu olarak çalışıldı.

Çalışmaya dahil edilenlerin yaş ve cinsiyet özellikleri Tablo 4'te gösterilmektedir. Yaş ortalaması 40,5 14,3, kontrol grubunda 39,7 13,1 ve hasta grubunda 41,3 15,6 idi. Çalışmaya katılanların %31,8'i 18-30 yaş arası, %43,9'u 31-49 yaş arası, %24,2'si 50 yaş ve üzeri idi. Toplamda 29'u (%33,3) kadın, 57'si (%66,7) erkek idi. Hasta grubunda 13 (%30,3) kadın, 30 (%69,7) erkek; Kontrol grubunda 16 (%36,4) kadın, 27 (%63,6) erkekti. Yaş ve cinsiyet açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo-4: Bireylerin yaş-cinsiyet özellikleri

Değişkenler	Sayı (n)	Yüzde(%)
Yaş		
18-30 yaş arası	27	31,8
31-49 yaş arası	38	43,9
50 yaş ve üzeri	21	24,2
Cinsiyet		
Kadın	29	33,3
Erkek	57	66,7

Çalışmaya katılanların sigara kullanım alışkanlıkları Tablo 5'te gösterilmekte olup, 36'sı (%42,4) sigara kullanmaktayken, hasta grubunda 17'si (%39,4), Kontrol grubunda ise 19'u (%45,5) sigara kullanmaktaydı. Çalışmaya katılanların hiçbirinde alkol kullanımı yoktu.

Tablo-5: Sigara kullanımı

Değişkenler	Hasta Grubu		Kontrol Grubu	
	Sayı (n)	Yüzde(%)	Sayı (n)	Yüzde(%)
Sigara				
Var	17	39,4	19	45,5
Yok	26	60,6	24	54,5

Endoskopik olarak alınan biyopsilerde; *H.pylori* şiddeti hastaların 19'unda (%43,9) hafif, 21'inde (%48,5) orta, 3'ünde (%7,6) şiddetliydi (Tablo 6).

Tablo-6: Hastaların Patoloji Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Değişkenler	Hasta Grubu	
	Sayı (n)	Yüzde(%)
Hafif	19	43,9
Orta	21	48,5
Şiddetli	3	7,6

Gastroskopiye peptik ülser (mide ülseri+duodenal ülser) saptanan ve biyopsi sonucunda histopatolojik olarak *H.pylori* pozitif olan hastaların gaitada antijen testi tüm hastaların 17'sinde (%40,0) *H.pylori* pozitif, 26'sında (%60,0) *H.pylori* negatifti. (Tablo 7).

Tablo-7: Hastaların gaitada *H.pylori* antijen testi

Değişkenler	Hasta Grubu	
	Sayı (n)	Yüzde(%)
Pozitif	17	40
Negatif	26	60

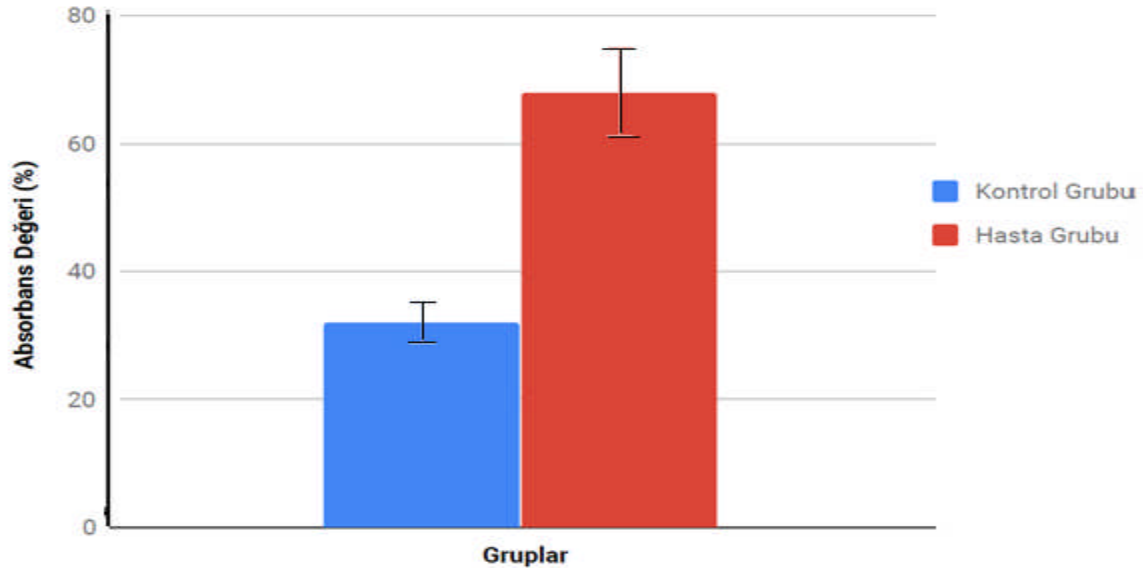
Hastaların üre nefes testi sonuçları ise 40 (%93,0) hastada *H.pylori* pozitif, 3 (%7,0) hastada *H.pylori* negatif negatif olarak tespit edildi (Tablo 8).

Tablo-8: Hastaların üre nefes testi

Değişkenler	Hasta Grubu	
	Sayı (n)	Yüzde(%)
Pozitif	40	93,0
Negatif	3	7,0

4.1. ELISA Yöntemiyle 8-OHdG Miktarının Belirlenmesi

H.pylori pozitif peptik ülserli hastaların serum örneklerinde DNA hasar seviyesinin belirteci potansiyeline sahip olan 8-Hidroksideoksiguanozin (8-OHdG) referans alınarak, serum örneklerinde 8-OHdG miktarı, ELISA yöntemiyle tespit edildi.



Grafik 1: Hasta ve Kontrol Grubu 8-OHdG açısından karşılaştırılması

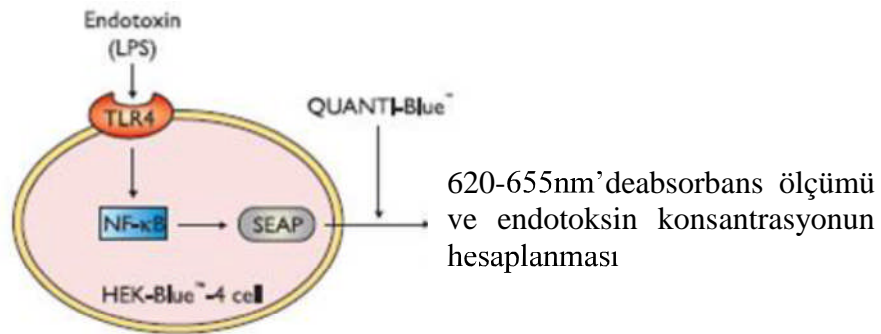
DNA hasar analizi için sağlıklı ve hasta serum örneklerine uygulanan ELISA yöntemi sonucunda elde edilen absorbans değerleri alınıp, istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p < 0,01$). Elde edilen sonuçlara istinaden *H.pylori* pozitif peptik ülserli hastalar ile sağlıklı kişiler arasında 8-OHdG miktarının farklı olduğu gözlemlendi.

Tablo-9: *H.pylori* (+) Peptik Ülserli Hastalar ve Kontrol Grubu serum örneklerinde 8-OHdG (ng/ml) değerleri

Parametre	Hasta Grubu Ortalama \pm Değerleri	Kontrol Grubu Ortalama \pm Değerleri	İstatistiksel Anlamlılık Değeri
8-OHdG (ng/ml)	5,07 \pm 1.89	2,37 \pm 1.18	p<0.01

4.2. HEK-Blue™ LPS Detection Kit ile Endotoksin Analizi

HEK-Blue™ LPS Detection Kit elemanı olan ve biyolojik olarak aktif endotoksini sağlayan HEK-Blue™-4 hücreleri tarafından endotoksin miktarı tespit edilmektedir. Burada amaç; aslında özel olarak tasarlanmış HEK293 hücreleri olan HEK-Blue™-4 hücreleridir. HEK-Blue™-4 hücreleri endotoksin sensör hücreleridir ve LPS'ye karşı son derece duyarlı olarak tasarlanmıştır. Özel olarak tasarlanmış bu hücreler TLR4 yolağı ile TLR4 ve birçok gen eksprese etmektedir. Ayrıca NF- κ B ile indüklenebilen, salgılanan embriyonik alkalik fosfataz (SEAP) raportör gen ile birlikte eksprese etmektedirler. 0.01 EU/ml kadar duyarlılığa sahip ve dakikada LPS miktarı, NF- κ B aktivasyonuna yol açan HEK-Blue™-4 hücreleri tarafından tespit edilmektedir.



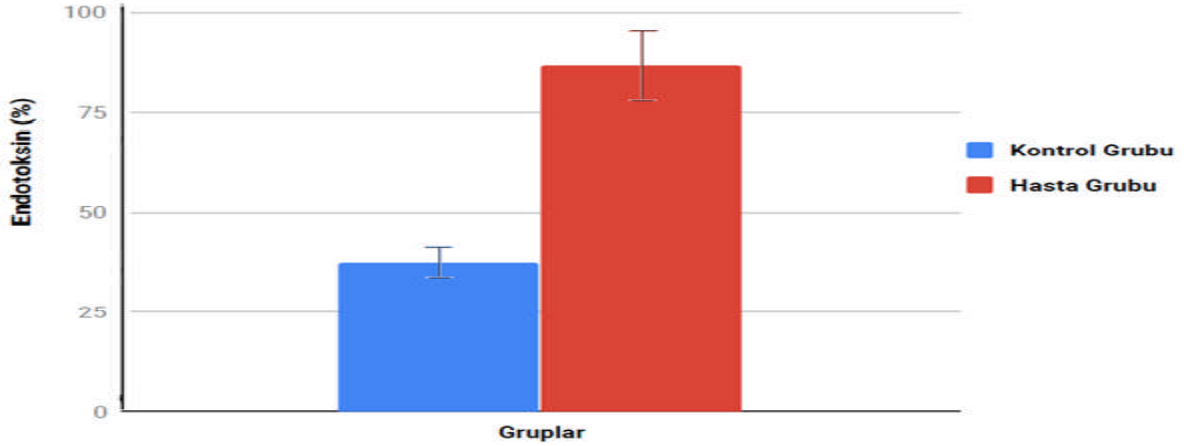
Şekil 8: HEK-Blue™ LPS Detection Kit çalışma prensibi

Hasta ve kontrol grubu serum örneklerinde biyolojik olarak aktif endotoksinin tespitini sağlayan kit içerisinde mevcut HEK-Blue™-4 hücreleri tarafından tespit edilen endotoksin miktarının hasta ve sağlıklı bireyler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi ($p<0,01$).

Tablo-10: *H.pylori* (+) Peptik Ülserli Hastalar ve Kontrol Grubu serum örneklerinde endotoksin absorbans (ng/ml) değerleri

Parametre	Hasta Grubu Ortalama \pm Değerleri	Kontrol Grubu Ortalama \pm Değerleri	İstatistiksel Anlamlılık Değeri
Endotoksin (ng/ml)	10,39 \pm 3.36	4,52 \pm 1.73	$p<0.01$

HEK-Blue™-4 hücre süspansiyonuna maruz bırakılan hasta ve kontrol grubu serum örnekleri 24 saat inkübasyon sonrasında substrat görevi üstlenen QUANTI-Blue™ eklendi. Kit protokolünün uygulanması sonucunda elde edilen veriler görsel olarak ifade edildi.



Grafik 2: Hasta ve Kontrol Grubunun Endotoksin değerleri açısından karşılaştırılması

H.pylori (+) pozitif peptik ülserli hastaların serum örnekleri ve kontrol grubu serum örneklerinde 8-OHdG ölçümleri ve endotoksin analizi yapıldıktan sonra elde edilen veriler değerlendirilerek bu iki parametre arasında herhangi bir ilişki olup olmadığı tespit edebilmek amacıyla son olarakta korelasyon analizi yapıldı.

Tablo-11: Pearson korelasyon analizi

Korelasyon	Endotoksin	N
8-OHdG-DNA Hasarı	$r: -0,259$	43 Hasta 43 Kontrol

SPSS programında yapılan korelasyon analizine göre DNA hasar belirteci potansiyeline sahip 8-OHdG ile endotoksin seviyeleri arasında negatif yönde zayıf bir korelasyon olduğu gözlemlendi.

5. TARTIŞMA

Dünya genelinde kanser yüksek mortaliteye sahip hastalıkların başında gelmektedir. Mide kanseri dünya çapında her yıl yarım milyon insandan daha fazla kişinin ölümüne sebep olmaktadır. Mide kanseri, kansere bağlı ölümlerde 2.sırada yer almaktadır, çok çeşitli tedavi stratejilerini denenmesine rağmen *H.pylori* enfeksiyonu ülkemizde ve dünyada sıklıkla görülmekte ve hala zorlu bir klinik sorun olarak görülmektedir. *H.pylori* enfeksiyonu gastrointestinal sistemde görülmekte ve kötü hijyen koşulları, sosyoekonomik koşulların kötü olması enfeksiyon riskini arttırmaktadır. *H.pylori* insan mide mukozasında kolonizasyonu ile gastrit, peptik ülser, düşük dereceli MALT lenfoma ve mide kanseri gibi hastalıklarda patojenik öneme sahip gram-negatif bir bakteridir. Sözkonusu bakteriyle enfeksiyonlarının insanlarda yüksek morbidite ve mortalite hızına sahip olduğu görülmektedir (1, 16, 23).

H.pylori midede en sık antrum bölgesinde yerleşir. Günümüzde gastrik kanser, diğer doku ve organları önemli derecede etkileyebilme potansiyeline sahip, önemli bir tehdit olarak kabul görmektedir. *H.pylori*, gastroduodenal hastalıkların oluşması sürecinde etken bir faktör olmaktadır. *H.pylori* prevalansı genel olarak etnik grup ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. *H.pylori* pozitifliği prevalansı Türkiye’de bölge ve yaş gruplarına göre değişebilmektedir. Yaşla birlikte bu sıklık artmaktadır. Ülkemizde farklı oranlar saptanmış; serolojik yöntemler, hızlı üreaz testi veya endoskopik biyopsilerin histopatolojik incelenmesi sonucunda Şanlıurfa’da %89,8, Van’da %87, Erzincan’da %78,4, Erzurum’da %71, Sivas’ta %70,1, Konya’da %64, İstanbul’da %62,7, Kayseri’de %58,4, Giresunda %55,2, Trakya bölgesinde %52,8 ve Kırşehirde %25,2 olarak bildirilmiştir (22, 25). Ayrıca peptik ülserin en sık sebeplerinden biri *H.pylori* olduğundan çalışmaya dahil edilen hastalar gastroskopisinde peptik ülserli ve histolojik olarak *H.pylori* (+) olan hastalar alındı ve çalışmada *H.pylori*’nin enfeksiyon sürecini hücresel boyutta ele alıp pozitif peptik ülserli hastalarda DNA hasar seviyesi ve endotoksin analizini irdeleyip bunlar arasında bir korelasyon olup olmadığını, korelasyon olması halinde korelasyon gücünü değerlendirmeyi amaçladık.

H.pylori 100 000 yıldan daha fazla süre için insanlarla ilişkilendirilmiştir ve tarihöncesi insanlar için karmaşık demografik olayları izlemek amacıyla bir gösterge olarak kullanılır. Buna bağlı olarak dünya çapında mide adenokarsinomu, kansere bağlı ölümlerde önde gelen üçüncü nedeni temsil etmektedir ve her yıl yaklaşık 700.000 kişi bu maligniteden ölmektedir. Son epidemiyolojik verilere göre dünya çapında kanser vakalarında mide kanseri; erkeklerde dördüncü, kadınlarda beşinci nedeni olmakta ve kansere bağlı ölümlerde erkeklerde üçüncü, kadınlarda beşinci sıradadır. Buna göre *H.pylori* enfeksiyonunu tetikleyen Nitrik oksit (NO) metabolitleri, gastrit ve gastrik kanser gelişiminde risk faktörü olarak değerlendirilmektedir. Yapılan çalışmalar HP kolonizasyonunun mide ve hatta diğer organlardaki mevcut mikrobiyota kompozisyonunu değiştirebileceğini göstermiştir. Ayrıca son yıllarda, HP'nin konak savunmasını nasıl zayıflattığını açıklamak için çeşitli moleküler yollar ortaya çıkarılmıştır. Bu çalışmalar, enfeksiyonun klinik sonucunun; kompleks konak-patojen etkileşimleriyle düzenlendiğini ortaya koymuştur. Virulans ile ilişkili olarak kemotaksi, oksidatif stres indüksiyonu, reseptör tirozin kinaz, E-cadherin, integrinler, transkripsiyonel yanıtların manipülasyonu (proinflamatuvar, proliferatif ve antiapoptotik genlerin indüksiyonu, asit sekresyonunun baskılanması gibi) ve epitel bariyerin bozulması gibi özellikleri içermektedir. Ayrıca *H.pylori* virülans faktörlerinden VacA; konak hücre içerisinde hücrel vakuolizasyona neden olmakta ve buda ülserasyon sürecine işaret etmektedir. HP, hidrojen peroksit seviyelerini artırarak oksidatif strese neden olmaktadır (10, 34).

Oksidatif stres, biyolojik sistemlerde hücrel metabolizma sırasında veya çeşitli yollarla oluşan oksidan serbest radikallerdeki artışa karşılık antioksidanların yetersiz kalması sonucu moleküler hasara neden olabilecek oksidatif dengenin bozulmasıdır. Söz konusu oksidan moleküllerin hücre içi hedefleri organizmanın yapı elemanları olan DNA, protein, lipid ve karbonhidrat gibi biyolojik öneme sahip moleküllerdir. Bu yapılara kalıcı hasarlar vermeleri sebebiyle oldukça zararlıdır. Oksidatif stres, başta kanser olmak üzere birçok hastalığın patogenezinden sorumludur. Hücre kültürü çalışmalarında, HP ile enfekte hastalarda epitel hücreleri, nötrofiller ve makrofajların reaktif oksijen türlerini (ROS) ürettiği gözlenmiştir (34).

ROS, oksitlenmiş baz (8-hidroksi-guanin) formlarına, zincir kopmalarına ve DNA'nın çapraz bağlanmasına neden olmaktadır. HP ile enfekte mukozada ROS ile ilişkili DNA hasarı ve genomik kararsızlığın tümör başlangıcında ve ilerletilmesini içerdiği düşünülmektedir. HP genellikle proksimal olarak telomerlere ve transkripsiyon bölgelerinde eşsiz bir DNA hasarını uyarmaktadır. Ayrıca mitokondrial DNA'nın (mDNA) kararsızlığında da HP enfeksiyonu sorumlu tutulmaktadır. Yapılan kök hücre çalışmasında mide kanserli hastaların mukozasında HP varlığının oksidatif strese bağlı DNA hasarına neden olduğu gözlenmiştir. HP'nin lipopolisakkarit (LPS) etkileri de gözlenmiştir (34).

H.pylori enfeksiyonunun gastrik epitelyal hücrelerde oksidatif DNA hasarı ve apoptoziyi indüklediğini kanıtlanmıştır. *H.pylori* enfeksiyonunun en ciddi DNA hasar türü olan DNA çift zincir kırıklarını indüklediği in vivo şartlarda gösterilmiştir. Daha da önemlisi oksidatif strese bağlı DNA hasarın, *H.pylori* ile ilişkili gastrik hastalıkların patogeneğinde önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. *H.pylori*, NADPH oksidazı aktive etmekte ve gastrik epitel hücrelerinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini arttırmaktadır. *H.pylori* tarafından üretilen ROS üretimi, NFκB yolağını aktive etmekte ve gastrik epitel hücrelerinde apoptoz ve DNA hasarında önemli rol oynamaktadır. Bae ve diğ. Balb/c farelerinin gastrik mukozasında *H.pylori* enfeksiyonunun, oksidatif DNA hasarı, hücre döngüsü tutuklanması ve apoptozu içerdiğini bildirmişlerdir. Yapılan çalışmada *H.pylori* enfeksiyonunun in vivo oksidatif DNA hasarına neden olduğunu doğrulamak amacıyla, 8-okso-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) immünohistokimyasal olarak analiz edilmiş ve 8-OHdG ekspresyonunun arttırıldığı gözlenmiştir. Ayrıca ROS ve Malondialdehit seviyelerinin de arttığı gözlenmiştir. Ayrıca *H.pylori* kaynaklı DNA hasarının ROS seviyesine bağlı olduğunu göstermiştir (11, 50). Xie ve ark. Yaptığı çalışmayla uyumlu olarak; bu çalışmamızda da DNA hasarının bir metabolik ürünü olan 8-OHdG'nin hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu gözlemlendi.

Çoğu Gram negatif bakterilerin kurucu biyomolekülü olan LPS tipik olarak üç alandan oluşmaktadır: dış membranda bulunan hidrofobik lipit A (endotoksin); hücreden dış ortama uzanan O-antijen değişkeni ve O-antijeni lipit A'ya bağlayan oligosakkarit. Yüksek oranda açillenmiş bir glikolipid olan Lipopolisakkarit (LPS), *H.pylori*'nin midede kolonizasyonu ve kalıcılığı için anahtar bir faktördür. Sahip olduğu eşsiz lipit A yapısı, *H. pylori*'ye Toll benzeri reseptör 4'ten (TLR-4) kaçınmasını ve katyonik antimikrobiyal peptitlere (CAMP) direnç gösterme yeteneğini sağlamaktadır (51).

H.pylori LPS yapısı ile konakçı immün sisteminden kaçınabilmekte ve kalıcı enfeksiyon sırasında ortama uyum sağlama yeteneğine katkıda bulunmaktadır (19, 20, 51). Literatürde özellikle pozitif peptik ülserli hastalar üzerinde böyle bir çalışmaya rastlanılmadığından analiz verileri literatür açısından kıyaslanamamıştır. Çalışmamızda endotoksin analizi için hasta ve kontrol grubu miktarları karşılaştırılmış ve iki grup arasında anlamlı fark olduğu tespit edildi. Ayrıca DNA hasar seviyesi endotoksin miktarı arasında ilişki olup olmadığını tespit etmek amacıyla korelasyon analizi yapılmış ve negatif yönde zayıf bir korelasyon olduğu tespit edildi. Bu bağlamda *H.pylori*, sipesifik hücre içi sinyal iletim yollarını ya modüle ederek ya da kullanarak konakçı ile temasta moleküler iletişime bağlı olduğu göz ardı edilememektedir. Bu çalışma ile *H.pylori* enfeksiyon sürecine farklı bir yaklaşım tarzı ile özellikle tedavi stratejilerinin geliştirilmesinde yeni hedef moleküllerin ve metabolik yolların ele alınmasına, *H.pylori* ile ilişkili hastalıklara karşı yeni bir yaklaşıma katkı sağlamaktır. Ayrıca mide kanserinin gelişiminden sorumlu olabilecek mekanizmalar hala yeterince anlaşılmadığından, yeni koruyucu stratejiler geliştirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. DNA hasarı ve endotoksin analizi ilişkisinin daha etkin belirlenebilmesi için daha geniş kapsamlı klinik araştırmaların planlanıp yürütülmesi gerekmektedir.

6. KAYNAKLAR

1. Köksal F, Topçu A, Söyletir G, Doğanay M. *H.pylori* İnfeksiyon Hastalıkları ve Klinik Mikrobiyoloji. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 2002; 1643–1647.
2. Dooley CP. Background and Historical considerations of *H.pylori*. Gastroenterology Clinics of North Amerika. 1993; 22: 1–5.
3. Warren JR. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. The Lancet 1983; 1273-4.
4. Marshall BJ, Warren JR. Unindendified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulseration. Lancet 1984; 1: 1311-3.
5. Cave DR. Transmission and epidemiology of *H.pylori*. Am J Med 1996; 100: 12-7.
6. Vandamme P, Falsen E, Rossau R, Hoste B, Segers P, Tytgat R and De Ley J: Revision of Campylobacter, Helicobacter, and Wolinella taxonomy: emendation of generic descriptions and proposal of Arcobacter gen. nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 1991; 41, 88-103.
7. Memik F. Her Yönüyle Peptik Ülser, Nobel & Güneş Tıp kitabevi. İstanbul 2003; 1: 1-115.
8. BE, Cohen H, Blaser MJ. *H.pylori* clinical mikrobiyoloji reviews. 1997; 10: 720-741.
9. Parsonnet J, Hansen S, Rodriguez L, et al. Helicobacter pylo-riinfection and gastric lymphoma. N Engl J Med 1994; 330: 1267-71.
10. Li WQ, Ma JL, Zhang L, et al. Effects of Helicobacter pylori treatment on gastric cancer incidence and mortality in subgroups. J Natl Cancer Inst 2014.
11. Abayli B, Colakoglu S. *Helicobacter pylori* in the etiology of cholesterol gallstones. J Clin Gastroenterol. 2005; 39(2):134-7.
12. Goodwin CS, Armstrong JA, Marshall BJ. *Campylobacter pyloridis*, gastritis, and peptic ulceration. J Clin Pathol. 1986; 39(4):353–365.
13. Goodwin CS, Worsley BW. Microbiology of *Helicobacter pylori*. Gastroenterol Clin North Am. 1993; 22(1):15-19.
14. Windsor HM, O'Rourke J. Bacteriology and toxonomy of *H.pylori*. Gastroenterology Clinics of North America, 2000; 29(3): 633–649.
15. Haque M, Hirai Y, Yokota K, Mori N, Jahan I, Ito H, Hotta H, Yano I, Kanemasa Y, and Oguma K. Lipid profile of Helicobacter spp.: presence of cholesteryl glucoside as a characteristic feature. J Bacteriol. 1996 April; 178(7): 2065–2070.

16. Kadanalı A, Özkurt Z. *H.pylori* infeksiyonu. Klinik Dergisi, İstanbul, 2004; 17(3): 146-149.
17. Chey WD, Spybrook M, Carpenter S, Nostrant TT, Elta GH, Scheiman JM. Prolonged effect of omeprazole on the 14C-urea breath test. Am J Gastroenterol. 1996; 91(1): 89-92.
18. Peter Borriello, Patrick R Murray and Guido Funke. Topley and Wilson's Microbiology and Microbial Infections, 10th Edition, Bacteriology, Volume 2, ASM Press, 2006; 1563-1590.
19. Appelmelk BJ, et al. Potential role of molecular mimicry between *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide and host Lewis blood group antigens in autoimmunity. Infect. Immun. 1996; 64: 2031-2040.
20. Moran AP, B Lindner and Walsh EJ. Structural characterization of the lipid A component of *Helicobacter pylori* rough- and smooth-form lipopolysaccharides. J. Bacteriol., 1997; 179(20): 6453-6463.
21. Brooks GF, Butel JS, and Ornston LN. *H.pylori*. Medikal Mikrobiyoloji. A Lange Medikal book. p.229–230.
22. Rowland M, Daly L, Vaughan M et al. Age-Specific Incidence of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology, 2006; 130(1): 65-72.
23. Gomes BC and Martinis ECP. The significance of *Helicobacter pylori* in water, food and environmental samples Food Control, Volume, 2004; 15: 397-403.
24. Weyermann M, Adler G, Brenner H, et al. The mother as source of *Helicobacter pylori* infection. Epidemiology 2006; 17: 332–334.
25. Şengül D, Şengül İ. H.pilori Sıklığı ve Lokasyon, Altı Adet Yaş Grubu ve Anatmik Pilot Bölge Bazlı 50 Yaş Sınır Değerlendirmesinin, Histopatolojik H.pilori Kolonizasyon Derecesi ile İlişkileri. Bakırköy Tıp Dergisi 2018; 14: 381-8.
26. https://images/H_pylori_virulence_factors_en.png. Erişim Tarihi: 02.04.2019.
27. Argent RH, Kidd M, Owen RJ, Thomas RJ, Limb MC, Atherton JC. Determinants and consequences of different levels of CagA phosphorylation for clinical isolates of *Helicobacter pylori*. Gastroenterology 2004; 127:514–523.
28. Suerbaum S, Thiberge JM, Kansau I, et al. *Helicobacter pylori* HspA-HspB heat-shock gene cluster: nucleotide sequence, expression, putative function and immunogenicity. Mol Microbiol 1994; 14: 959-974.
29. S Fujimoto, O Olaniyi Ojo, A Arnqvist, JY Wu, S Odenbreit, R Haas, DY Graham, Y Yamaoka. *Helicobacter pylori* BabA expression, gastric mucosal injury, and clinical outcome. Clin Gastroenterol Hepatol, Vol. 5, No. 1. 2007; pp. 49-58.

30. David J McGee, et al., *Helicobacter pylori* Thioredoxin Is an Arginase Chaperone and Guardian against Oxidative and Nitrosative Stresses. *J. Biol.Chem.*, Vol. 281, Issue 6, 2006; 3290-3296.
31. Christie PJ, Atmakuri K, Krishnamoorthy V, et al. Biogenesis, architecture, and function of bacterial type IV secretion systems. *Annu Rev Microbiol* 2005; 59: 451–485.
32. Tammer I, Brandt S, Hartig R, et al. Activation of Abl by *Helicobacter pylori*: a novel kinase for CagA and crucial mediator of host cell scattering. *Gastroenterology* 2007; 132:1309–1319.
33. Nakano M., Yahiro K., Yamasaki E., et al. *Helicobacter pylori* VacA, acting through receptor protein tyrosine phosphatase α , is crucial for CagA phosphorylation in human duodenum carcinoma cell line AZ-521. Published by The Company of Biologists, *Disease Models & Mechanisms* (2016) 9, 1473-1481 doi:10. 1242/dmm.025361.
34. Naumann M., Sokolova O., Tegtmeyer N., and Backert S. *Helicobacter pylori*: A Paradigm Pathogen for Subverting Host Cell Signal Transmission. Review. *Trends in Microbiology*, April 2017, Vol. 25, No. 4.
35. Bagnoli F, Buti L, Tompkins L, et al. *Helicobacter pylori* CagA induces a transition from polarized to invasive phenotypes in MDCK cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:16339-16344.
36. Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, et al. *Helicobacter pylori* CagA interacts with E-cadherin and deregulates the Beta catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene* 2007; 26: 4617-4626.
37. Franco AT, Israel DA, Washington MK, et al. Activation of β -catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102:10646–10651.
38. Willhite DC, Blanke SR. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin enters cells, localizes to the mitochondria, and induces mitochondrial membrane permeability changes correlated to toxin channel activity. *Cell Microbiol* 2004; 6: 143–154.
39. Yamasaki E, Wada A, Kumatori A, et al. *Helicobacter pylori* vacuolating cytotoxin induces activation of the proapoptotic proteins Bax and Bak, leading to cytochrome c release and cell death, independent of vacuolation. *J Biol Chem* 2006; 281: 11250–11259.
40. Ock CY, Kim EH, Choi DJ, Lee HJ, Hahm KB, and Chung MH. 8-Hydroxydeoxyguanosine: Not mere biomarker for oxidative stress, but remedy for oxidative stress-implicated gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol*, 2012. 18(4): 302-308.
41. Lai LH, Sung JJY. *Helicobacter pylori* and benign upper digestive disease. *Best Practice and Research Clinical Gastroenterology* 2007; 21: 261-279.

42. Robinson K, Argent R H, Atherton J C. The inflammatory and immune response to *H.pylori* infection. Best Practice and Research Clinical Gastroenterology 2007; 21: 237-259.
43. Polat F, Duran Y. Mide Kanseri ve Erken Tanının Önemi, Review, 2018; 6(1): 32 – 35.
44. Çaycı HM, Erdoğan UE, Çantay H, vd. Mide kanseri deneyimlerimiz: Tanı ve tedavide geç mi kalıyoruz? Akademik gastroentoloji dergisi 2017; 16(1):06-11.
45. Yalçın MS, Bursalı B, Sayın S. Senkron Mide ve Kolon Kanserli Hasta. Cukurova Med J, 2019;44(1):287-289.
46. Shimizu T, Kusugami K, Ina K, et al. Helicobacter pylori-associated gastric ulcer exhibits enhanced mucosal chemokine activity at the ulcer site. Digestion 2000; 62: 87-94.
47. Blaser MJ.: *H.pylori* and related organisms. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R(eds). Mandell, Douglas and Bennet's Principles and Practice infections disease. Newyork Chrchill, Livingstone; 5.baskı. 2000; 2228–2241.
48. Karin van Amsterdam, Arnoud HM van Vliet, JG Kusters and Arie van der Ende. Of microbe and man: determinants of *Helicobacter pylori*-related Diseases. FEMS Microbiol Rev 30, 2006; 131–156.
49. Özkaya İA. Hemodiyaliz Hastalarında *H.pylori* İnfeksiyonu Sıklığı ve Bunun Dispeptik yakınmalarla ilişkisi. Uzmanlık tezi. Bakırköy Dr. Sadikonuk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, İstanbul, 2005.
50. Xie C, Yi J, Lu J, Nie M, Huang M, Rong J et all.. N-Acetylcysteine Reduces ROS-Mediated Oxidative DNA Damage and PI3K/Akt Pathway Activation Induced by Helicobacter pylori Infection. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2018.
51. Li H, Yang T, Liao T, Debowski AW, Nilsson H-O, Fulurija A, et al. (2017) The redefinition of *Helicobacter pylori* lipopolysaccharide O-antigen and core-oligosaccharide domains. PLoS Pathog 2018; 13(3):1006280.

Evrak Tarih ve Sayısı: 01/06/2017-19749

HARRAN ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ Etik Kurul Kararı	
TARİH	: 11.05.2017
OTURUM	: 05
SAAT	: 15:00

17/05/17	<p>Karar: Üniversitemiz Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. İsmail KOYUNCU'nun yürütücüsü olduğu "Helicobacter Pylori Pozitif Peptik Ülserli Hastalarda Endotoksin ve DNA Hasar Seviyesinin İncelenmesi" başlıklı çalışmaya Etik Kurul onayı verilmesine,</p> <p>Oybirliğiyle karar verilmiştir.</p> <p style="text-align: center;">ASLI GİBİDİR Yrd. Doç. Dr. Hakim ÇELİK Etik Kurul Raportörü</p>
-----------------	--



T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ

TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU VE BEYAN BELGESİ

Öğrencinin

Numarası : 155302006
Adı, Soyadı : İslim GÜLER.
Anabilim Dalı (Bölümü) : TIBBİ BİYOKİMYA
Programı : Yüksek Lisans Doktora
Tezin Adı: *H.pylori* (+) Peptik Ülserli Hastalarda Endotoksin ve DNA Hasar Seviyesinin İncelenmesi

SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Yukarıda başlığı belirtilen “*H.pylori* (+) Peptik Ülserli Hastalarda Endotoksin ve DNA Hasar Seviyesinin İncelenmesi” adlı çalışmamın; *kapak sayfası, giriş, ana bölümler ve sonuç* kısımlarından oluşan toplam 50 sayfalık kısmına ilişkin, 20/05/2019 tarihinde şahsım/ danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, benzerlik oranı % 7’ dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- 1- Kabul/Onay ve Bildirim sayfaları hariç,
- 2- Kaynakça hariç
- 3- Alıntılar hariç
- 4- 5 kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Yukarıda bilgileri verilen tezin, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu tarafından kabul edilen lisansüstü orijinallik raporu alınması uygulama esasları ile belirlenen azami benzerlik oranlarını aşmadığını ve bütün bilgilerin, akademik kurallara uygun olarak toplanıp sunulduğunu, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları andığımı, blok şeklinde alıntılar yapmadığımı ve tüm alıntılarının bilimsel atıf kuralları çerçevesinde kaynağını gösterdiğimi, Yükseköğretim Kurulu Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesi ile Harran Üniversitesi Bilimsel Araştırma ve Yayın Etiği Yönergesinin 8. maddesinde yer alan etik ihlallerden herhangi birisinin yer almadığını, etik ihlal tespiti halinde, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca, diplomamın iptal edilmesini kabul ediyorum.

Gereğini saygılarımla arz ederim. 20/05/2019

Tezi Hazırlayan Öğrencinin

Adı-Soyadı: İslim GÜLER

İmzası:

Yukarıda yer alan raporun ve beyanın doğruluğunu onaylarım. 20/05/2019

Danışmanın

Unvanı-Adı-Soyadı: Doç. Dr. Nihayet BAYRAKTAR

İmzası:

Turnitin Originality Report

Processed on: 20-May-2019 11:37 +03
 ID: 1133235746
 Word Count: 7679
 Submitted: 1

TEZ By İslim Güler

Similarity Index	Similarity by Source
7%	Internet Sources: 4% Publications: 3% Student Papers: 2%

2% match (publications)

[CİNDÖĞLU, Çiğdem, UYANIKOĞLU, Ahmet, SERT, Umut and YENİCE, Necati. "Helicobacter pylori eradikasyonunda ardışık 5+5 \(10\) günlük ve", Türk Gastroenteroloji Vakfı, 2017.](#)

1% match (Internet from 27-Dec-2013)

http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/aile_hekimligi/dr_enver_balcilar.pdf

1% match (publications)

[ÇAYCI, Hacı Murat, ERDOĞDU, Umut Eren, ÇANTAY, Hasan, ORMAN, Süleyman, AKAR, Mustafa and DEMİRCİ, Hakan. "Mide kanseri deneyimlerimiz: Tanı ve tedavide geç mi kalıyoruz?", Türk Gastroenteroloji Vakfı, 2017.](#)

< 1% match (Internet from 15-May-2013)

<http://www.karenbilim.com/tag/urun/>

< 1% match (student papers from 02-Jul-2018)

[Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2018-07-02](#)

< 1% match (student papers from 28-Dec-2018)

[Submitted to Hacettepe University on 2018-12-28](#)

< 1% match (student papers from 24-Dec-2018)

[Submitted to Marmara University on 2018-12-24](#)

< 1% match (Internet from 19-Oct-2010)

http://istanbulsaglik.gov.tr/w/tez/pdf/enfeksiyon/dr_renziye_ozdemir.pdf

< 1% match (Internet from 22-Jan-2019)

<http://acikerisim.ege.edu.tr:8081/jspui/handle/11454/3000>

< 1% match (student papers from 16-May-2019)

Class: mevlud bahcivan

Assignment: tez

Paper ID: [1131369720](#)

< 1% match (Internet from 21-Nov-2018)

<http://acikensim.baskent.edu.tr/bitstream/handle/11727/2312/tez%20son%20.docx?isAllowed=y&sequence=3>

< 1% match (Internet from 21-Jun-2016)

<http://www.noropsikiyatrisivi.com/sayilar/434/buyuk/102-1071.pdf>

< 1% match (publications)

[Toru Mizuguchi. "Prognostic Impact of Preoperative the Branched-Chain Amino Acid to the Tyrosine Ratio in Hepatocellular Carcinoma Patients after Initial Hepatectomy", Journal of Gastrointestinal Surgery, 05/24/2011](#)

< 1% match (Internet from 15-Oct-2018)

<http://dspace.baskent.edu.tr/bitstream/handle/11727/2374/10081496.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (Internet from 06-Jul-2015)

http://www.researchgate.net/publication/272793673_Association_Between_Idiopathic_Generalized_Epilepsy_and_EFHC1_Gene_Mutations_of

< 1% match (Internet from 13-Dec-2012)

<http://turkjbiochem.com/2012/245-250.pdf>

< 1% match (Internet from 16-Aug-2014)

http://www.xilinx.com/support/documentation/jp_documentation/ug129.pdf

< 1% match (Internet from 14-Apr-2016)

<http://www.sifamarket.com/hastaliklar/peptik-ulser-bitkisel-tedavisi.html>

< 1% match (student papers from 30-Oct-2017)

[Submitted to Gaziantep Aniversitesi on 2017-10-30](#)

< 1% match (Internet from 26-Nov-2015)

<http://www.turkiyokimyademegi.org.tr/TBDDergisi/TBD-OZEL-SAYISI-2015.pdf>

< 1% match (Internet from 05-Feb-2019)

<http://www.sbckongresi.org/kitapcik2018.pdf>

< 1% match (Internet from 20-Sep-2017)

<http://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4222/CABRERA%2c%20LIZIARA%20DA%20COSTA.pdf?isAllowed=y&sequence=1>

< 1% match (Internet from 21-Sep-2018)

https://www.ticaret.edu.tr/uploads/dosyalar/215/Sosyal_Dergi_31_Mizanpaj_5.pdf

< 1% match (Internet from 25-Oct-2018)

T.C
YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
ULUSAL TEZ MERKEZİ

TEZ VERİ GİRİŞ FORMU

Referans No	10265555
Yazar Adı / Soyadı	İSLİM GÜLER
T.C.Kimlik No	24740596142
Telefon	5412940831
E-Posta	islimgler@gmail.com
Tezin Dili	Türkçe
Tezin Özgün Adı	H.pylori (+) PEPTİK ÜLSERLİ HASTALARDA ENDOTOKSİN ve DNA HASAR SEVİYESİNİN İNCELENMESİ
Tezin Tercümesi	INVESTIGATION of ENDOTOXIN and DNA DAMAGE LEVEL in PATIENTS with H.pylori (+) PEPTIC ULCER
Konu	Biyokimya = Biochemistry
Üniversite	Harran Üniversitesi
Enstitü / Hastane	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Bilim Dalı	Biyokimya Bilim Dalı
Tez Türü	Yüksek Lisans
Yılı	2019
Sayfa	50
Tez Danışmanları	DOÇ. DR. NİHAYET BAYRAKTAR
Dizin Terimleri	
Önerilen Dizin Terimleri	DNA Hasarı H.pylori, DNA Hasarı, Peptik Ülser, Endotoksin, Mide Kanseri

08.07.2019

İmza:.....