



T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI VE/VEYA
HEPATOSELLÜLER KARSİNOM NEDENİYLE KARACİĞER
NAKLİ OLAN HASTALARDA *HELICOBACTER PYLORI*
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşegül KUŞCU KAÇMAZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR

MALATYA - 2021



T.C.

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ENFEKSİYON HASTALIKLARI VE KLİNİK MİKROBİYOLOJİ

ANABİLİM DALI

**KRONİK KARACİĞER HASTALIĞI VE/VEYA
HEPATOSELLÜLER KARSİNOM NEDENİYLE KARACİĞER
NAKLİ OLAN HASTALARDA *HELICOBACTER PYLORI*
VARLIĞININ ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Ayşegül KUŞCU KAÇMAZ

ORCID numarası: 0000-0001-7829-3868

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR

ORCID numarası: 0000-0003-3930-774X

MALATYA-2021

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Tarihçe:.....	3
2.2. Mikrobiyolojik özellikleri:	3
2.3. Epidemiyoloji ve bulaş:.....	3
2.4. Patogenez:	4
2.5. <i>Helicobacter pylori</i> 'ye karşı oluşan konak immün yanıtı:	6
2.6. <i>Helicobacter pylori</i> ilişkili klinik sonuçlar.....	7
2.6.1. Akut gastrit	8
2.6.2. Kronik atrofik olmayan gastrit	8
2.6.3. Kronik atrofik gastrit	8
2.6.4. Peptik ülser	9
2.6.5. Gastro-özofageal reflü hastalığı (GÖRH).....	10
2.6.6. Fonksiyonel Dispepsi	11
2.6.7. Gastrik MALT Lenfoma.....	11
2.6.8. Gastrik Adenokanser	11
2.7. <i>Helicobacter pylori</i> ile ilişkili olduğu düşünülen diğer hastalıklar	12
2.7.1. Hepatobiliyer hastalıklar	13
2.9. <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyonununun tedavisi.....	19
2.10. Diğer helikobakter türleri	19
3. GEREÇ ve YÖNTEM	20
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA	33
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	40
KAYNAKLAR	41

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca her konuda desteğini gördüğüm, mesleki deneyimi, bilgi ve tecrübesiyle her zaman örnek olup yol gösteren başta değerli tez danışmanım Prof. Dr. Yaşar BAYINDIR'a ve kıymetli hocalarım Prof. Dr. Yasemin ERSOY, Prof. Dr. Mehmet ÖZDEN, Prof. Dr. Funda MEMİŞOĞLU, Doç. Dr. Sibel ALTUNIŞIK TOPLU ve Dr. Öğr. Üyesi Adem KÖSE'ye;

Tez çalışmamın Moleküler Mikrobiyolojik ve Bakteriyolojik testler aşamasının gerçekleşmesini sağlayan, yoğun çalışma hayatına rağmen akademik destekler veren Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Barış OTLU ve Arş. Gör. Dr. Elif Seren TANRIVERDİ'ye;

Çalışmanın istatistik değerlendirmesinde tecrübelerini esirgemeyen Biyoistatistik ve Tıp Bilişimi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Saim YOLOĞLU'na,

Asistanlığım süresince birlikte çalışma imkânı bulduğum ve her konuda yardımlaştığım değerli çalışma arkadaşlarıma;

Hayatım boyunca beni destekleyen ve bu günlere gelmemde katkıları olan kıymetli anneme, babama ve kardeşlerime, değerli dostum, yoldaşım Feyza'ya,

Her anıma ortak olan, özelleştiren, güzelleştiren sevgili eşim Osman'a,

Günışığım, oğlum Yağız'a,

Teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Ayşegül KUŞCU KAÇMAZ

Ekim 2021 / Malatya

ÖZET

Kronik Karaciğer Hastalığı ve/veya Hepatosellüler Karsinom Nedeniyle Karaciğer Nakli Olan Hastalarda *Helicobacter pylori* Varlığının Araştırılması

Amaç: Kronik karaciğer hastalıkları, dünya çapında hastalık ve ölümün başlıca nedenlerinden biridir ve önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kronik karaciğer hastalıkları, geçici veya kalıcı intrahepatik inflamasyon nedeniyle karaciğer fibrozisine yol açabilir ve bazıları karaciğer sirozu ve hepatosellüler karsinoma (HCC) ilerleyebilir. Karaciğer sirozu uzun dönem hepatosit hasarı ve fibrozise bağlı gelişen hastalık olmakla beraber, HCC ise farklı hücresel ve moleküler yollar ile protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin anormal aktivasyonu ve inaktivasyonu arasındaki dengenin bozulmasına neden olan çeşitli etiyolojik faktörlerle ilişkili karmaşık bir süreçtir. Bunun yanında *Helicobacter* türlerinin safra yolları ve karaciğer dokularında gösterilmesiyle, hepatobiliyer hastalıklar ve malignitelerin patogenezinde bu bakterilerin olası etkisini keşfetmek, araştırmacıların ilgisini çekmiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda; *Helicobacter pylori* ile birlikte diğer *Helicobacter* türlerinin de (*H. pullorum*, *H. bilis*, *H. flexispira* gibi) primer karaciğer kanserli, primer sklerozan kolanjitli ve primer biliyer sirozlu hastaların karaciğer dokusunda bulunabileceği gösterilmiştir. Çalışmamızda hastanemizde kronik karaciğer hastalığı ve/veya hepatosellüler karsinom nedeniyle nakil olan hastaların safra örneği ve karaciğer dokusunda *Helicobacter* türlerinin varlığı ve hastalık tanılarıyla olası ilişkilerin araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsü Hastanesinde yatarak tedavi edilen kronik karaciğer hastalığı ya da HCC tanısı almış, yaşları 18 ve üzerinde olan yetişkin hastalardan 19 Nisan 2017-19 Mayıs 2018 tarihleri arasında karaciğer nakli yapılan hastalar çalışmaya alındı. Alıcı ve verici grubunda karaciğer ve safrada *Helicobacter* türleri polimeraz zincir reaksiyonu (PZR) testi ile araştırıldı.

Bulgular: Çalışmaya alınan 195 bireyin 121 (%62,1)'i erkek, 74 (%37,9)'ü kadın olup medyan yaş 36 (Min:18, Maks:72) idi. Bunların 109 (%55,9)'u alıcı, 86 (%44,1)'sı verici idi. Vericiler kontrol grubu olarak kabul edildi. Vericilerin safra örneklerinden 8 (%9,3)'inde *H. pylori*, 2 (%2,3)'sinde *Helicobacter bilis*, 2 (%2,3)'sinde ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptanırken, karaciğer dokularının sadece bir (%1,2)'inde *H. pylori* PZR pozitifliği saptandı. Karaciğer nakli alıcılarının safra örneklerinin 18 (%16,5)'inde *H. pylori*, 5 (%4,6)'inde *H. bilis*, 2 (%1,8)'sinde ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptandı. Alıcıların karaciğer dokularından

ise 2 (%1,8)'sinde *H. pylori* PZR pozitifliği saptanırken, hepsinde *H. bilis* PZR negatifti. Alıcı ve vericiler arasında hem safra hem de karaciğer dokusunda *H. pylori* mevcudiyeti açısından istatistiksel olarak bir fark görölmedi.

Sonuçlar: Çalışmamız, karaciğer nakli verici ve alıcılarında aynı anda *Helicobacter* varlığını araştıran ilk çalışmadır. Ülkemiz gibi *Helicobacter* enfeksiyonunun endemik olduğu ölkelerde karaciğer nakli adayı olan kronik karaciğer hastalığı ve HCC tanısı almış hastalarda *Helicobacter* türlerinin hastalık sürecine etkisini araştıracak daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Helicobacter pylori*, *Helicobacter bilis*, kronik karaciğer hastalığı, hepatosellöler karsinom, karaciğer nakli



ABSTRACT

Investigation for the Presence of *Helicobacter pylori* in Liver Transplant Patients Underlying Chronic Liver Disease and/or Hepatocellular Carcinoma

Objective: Chronic liver diseases are one of the leading causes of morbidity and mortality worldwide and are an important public health problem. Chronic liver diseases can lead to liver fibrosis due to transient or persistent intrahepatic inflammation, and some may progress to liver cirrhosis and hepatocellular carcinoma (HCC). While liver cirrhosis is a disease that develops due to long-term hepatocyte damage and fibrosis, hepatocellular carcinoma is a complex process associated with various etiological factors that cause the imbalance between different cellular and molecular pathways and abnormal activation and inactivation of protooncogenes and tumor suppressor genes. In addition, with the demonstration of *Helicobacter* species in the biliary tract and liver tissues, it has attracted the attention of researchers to explore the possible influence of these bacteria in the pathogenesis of hepatobiliary diseases and malignancies. In studies conducted in recent years; it has been shown that together with *Helicobacter pylori*, other *Helicobacter* species (such as *H. pullorum*, *H. bilis*, *H. flexispira*) can be found in the liver tissue of patients with primary liver cancer, primary sclerosing cholangitis and primary biliary cirrhosis.

In our study, it was aimed to investigate the presence of *Helicobacter species* in bile samples and liver tissue of patients who were transplanted due to chronic liver disease and/or hepatocellular carcinoma in our hospital, and possible relationships with the diagnosis of the disease.

Materials and Methods: Adult patients aged 18 and over, who were diagnosed with chronic liver disease or HCC, who were underwent liver transplantation in İnönü University Liver Transplant Institute Hospital, between 19 April 2017 and 19 May 2018 were included in the study. *Helicobacter* species in liver and bile were investigated by polymerase chain reaction (PCR) test in donor and recipient groups.

Results: Of the 195 subjects included in the study, 121 (62.1%) were male, 74 (37.9%) were female, and the median age was 36 (Min: 18, Max: 72). Of these, 109 (55.9%) were recipients and 86 (44.1%) were donors. Donors were considered as the control group. While eight (9.3%) of the bile samples in donors were positive for *H. pylori* PCR, two (2.3%) for *Helicobacter*

bilis, two (2.3%) for *H. pylori*+*H. bilis*, and *H. pylori* PCR positivity was detected in only one (1.2%) of the liver tissues. In the bile samples of liver transplant recipients, 18 (16.5%) *H. pylori*, five (4.6%) *H. bilis*, two (1.8%) *H. pylori*+*H. bilis* PCR positivity were detected. In the liver tissues of the recipients, two (1.8%) samples were positive for *H. pylori* PCR, and *H. bilis* PCR was negative in all of them. There was no statistical difference between the recipients and donors in terms of the presence of *H. pylori* in both bile and liver tissue.

Conclusions: According to our knowledge, our study is the first in the English literature evaluating the presence of *Helicobacter* in liver transplant donors and recipients, simultaneously. Further studies are needed to investigate the effect of *Helicobacter* species on the disease process in patients with chronic liver disease and HCC who are candidates for liver transplantation in countries where *Helicobacter* infection is endemic, such as our country.

Keywords: *Helicobacter pylori*, *Helicobacter bilis*, chronic liver disease, hepatocellular carcinoma, liver transplantation

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

µm	: Mikrometre
µl	: Mikrolitre
β	: Beta
ml	: Mililitre
BabA2	: <i>Blood group antigen-binding adhesin A2</i>
CagA	: <i>Cytotoxin-associated antigen A</i>
CO ₂	: Karbondioksit
DÜ	: Duodenal ülser
GÖRH	: Gastro-özofageal reflü hastalığı
Hp	: <i>Helicobacter pylori</i>
Hb	: <i>Helicobacter bilis</i>
HCC	: Hepatoselüler karsinom
HBx	: Hepatit B X proteini
HSP	: Isı Şok Proteini (<i>Heat shock protein</i>)
HCV	: Hepatit C virüs
HBV	: Hepatit B virüs
IL	: İnterlökin
İR	: İnsülin Direnci
İce A	: <i>Induced by contact with epithelium A</i>
Ig	: İmmunglobulin
KHB	: Kronik hepatit B
KHC	: Kronik hepatit C
KHD	: Kronik hepatit D
MHC	: Majör histokompatibilite kompleksi
NAFLD	: Alkolik olmayan yağlı karaciğer hastalığı (<i>Non-alcoholic fatty liver disease</i>)
NF-kB:	: NF-kB: Nükleer faktör kapp B
NSAİİ	: Nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar
NASH	: Alkolik olmayan steatohepatit (<i>Non-alcoholic steatohepatitis</i>)
Oip A	: <i>Outer membrane inflammatory protein A</i>

PMN	: Polimorfonükleer nötrofil
PPI	: Proton pompa inhibitörü
PBS	: Primer Biliyer Siroz
PSK	: Primer Sklerozan Kolanjit
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
RNA	: Ribonükleik asid
rRNA	: Ribosomal Ribonükleik asid
TGF- β 1	: <i>Transforming growth factor beta 1</i>
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü-alfa
VacA	: <i>Vacuolating cytotoxin A</i>



ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 4.1.** *Helicobacter* spp.'nin in house PZR jel elektroforez görüntüsü.....43
- Şekil 4.2.** Safra örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü.....43
- Şekil 4.3.** Karaciğer örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü.....44
- Şekil 4.4.** *Helicobacter* spp.'nin erime eğrisi analizi görüntüsü.....44



TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1. <i>Helicobacter</i> spp. için kullanılan primerler.....	34
Tablo 3.2. Dizi analizi tepkimesi için malzemeler.....	35
Tablo 3.3. BigDye prepsitasyon yapmak için tablodaki stok solüsyonları.....	36
Tablo 4.1. Alıcı ve Vericilerin Demografi Özellikleri ve Önceden <i>Helicobacter pylori</i> Eradikasyon Tedavi Öyküleri.....	38
Tablo 4.2. Alıcı ve Vericilerin Safra ve Karaciğer Dokusunda <i>Helicobacter</i> spp. PZR Pozitifliği.....	39
Tablo 4.3. Alıcıların Hastalık Tanıları ve Dokuda <i>Helicobacter</i> spp. PZR Pozitifliği.....	40
Tablo 4.4. Alıcıların Hastalık Tanıları ve Safrada <i>Helicobacter</i> spp. PZR Pozitifliği.....	41
Tablo 4.5. Alıcı ve Verici Yaşı ile Dokuda <i>Helicobacter</i> spp. PZR Pozitifliği İlişkisi.....	42
Tablo 4.6. Alıcı ve Verici Yaşı ile Safrada <i>Helicobacter</i> spp. PZR Pozitifliği İlişkisi.....	42

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Helicobacter pylori 60.000 yılı aşkın süredir insanlarla birlikte gelişen, Gram negatif bir bakteridir. Bu bakteri genellikle insan midesinde kolonize olmakta ve gastroduodenal yolun ortak enfeksiyöz patojeni olarak kabul edilmektedir (1). *H. pylori*'nin gastrit, peptik ülser ve gastrik malignite ile olan ilişkisi kanıtlanmış, özellikle son yıllarda pek çok klinik ve mikrobiyolojik araştırmanın odak noktası olmuştur. Aynı zamanda hepatosellüler karsinom (HCC) patogenezinde bu bakterilerin olası etkisini keşfetmek, araştırmacıların ilgisini çekmiştir (1,2). Helikobakter cinsi 18 tür içerir, 11 tanesi kuş ve memelilerin gastrointestinal sistemlerinde izole edilmiştir. Bazılarının (*H. hepaticus*, *H. bilis* ve *H. pullorum*) karaciğer ve biliyer yolda izole edilebildiği, özellikle *H. hepaticus*'un sitotoksin salınım yoluyla farelerde akut hepatiti tetiklediği saptanmıştır. Ayrıca başka bir hayvan modelinde *H. bilis*'in farelerde gastrointestinal sistemin hastalıkları, inflamatuvar bağırsak bozuklukları, kronik hepatit ve karaciğerde preneoplastik/neoplastik değişiklikler gibi hastalıkları tetiklediği görülmüştür (3).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda; *H. pylori* ile birlikte diğer *Helicobacter* türlerinin de (*H. pullorum*, *H. bilis*, *H. flexispira*) primer karaciğer kanserli, primer sklerozan kolanjitli ve primer biliyer sirozlu hastaların karaciğer dokusunda bulunabileceği gösterilmiştir (4,5). Yine karaciğer hastalarının serumunda yüksek sıklıkla *H. pylori* antikörlerinin bulunduğu da rapor edilmiştir (6).

Bu bilgiler ışığında hastalıkların patogenezinde *H. pylori*'nin rolünü araştırmak amacıyla İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsü Hastanesinde kronik karaciğer hastalığı ve/veya HCC sebebiyle nakil yapılan hastaların karaciğer dokusu ve safra sıvılarında *Helicobacter spp.* varlığının sağlıklı bireylerle karşılaştırılması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

Kronik karaciğer hastalıkları, dünya çapında hastalık ve ölümün başlıca nedenlerinden biridir ve önemli bir halk sağlığı sorunudur. Kronik karaciğer hastalıkları, geçici veya kalıcı intrahepatik inflamasyon nedeniyle karaciğer fibrozisine yol açabilir ve bazıları karaciğer sirozu ve hepatoselüler karsinoma (HCC) ilerleyebilir (7). HCC, dünyanın birçok yerinde kansere bağlı ölümlerin önde gelen nedenidir, farklı hücresel ve moleküler yollar ile protoonkogenlerin ve tümör baskılayıcı genlerin anormal aktivasyonu ve inaktivasyonu arasındaki dengenin bozulmasına neden olan çeşitli etiyolojik faktörlerle ilişkili karmaşık bir süreçtir. Son birkaç dekatta, HCC'nin epidemiyolojisi, risk faktörleri ve moleküler profillerinin anlaşılmasında önemli ilerleme kaydedilmiştir. Ayrıca önleme, sürveyans, erken teşhis ve tedaviye yönelik akılcı yaklaşımlar geliştirilmiştir. Bu yaklaşımların yüksek insidanslı popülasyonlarda kapsamlı programlarda uygulandığında, HCC'yi önlemede ve hastalıktan kaynaklanan genel mortaliteyi azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, insidans ve kansere özgü mortalite birçok ülkede hala artmaya devam etmektedir ve HCC hastalarının çoğu dünyanın birçok yerinde ileri bir aşamada tanı almaktadır (8). Günümüzde HCC dahil gastrointestinal sistem kanserlerinde teşhis yöntemlerinin iyileştirilmesi ve erken aşamada tanı konulmasına yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir. Biyopsi, tanıda altın standart olmakla birlikte invaziv bir işlem oluşu ve çeşitli komplikasyonlara yol açabilmesi sebebiyle tüm hastalara uygulanamamaktadır. Tedavi seçimi ise; tümör özelliklerine, altta yatan karaciğer fonksiyon bozukluğunun ciddiyetine, yaşa, diğer tıbbi komorbiditelere ve mevcut tıbbi kaynaklara bağlı olmakla birlikte erken evre HCC, cerrahi rezeksiyon veya karaciğer nakli ile küratif olarak tedavi edilebilmektedir (9).

Gastrointestinal traktın en yaygın patojeni olarak kabul edilen, asemptomatik klinikten maligniteye kadar birçok tabloda etken olarak gösterilen *H. pylori* son yıllarda bilim dünyasının ilgi odağı haline gelmiştir. *H.pylori* çeşitli memeli hücrelerinin karaciğer dokularında izole edildiğinden beri kronik karaciğer hastalıkları ve karaciğer kanserinin patogenezinde de rol oynayabileceği öngörülmüştür (10). *H.pylori*'nin insan karaciğerine nasıl kolonize olduğu henüz net değildir, ancak araştırmacılar özellikle kronik karaciğer hastalığının ileri evrelerinde portal ven yoluyla mideden karaciğere bakteri translokasyonu ile olduğunu öne sürmüşlerdir (11).

H. pylori enfeksiyonu tüm dünyada giderek artan oranlarda görülmekle birlikte gelişmekte olan ülkelerde daha yaygın olarak görülmektedir (12,13). Hijyenik koşulların kötü olduğu yerlerde ve bakım evleri, rehabilitasyon merkezleri gibi kalabalık yaşam koşullarında prevalansın yüksek olması daha çok fekal-oral, oral-oral yolla bulaştığını düşündürmektedir. Bununla birlikte yapılan çalışmalar enfeksiyonun kronik hale gelmesiyle gastrit, peptik ülser, displazi, neoplazi, mukoza ilişkili lenfoid doku lenfoması ve invaziv gastrik adenokarsinom görülme riskini arttırdığını göstermiştir (12).

2.1. Tarihçe

Helicobacter pylori ve gastrointestinal sistemdeki diğer helikobakterlerin biyolojinin ilk canlı mikroorganizmaları kadar eski oldukları düşünülmektedir. Önceleri *Campylobacter pyloridis* olarak bilinen *H. pylori*, laboratuvar koşullarında ilk defa 1982 yılında üretilmiştir. *Campylobacter* cinsine çok benzedikleri için bu gruba ait oldukları düşünülmüş; fakat daha sonra birçok genotipik ve fenotipik özelliklerinin *Campylobacter* cinsinden farklı olduğu saptanarak, bu yeni cinse *Helicobacter* ismi verilmiştir (14).

Bu oldukça hareketli, virgül veya spiral şeklindeki mikroaerofilik gram negatif çomakların primer yaşam alanları özellikle mide ve enterik kanaldır. Gastrik helikobakter türleri mide mukozasında kolonize olurken enterik türler daha çok bağırsak, biliyer trakt ve karaciğere yerleşirler. Keşfini takiben de bu bakteriler; epidemiyoloji, bakteriyoloji, gastroenteroloji, patoloji, kanser biyolojisi alanlarında da ilgi çekmeyi başarmıştır.

2.2. Mikrobiyolojik özellikleri

Helicobacter pylori gram negatif, hareketli, spiral şekilli 0.5-3.5 µm (mikrometre) ebatlarında dört-altı flagellası olan bir bakteridir. Bu flagellalar sayesinde gastrik mukus içinde serbestçe hareket eder ve mukozaya tutunur. Mikroaerofiliktir, nemli ve %5-10 CO₂'li ortamda +37°C'de dört-yedi günde üreme gösterir; üreaz, katalaz ve oksidaz pozitifdir. *H. pylori* suşlarının inflamasyon ve klinik ile ilişkisi kanıtlanan *VacA* (*vacuolating cytotoxin*), *CagA* (*cytotoxin-associated antigen*), *Oip A* (*outer membrane inflammatory protein*), *Bab A*, *Ice A* gibi virulans faktörlerinin aynı zamanda bazı sitokinleri salgıladıkları da kanıtlanmıştır (15).

2.3. Epidemiyoloji ve bulaş

Bugün dünya nüfusunun yaklaşık yarısının *H. pylori* ile enfekte olduğu kabul edilmektedir. Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde sosyo-ekonomik koşulların yetersizliği

ve sağlıklı yaşam koşullarının sağlanamaması nedeniyle 5-10 yaş arasında prevalans %60-70 iken, yetişkinlerde ise %85- 90'dır (12).

Helicobacter pylori'nin doğal rezervuarı henüz bilinmemektedir. Genellikle çocukluk döneminde etkenin fekal-oral veya oral-oral yolla alımı ile bulaştığı düşünülmektedir (16). *H. pylori* enfeksiyonu tüm dünyada yaygın olmakla birlikte görülme sıklığı daha çok düşük sosyoekonomik düzey, kötü hijyen ve kalabalık yaşam ortamları ile ilişkilidir (17). Gelişmekte olan ülkelerde yaşla birlikte görülme sıklığı artar (12,13). Bu bölgelerde orta yaş grubu insanlarda %80'e varan oranlarda görülebilirken aynı yaş grubunda ve çocuklarda gelişmiş ülkelerde bu oran %20-50 civarındadır (18). Gelişmiş ülkelerde çocuklarda enfeksiyon pek beklenmez; ancak erişkin çağda daha yaygın hale gelebilmektedir. *H. pylori*'nin serolojik kanıtı, on yaşından önce nadiren saptanmakta; ancak 18-30 yaşları arasında yüzde 10'a, 60 yaşından büyüklerde ise yüzde 50'ye çıkmaktadır.

2.4. Patogenez

Midenin asit ortamı birçok enterik patojene karşı bariyer görevi görmektedir. *H. pylori* mide mukozasına yerleştikten sonra üreaz aktivitesi ile hayatta kalma, flagella aracılı motilite ile epitel hücrelerine doğru hareket, adezin/reseptör etkileşimi ile konak hücrelere bağlanma ve toksin salınımı ile doku hasarına neden olma sayesinde başarılı bir kolonizasyonun ardından kalıcı enfeksiyon ve hastalık patogenezine sebep olmaktadır (19). *H. pylori*'nin özellikle gastrik epitele tutunması doku tropizmi özelliğine bağlıdır. Bu sayede bakteri, olduğu lokalizasyona sıkıca tutunarak lümen içine dökülmemiş olur. Adezyon molekülleri bu tutunmayı kolaylaştırmaktadır. Flukozillenmiş Lewis-B kan grubu antijenine bağlanan *BabA* bunların en önemlisidir (20).

Helicobacter pylori'nin aside karşı toleransı büyük ölçüde bir sitoplazmik enzim olan üreaz aktivitesine bağlıdır. Bakterinin üreaz gen kümesi içinde *ure1* adlı Ph bağımlı üre kanalları mevcuttur (21). Güçlü üreaz enzimi ile üreyi parçalayarak karbondioksit ve amonyağı oluşturur, bu sayede bazik ortam sağlanarak bakteri mide asidinden korunur (22). Amonyak aynı zamanda bakterinin sitotoksik etkilerini ve mononükleer hücrelerin başlattığı mukozal hasarı indüklemektedir. Böylece gastrik epitelde doku bütünlüğü bozulur, nötrofil ekstrasvazyonu ve inflamasyon başlar. Katalaz ve süperoksidaz enzimleri de direkt olarak olmasa da hasarlı mukozada oluşan oksidatif stresi baskılayarak bakteriye uygun ortam sağlarlar (23).

Her gram negatif bakteri gibi *H. pylori*'nin de hücre duvarında endotoksin özellikli lipopolisakkarit yapıları bulunmaktadır. Bunların dışında aynı zamanda nötrofil ve mononükleer hücrelerin inflamasyon alanına göç etmesini sağlayarak reaktif oksijen bileşikleri ve interlökinlerin(IL) salınması ile virulansa destek olan porinler yer almaktadır.

VacA; *H. pylori*'nin sahip olduğu virulans faktörlerinin en önemlilerinden olup, hemen tüm suşlarda sentez edilmekte ancak bilinen herhangi bir başka bakteriyel veya ökaryotik proteine benzerlik göstermemektedir (24). Konakçı hücre membranları ile temas halindeyken oligomerler halinde birleşen *H. pylori* tarafından salgılanan bir proteindir. Bu oligomerler, klasik olarak *VacA*'yı gözenek oluşturucu bir toksin olarak tanımlayan seçici anyon kanalları halinde toplanır. Bu kanallar, mide epitel hücreleri içindeki organik moleküllere, demir ve nikel karşı hücre dışı geçirgenliği artırabilir, böylece *H. pylori*'nin hayatta kalması için hayati besinleri serbest bırakır. Toksin ayrıca mitokondriye zarar verebilir ve apoptozu indükler. *VacA*, mitokondriyal fonksiyonların bozulması ile apoptozis stimülasyonu ve T-hücre proliferasyonunun bloke edilmesi dahil olmak üzere, hedef hücreler üzerinde çeşitli etkilere sahiptir. Yaklaşık 88 kDa olan *VacA*'nın toksijenik allelik s1 formunu içeren *H. pylori* suşları ile enfekte olma, peptik ülserasyon ve mide kanserinin artmış riski ile ilişkilendirilmiştir (25). *VacA*'nın bu multi-işlevselliği ve artmış mide kanseri riski ile ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda, bu çok yönlü toksinin biyokimyasal özelliklerini ve *H. pylori* patogenezinin nasıl katkıda bulunduğunu anlamak aktif ve yoğun araştırma alanlarıdır.

CagA; “*cag pathogenicity island (cag-PAI)*” adı verilen 40 kB lık DNA segmenti ise içinde yaklaşık 120-145 kDa ağırlığındaki bir diğer önemli virulans faktörüdür (26). Dünya çapındaki suşların %70'inde mevcuttur; ancak bu oran Doğu Asya ülkelerinde coğrafi olarak %90-95 ve batı ülkelerinde sadece %40 oranında değişmektedir. Antijeniktir ve serolojik olarak saptanabilir. Fonksiyonu tam olarak bilinmemektedir, ancak *VacA* ekspresyonu için gerekli olduğundan, *VacA* sitotoksininin transkripsiyonu, atılımı veya işlevinde rol oynadığı düşünülmektedir (27). *Helicobacter pylori*, *CagA* proteinini, tip IV salgılama aparatı aracılığıyla gastrik epitelyal hücrelere aktarabilir. Orada tirozin fosforilasyonu ve muhtemelen konak hücre yanıtlarında rol oynadığı varsayılmaktadır. *CagA* suşları prekanseröz lezyonların ve mide kanserlerinin sık görülmesi ile de ilişkilidir. Malignite riskinin *CagA* proteinindeki spesifik amino asit sekansları (EPIYA) ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (25).

IceA (induced by contact with epithelium); *H. pylori* ile enfekte mide mukoza hücrelerinde ve özellikle peptik ülser kliniği gösteren hastalarda, *IceA1* genotipinin artan IL-8 ve inflamasyon ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (28).

OipA (outer membrane inflammatory protein); yaklaşık 34kDa ağırlığında olup IL-8 salınımını destekleyen, nötrofil infiltrasyonu ve mide inflamasyonunu artıran bir yüzey membran proteinidir (29). *H. pylori* enfeksiyonunun erken evrelerinde *H. pylori* ile indüklenen fokal adhezyon kinaz aktivasyonu ve gastrik epitelyal hücrelerin sitoskeletal reorganizasyonunda rol oynar (30). *In vivo* olarak *CagA* pozitif suşların gelişmesine katkıda bulunarak daha güçlü inflamatuvar yanıtı sebep olduğu düşünülmektedir.

BabA2 (Blood group antigen-binding adhesin); *H. pylori*'nin mukozal Lewis-B kan grubu antijenlerine bağlanmasını sağlayan, böylece kolonizasyonu kolaylaştıran ve bakteri yoğunluğunu belirleyen majör adhezyon molekülüdür (31).

HspA ve HspB (heat shock protein); Isı şok proteinleri (HSP), hücre büyümesi sırasında hücresel homeostazın korunması ve çeşitli hücresel stresler sırasında ve sonrasında hayatta kalma için çok önemlidir. Gastrik yüzey mukus hücreleri, mikroorganizmaya karşı ilk savunma hattıdır ve stresli koşullara direnci sağlayan HSP'yi sentezler (32).

2.5. *Helicobacter pylori*'ye karşı oluşan konak immün yanıtı

Helicobacter pylori invaziv olmayan bir bakteri olmasına rağmen, güçlü bir inflamatuvar ve immün yanıt uyarıcısıdır. Bakteriyel kolonizasyon, virülans ve adaptif konakçı immün yanıtları *H. pylori* ile ilişkili hastalıkların patogenezinde önemlidir.

Organizma, ısı şoku proteini, üreaz ve lipopolisakkarit de dahil olmak üzere, lamina propria makrofajları tarafından alınabilen ve işlenen T-hücrelerini aktive eden bir dizi antijenik madde üretir. Özellikle epitelyal sıkı bağlantılara bitişik olan hücresel bozulma, kuşkusuz, lamina propriaya antijen sunumunu artırır ve bağışıklığı uyarır. Net sonuç, IL-1, IL-6, tümör nekroz faktör-alfa (TNF- α) ve en önemlisi IL-8 gibi inflamatuvar sitokinlerin üretimini artırmasıdır (33).

Helicobacter pylori enfeksiyonunda doku yaralanması veya modüle edici inflamasyonun üretilmesinde lokal antikorların rolü tartışmalı olmakla birlikte, gastroduodenal mukozada *H. pylori*'ye lokal IgG (immünglobulin) ve IgA antikorlarının üretimi ile bir B hücresi cevabı ortaya çıkar (34). Mide B hücrelerinin aktive edilmiş T hücreleri ile uzun süreli uyarılması nadir durumlarda mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfomasına yol açabilir.

T hücreleri de enfeksiyon sırasında aktive edilir ve sitokinleri sınıf II MHC (Majör histokompatibilite kompleksi)'yi indükleyerek bakteriyel tutunmayı destekler.

CagA/VacA pozitif suşlar, *H. pylori* enfeksiyonunun klinik belirtileri olan hastalarda daha sık görülür; dolaylı olarak, IL-8'in gastroduodenal hastalıkta önemli bir patofizyolojik rol oynayabileceğini düşündürmektedir (35). IL-8 güçlü bir kemotaktik faktördür, nötrofilleri aktive eder ve akut inflamatuvar hücreleri mukozaya alır. *H. pylori*, transkripsiyon faktörü NF-kB'yi (nükleer faktör kappa B) aktive eder ve bu da IL-8 üretimini artırır (36). NF-kB ayrıca, ilave inflamatuvar yanıt genlerinin ekspresyonunu düzenler ve *H. pylori*'ye ek olarak diğer bakteriyel enfeksiyonlara mukozal epitelyal yanıtta rol oynayabilir.

Bütün bunlarla birlikte *H. pylori* ile enfekte bireylerin tümünde hastalık gelişmez. Konakçı genetiği de bunun belirleyicilerindendir. IL-1 β (beta)'nın (ve muhtemelen IL-10) konak polimorfizminin enfeksiyona inflamatuvar yanıtın derecesini belirlediği ve asit sekresyonunda (hiper veya hipo sekresyonu) rol oynayarak maligniteye katkıda bulunduğu görülmüştür (37).

Ayrıca *H. pylori* enfeksiyonu olan hastalarda eş zamanlı olarak platelet aktivasyonu, Von Willebrand faktörü ile patojen etkileşimi sebebiyle geliştiği düşünülen trombosit birikimi ile çeşitli damar içi disfonksiyonel durum ve patolojilere destek sağlayabileceği düşünülmektedir (38).

2.6. *Helicobacter pylori* ilişkili klinik sonuçlar

Helicobacter pylori'nin 1980'li yılların başında keşfinden beri, bu Gram negatif spiral bakteriler ve onunla ilişkili hastalık durumları hakkında çok şey öğrenilmiş, öğrenilmeye devam edilmektedir. Yine 1994 yılında Ulusal Sağlık Konsensus Konferansı, *H. pylori*'yi gastrik ve duodenal ülserlerin bir nedeni olarak kabul etmiş ve sonra Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı, *H. pylori*'nin gastrik adenokarsinom için insan karsinogeni olduğunu açıklamıştır (39). Dolayısıyla *H. pylori* enfeksiyonu, genetik, çevresel ve bakteriyel faktörler arasındaki karmaşık bir etkileşimle ilişkilidir ve sebep olduğu tablolar asemptomatik kolonizasyondan maligniteye kadar değişkenlik gösterebilir.

2.6.1. Akut gastrit

Helicobacter pylori'nin akut gastrite yol açma kabiliyeti, sağlıklı gönüllülerin bakterileri yutması ve hafif bir hastalık (ateş olmaksızın epigastrik ağrı, bulantı ve kusmadan oluşan) gelişikten sonra, gastrik biyopside akut inflamatuvar değişikliklerin ortaya çıktığı gösterilmiştir (40). Olgular, akut enfeksiyonun, bir enfeksiyöz ajandan kaynaklandığından şüphelenilen ve "epidemik hipoklorhidri" olarak adlandırılan bir fenomenin hipoklorhidri gelişimi ile ilişkili olduğunu da göstermiştir (41). Akut gastrit kliniği semptomatik olduğunda genellikle 3-14 gün kadar sürer. Konak immün mekanizması sayesinde nadiren eradikasyon sağlanabilirken çoğunlukla ömür boyu midede kalır ve asemptomatiktir (42).

2.6.2. Kronik atrofik olmayan gastrit

Akut gastrit sonrasında oluşan ve *H. pylori*'nin en sık sebep olduğu klinik tablo kronik atrofik olmayan gastrittir. Çoğunlukla gastrik antrumda baskındır ve lenfositlerin, makrofajların ve plazma hücrelerinin interstisyel infiltratı ile karakterize edilir. Bazen lenfoid foliküller oluşur. "Aktivite" terimi, kronik gastritin bir arka planında fokal akut inflamasyonun (stroma ve epitel tabakasında polimorfonükleer nötrofillerin (PMN) infiltrasyonu) varlığını belirtmek için yapılmıştır. Bilinmeyen nedenlerden dolayı, PMN'ler aktif epitel replikasyonunun gerçekleştiği bez boyunlarında daha bol olma eğilimindedir. PMN'lerin varlığı, mide lümeninin *H. pylori* tarafından aktif kolonizasyonu ile yakından ilişkilidir.

Bu klinikopatolojik tablo her toplumun en az yarısında sebat etmekte olup, asemptomatik olarak varlığını sürdürmektedir.

2.6.3. Kronik atrofik gastrit

Kronik *H. pylori* gastriti, dünya nüfusunun üçte ikisini etkilemektedir ve insanlarda en yaygın kronik inflamatuvar bozukluklardan biridir. Kronik *H. pylori* gastriti ile majör ilişkili patolojiler peptik ülser hastalığı, mide adenokarsinomu ve MALT lenfomadır. Atrofik gastrit, antrumdaki mukus salgılayan bezler ve korpustaki pariyetal ve baş hücreler de dahil olmak üzere orijinal mide bezlerinin multifokal kaybıyla karakterizedir. Bu bulgu, atrofinin (bez kaybı) preneoplastik kaskadın ilk histopatolojik lezyonu olduğu görüşünü desteklemektedir.

Bakteri hem antrum hem korpusta yer alabilir. Birkaç araştırmacının kolektif deneyimlerine göre, antrum ve korpusta yerleşim %80, sadece antrum %8, sadece korpusta yerleşim ise yaklaşık %10 oranlarındadır (43). Gastrit tablosunun erken döneminde artmış

gastrin salınımı ve azalan somatostatin, sıklıkla asit sekresyonunda bir artış ile sonuçlanır. Devam eden antral ya da korpus inflamasyonu ile gastrin üreten (G) hücreler ve asit üreten parietal hücreler yavaş yavaş kaybedilir, asit sekresyonunda düşüş ve dolayısıyla atrofi ile bakteri göçünü kolaylaştırır ve korpus gastritine, akabinde muhtemel intestinal metaplazi gelişmesine yol açar (44). Bu nedenle, *H. pylori* kronik gastritinin doğal öyküsü, korpusa yayılan yaygın antral inflamasyondur ve asit sekresyonunda eşzamanlı azalma yani hipoklorhidri ile birlikte gelişen korpus hasarı ile sonuçlanır. Bu senaryo PPI (proton pompa inhibitörü) ile kronik tedavi gibi düşük asit sekresyon durumları ile hızlandırılmaktadır. Bu yüzden PPI kullanımını halen tartışmalıdır, tedavi öncesi test edilerek kullanılması önerilmektedir.

2.6.4. Peptik ülser

Peptik ülserler mide ve duodenumda bulunan asit kaynaklı lezyonlar olup, submukoza veya muskularis propriyaya uzanan eroziv mukoza ile karakterize klinik tablodur. Peptik ülserlerin yaklaşık yüzde 70'i asemptomatiktir (45). Asemptomatik peptik ülseri olan hastalar daha sonra ülserle bağlı komplikasyonlar ile başvurabilir. Örneğin peptik ülser kanaması, hastaların %43-87'sinde, dispepsi veya diğer gastrointestinal semptomlar olmaksızın gelişebilir (46). Patogenezde *H. pylori*, nonsteroid anti-inflamatuar ilaçlar (NSAİİ-prostoglandin sentez inhibisyonu ile), sigara, alkol, stres, yaşam tarzı ve diyet rol oynamaktadır. *H. pylori* gastriti duodenal ülserli (DÜ) olguların %90-95'inde, mide ülserli olguların ise yaklaşık %75-85'inde bulunmaktadır. NSAİİ kullanımına bağlı olmayan DÜ tanılı hastaların çoğunda *H. pylori* mevcuttur, *H. pylori* enfeksiyonu DÜ ortaya çıkmadan önce de saptanabilir ve bir risk faktörü olarak görülmektedir. Peptik ülser için diğer etiyolojiler arasında stres ülserlerine neden olan iskemi, ilaçlar (steroidler, alendronat, potasyum klorür ve kemoterapötik maddeler), viral enfeksiyonlar (CMV, HSV), gastrik bypass ameliyatı, metabolik rahatsızlıklar, radyoterapi, histamin, eozinofilik infiltrasyon ve bazofili bulunur (47).

Peptik ülser hastalığının gelişimi için belirli *H. pylori* genleri ve virülans faktörler öne çıkmış; *VacA* m1 gibi virülans faktörleri muhtemelen artmış peptik ülser hastalığı riski ile ilişkilendirilmiştir (48). Yine bir diğer virülans faktörü olan *CagA* da peptik ülser tanılı hastalarda %100'e yakın oranlarda pozitif bulunmuştur (49).

Yaşam boyu devam eden yüksek prevalansı ve çeşitli klinik prezentasyonu nedeniyle, peptik ülser hastalığının tanınması ve uygun tedavisi, önemli komplikasyonları önlemek ve en aza indirmek için anahtardır. *H. pylori* eradikasyonunun peptik ülser hastalığı nüksünü

azaltmak ve duodenal ülser iyileşme oranını arttırmak için maliyet etkin bir yaklaşım olduğu gösterilmiştir (50).

2.6.5. Gastro-özofageal reflü hastalığı (GÖRH)

Gastro-özofageal reflü hastalığı toplumda çok yaygın görülen ve yaşam kalitesini etkileyen bir hastalıktır. Klasik semptomların yanısıra striktür gelişmesi, eroziv-eroziv olmayan özefajit, özefagus adenokanseri ve barret özefagus gibi komplikasyonlara da sebep olabilir.

Gastrik içeriğin özofagus içine gelmesi (gastroözofageal reflü) normalde fizyolojik bir olaydır. Çoğu zaman özofageal hasara veya başka komplikasyonlara neden olmaz, fakat süreç uzadığında özofagusta makroskobik hasara yol açan ve göğüs ağrısı, pirozis, regürjitasyon, disfaji, geğirti, epigastrik ağrı gibi semptomlara neden olan bir hastalık haline gelir.

Gastro-özofageal reflü hastalığının oluşmasında en önemli faktör reflü önleyici mekanizmaların bozulmasıdır. *H. pylori* ve GÖRH arasındaki etkileşimin şüphesi ise; epidemiyolojik verilerden kaynaklanmakta olup, *H. pylori* prevalansı batı toplumlarında azaldıkça, GÖRH prevalansı ve özofagusun adenokarsinomu artmıştır (51). Bu eğilim birçok araştırmacının GÖRH'li hastalarda *H. pylori* prevalansını incelemesine yol açmıştır. Bazı raporlar *H. pylori* pozitif hastaların GÖRH olma ihtimalinin daha düşük olduğunu ve mevcut olduğunda özofajitin şiddetinin *H. pylori* negatif olanlara göre azaldığını ileri sürmektedir (52).

Helicobacter pylori pozitif olan bireylerde Barrett metaplazisi ve özofageal adenokarsinom prevalansı daha düşük bulunmuştur (53). Bazı çalışmalarda, *CagA*'ya (korpus gastritinin gelişimi ile güçlü bir şekilde ilişkili olan suşlar) karşı *H. pylori* suşlarının özofageal adenokarsinom gelişimine karşı özellikle koruyucu olabileceği ileri sürülmüştür (54). Bu nedenle mevcut veriler *H. pylori*, özellikle *CagA* pozitif suşları ile kolonizasyonun daha şiddetli GÖRH formlarına karşı koruyucu olabileceğini düşündürmektedir. Ne yazık ki, *CagA* pozitif suşlar da gastrik adenokarsinom ile ilişkili bulunmuştur.

Dolayısıyla yüksek risk altındaki uzun dönem asid süpresyon tedavisi ihtiyacı olan bu hasta grubunda *H. pylori*'ye yönelik testlerin yapılarak tedavisinin düzenlenmesi önem arz etmektedir.

2.6.6. Fonksiyonel Dispepsi

Dispeptik yakınmalar ile başvuran olgularda semptomları açıklayacak organik, sistemik veya metabolik hastalık eşlik etmeksizin endoskopik radyolojik veya biyokimyasal herhangi bir patolojik bulgunun olmaması durumudur (55). Sebebi tam olarak aydınlatılamamıştır. Epigastrik ağrı, dolgunluk ve yanma hissi, postprandiyal bulantı öne çıkan semptomlardır. Etiyolojideki rolü tam olarak netleştirilemese de randomize kontrollü çalışmalardan elde edilen kanıtlar ile *H. pylori* eradikasyonu ile, asit sekresyonu veya intestinal mikrobiyotanın modifikasyonunun değiştirilerek dispeptik semptomların iyileştirilebileceği gösterilmiştir (56).

2.6.7. Gastrik MALT Lenfoma

Mukoza ile ilişkili lenfoid doku (MALT) lenfoma, ektranodal dokuları içermekle birlikte tipik olarak, mide bezlerini işgal eden ve yoğun lenfoid infiltrasyon ile karakterize edilen düşük dereceli bir neoplazidir (57). Gastrik MALT lenfomaları, *H. pylori* enfeksiyonu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir ve *H. pylori* gastriti olan hastalar mide MALT lenfomaları geliştirme riski altındadır. Bu patojen, tüm dünyada malignensi ile en çok ilişkilendirilen enfeksiyöz patojendir (toplam kanserlerin%5,5'i). Son birkaç yılda obezite, metabolik sendrom ve yüksek diyet tuzu gibi diğer çevresel faktörlerin de *H. pylori* enfeksiyonu ve karsinogenez insidansını artırdığı gözlenmiştir (58).

Mide lenfomalarının patogenezinde *H. pylori* rolünün keşfi, bu hastaların prognozunu radikal bir şekilde değiştirmiş ve bu patojenin ortadan kaldırılmasıyla sağkalım oranları artmıştır. Mevcut gastroenteroloji ve onkoloji uluslararası kılavuzları, erken aşamalarda ilk basamak tedavisinin *H. pylori*'nin eradikasyonu olduğunu, ileri evre olanlarda ise adjuvan anti-tümör tedavisine ihtiyaç olduğunu bildirmiştir (59).

2.6.8. Gastrik Adenokanser

Mide kanseri dünyada kansere bağlı ölümlerin en yaygın nedenlerinden biridir. Yapılan bir dizi çalışma, *H. pylori* enfeksiyonu ve gastrik adenokarsinom arasında açık bir ilişki olduğunu göstermiştir (60). *H. pylori*, histolojik olarak, midedeki kanserli dokuda veya

prekanseröz değişikliklerde (örn. eşlik eden intestinal metaplazi ile birlikte veya birlikte olmaksızın atrofik gastrit) patojen olarak gösterilmiştir (61).

Epidemiyolojik çalışmalar *H. pylori* seropozitifliği ve mide kanseri arasında güçlü bir korelasyon olduğunu göstermektedir. Örnek olarak, 13 farklı ülkeden (11 Avrupa ülkesi, Amerika Birleşik Devletleri ve Japonya) 17 popülasyonun EUROGAST çalışması, *H. pylori* ile enfekte olmuş popülasyonlarda, enfekte olmamış popülasyonlarla karşılaştırıldığında, altı kat artmış mide kanseri riskini bildirmiştir. Bilinen gastrik adenokarsinomlu ve eşleştirilmiş kontrollere sahip hastaların depolanmış serumunun *H. pylori* IgG antikorunu için test edildiği iç içe-durum kontrol çalışmalarında benzer bulgular not edilmiştir (62).

Helicobacter pylori ve kanser riskini ele alan en büyük prospektif çalışmalardan birinde, 1246'sı *H. pylori* enfeksiyonu olan 1526 Japon hastası incelenmiştir. Hastaların kayıt sırasında biyopsi ve daha sonra kayıttan bir ve üç yıl sonra endoskopiye tabi tutulduğu bildirilmiştir. Ortalama 7,8 yıl boyunca 36 (% 2.9) hastada mide kanseri geliştiği, hepsinin *H. pylori* ile enfekte olduğu saptanmıştır. Enfekte olmamış hastalarda bu süre zarfında kanser görülmediği bildirilmiştir (63).

Mide adenokarsinomlarında kronik aktif atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve invaziv karsinom şeklinde ardışık histopatolojik aşamalarla uzun bir prekanseröz süreç gerçekleşmektedir. *H. pylori*'nin rolü için kesin mekanizma henüz anlaşılmasa da bakterinin özelliklerinin, konak yanıtının ve çevresel faktörlerin hepsinin rol oynadığına inanılmaktadır.

2.7. *Helicobacter pylori* ile ilişkili olduğu düşünülen diğer hastalıklar

Helicobacter pylori enfeksiyonu daha çok gastrointestinal sistemde tanımlanmış olmasına rağmen, tetiklediği immün yanıt ile diğer sistemlere ait birçok hastalığın patogenezinde de aktif olabileceği düşünülmüştür. *H. pylori*'nin idiyopatik trombositopenik purpura, demir eksikliği anemisi ve B12 vitamini eksikliği üzerindeki rolü iyi bilinmektedir. Öte yandan, bakterinin kardiyovasküler, nörolojik, hematolojik, dermatolojik, baş ve boyun hastalıklarının yanı sıra diabetes mellitus, metabolik sendrom, kronik karaciğer hastalıkları ve mide dışı diğer gastrointestinal sistem malignensileri ile birlikteliği de hastalıkların patogenezinde rol alabileceğini ortaya koymaktadır (64).

2.7.1. Hepatobiliyer hastalıklar

Karaciğer fibrozisi:

Daha önce bahsedildiği gibi, karaciğer hastalıklarının ileri evrelerinde *Helicobacter spp.*'ye bağlı enfeksiyon daha yaygındır, kronik hepatitin siroz ve HCC'ye ilerlemesi ile birlikte bakterilerin olası artan kolonizasyon fikrinin güçlendiği çalışmalarla desteklenmiştir (65). Bu bulguları açığa kavuşturmak için araştırmacılar, *H. pylori* ile enfekte edilen farelerde deneysel hepatik fibrozun indüklendiğini göstermişlerdir. Karbon tetra klorür (CCl₄) ile tedavi edilen enfekte olmayan hayvanlara kıyasla CCl₄ ile tedavi edilen *H. pylori*-pozitif hayvanlarda fibrotik skorda anlamlı bir artış olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, alfa-düz kas aktin ve TGF-β1'in *H. pylori* ile enfekte hayvanlarda da arttığı bildirilmiştir (66). Araştırmacılar, *H. pylori* enfeksiyonundaki artmış karaciğer fibrozunun, hepatik stellat hücre çizgisinde artmış TGF-β1 ile indüklenen pro-inflamatuar sinyal yollarından kaynaklanabileceğini ileri sürmüşler, *H. pylori* enfeksiyonunun apoptoz ile hepatositlerin proliferasyonu arasındaki dengeyi bozarak, TGF-β1 aracılı tümör gelişiminde rol oynayabileceğini belirtmişlerdir (67). Başka bir çalışmada ise, *H. pylori* enfeksiyonunda aktive kupffer hücrelerinde ve hidrojen peroksit düzeylerinde de artış olduğu, bunun tek başına ya da TGF-β1 ile kombinasyon halinde proinflamatuvar sitokinlerin salınması yoluyla hepatik inflamasyon artışına yol açabileceği gösterilmiştir (68).

Esmat ve arkadaşları, hepatit C virüs (HCV) ile ilişkili kronik hepatit ve sirozlu hastaların HCV varlığında veya yokluğunda, hastalığın ilerlemesinde *H. pylori* enfeksiyonunun olası rolünü doğrulamak için karaciğer örnekleri üzerinde çalışmışlardır (69). *CagA* gen prevalansının karaciğer hastalığının şiddeti ile doğru orantılı olarak arttığı, erken evrede %5,9 iken, fibrozisin ileri evrelerinde %28,2 olan sıklığın saptanması ile gösterilmiştir. Ayrıca yazarlar tarafından *H. pylori*'nin hepatik hücrelere müdahale edebilecek toksinler üretebileceği öngörülmüştür.

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı:

Alkole bağlı olmayan yağlı karaciğer hastalığı [*Non-alcoholic fatty liver disease* (NAFLD)] özellikle batı ülkelerinde en sık görülen karaciğer hastalığı olarak kabul edilmektedir ve hastaların %25-%30'unu etkilediği bildirilmektedir (70). NAFLD, nonalkolik yağlı karaciğerinden, alkole bağlı olmayan steatohepatit [*Non-alcoholic steatohepatitis* (NASH)]'e kadar, siroz ve HCC'ye önemli alkol tüketimi olmaksızın ilerleyebilen geniş bir karaciğer bozukluğu spektrumu içermektedir (71). Ayrıca, *H. pylori* enfeksiyonunun insülin

direnci (İR) patogenezinde olası rolü olduğu gösterilmiştir. İR'nin, NAFLD'nin etiolojisinde rol oynadığı düşünüldüğünde, *H. pylori* enfeksiyonunun bir risk faktörü olarak değerlendirilmesi, NAFLD üzerindeki etkisini açıklığa kavuşturmaya yardımcı olabilir (72).

İlk defa 2008 yılında NASH'lı 44 yaşındaki bir kadından alınan karaciğer dokusunda *H. pylori* 16S rDNA saptanmıştır (73). Bundan sonra, kronik karaciğer hastalığı olan hastalardan alınan karaciğer örneklerinin kullanıldığı bir çalışmada, *H. pylori* DNA'sının, NAFLD'li deneklerden alınan örneklerin %45,5'inde (5/11) pozitif olduğu bildirilmiştir (74). Abenavoli ve ark. nın tanımladığı bir olgu, *H. pylori* eradikasyon tedavisinden sonra İR ve yağlı karaciğer indekslerindeki iyileşmeyi, *H. pylori* enfeksiyonu, İR ve NAFLD arasındaki olası ilişkiyi güçlendirmiştir (75). Aynı yıl, başka bir çalışmada, anti-H pilor IgG titrelerinin dolaşımdaki düşük seviyedeki adiponektin ve daha yüksek TNF- α düzeyleri ile birlikte NAFLD'li bireylerde kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (76). NAFLD'nin yaygınlığının dünya çapında artmakta olduğu ve *H. pylori* enfeksiyonunun patogenezinde rol oynayabileceği düşünüldüğünde, bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu aşikardır. Bununla birlikte, bu ilişki doğrulandıktan sonra, *H. pylori* eradikasyon rejimlerinin NAFLD üzerinde terapötik etkileri olabileceği düşünülmektedir.

Siroz ve hepatik ensefalopati:

Siroz, dünya çapında yüksek insidans ve prevalansla birlikte önemli bir sağlık sorunudur. Sirozlu hastaların gastrointestinal mukozal lezyonlar geliştirme olasılığının daha yüksek olduğu göz önüne alındığında, peptik ülser hastalığı ve kanama için artmış risk söz konusudur (77). Bu bağlamda *H. pylori* enfeksiyonunun sirotik hastalarda peptik ülser patogenezinde önemli rol oynadığı ve hepatik ensefalopati ve hiperamonemi gelişmesi ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (78). Sirozlu hastalarda *H. pylori* enfeksiyonunun eradikasyonunun, hiperamonemi ve hepatik ensefalopatinin kontrolü üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabileceği de gösterilmiştir (79).

Hepatik ensefalopati, karaciğer sirozunun sık görülen bir komplikasyonudur ve çok çeşitli nöropsikiyatrik belirtiler olarak kendini gösterir. HE'nin patogenezinde amonyağın artışı önemli bir sorundur. Dolayısıyla gastrointestinal sistemde amonyak üretiminin azaltılması, HE için güncel bir tedavi stratejisidir. Ayrıca, *H. pylori* enfeksiyonu sırasında üretilen inflamatuvar sitokinlerin kan-beyin bariyerini geçebildiğine ve sirozla ilişkili bilişsel işlev bozukluklarının patogenezinde katkıda bulunabileceğine inanılmaktadır (80).

Primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit:

Primer biliyer siroz (PBS) küçük intralobüler ve septal safra kanallarının kronik, ilerleyici, kolestatik granüloamatöz ve yıkıcı enflamatuvar lezyonudur. Serum antimitokondriyal antikörlerin varlığı ve siroza ilerleme potansiyeli olan bir otoimmün mekanizmanın neden olması muhtemeldir. Primer sklerozan kolanjit (PSK), safra kanalı fibrozisi ile birlikte intrahepatik veya ekstrahepatik striktür veya her ikisi ile karakterize nadir, kronik kolestatik bir karaciğer hastalığıdır. Safra kanallarının ve karaciğerin iltihaplanması ve fibrozisini, bozulmuş safra oluşumu veya akışı ve ilerleyici karaciğer fonksiyon bozukluğu izler. Yapılan çalışmalarla kontrollere kıyasla PSK hastalarında safra epitelinde *H. pylori* DNA'sının pozitifliğinin safra reflüsünün proksimal biliyer sistemde *H. pylori* kontaminasyonuna yol açabileceği ve bazı hastalarda PSK'nin gelişmesine ve/veya ilerlemesine katkıda bulunabileceği hipotezi desteklenmiştir (81). Ayrıca PBS ve aynı zamanda inflamatuvar barsak hastalığı tanısı olan bireylerde bozulan bağırsak geçirgenliğinin, *H. pylori*'nin hepatobiliyer sisteme translokasyonunu artırabileceği ve böylece otoimmün mekanizmaları tetikleyebildiği öne sürülmüştür (5).

Hepatoselüler karsinom:

Hepatoselüler karsinom, karaciğerin başlıca ana malign tümörü ve beşinci en yaygın kanser tipidir. Her yıl 50.000'den fazla vakanın teşhis edildiği ve hastalığın dünya nüfusunda kansere bağlı ölümlerin üçüncü önde gelen nedeni olduğu tahmin edilmektedir (82). HCC'ye bağlı ölüm vakaları yılda 250.000-1 milyon kişiyi göstermektedir ve prevalansı coğrafi konum, cinsiyet, yaş ve etnik kökene göre değişmektedir (83). HCC'nin gelişimi, alkolizm, mikotoksinlere maruz kalma (afلاتoksinler), kalıtsal hemokromatozis, PBS, α -1-anti-tripsin eksikliği, Wilson hastalığı ve mikrokistin gibi bazı faktörlere bağlanmaktadır (6). Kronik viral enfeksiyonlar, HCC'nin %75-80'inde ana risk faktörü olarak kabul edilmektedir (11). Çalışmalarla bu oranların hepatit B virüsü (HBV) için %50-55 ve hepatit C virüsü (HCV) için %25-30'a kadar çıkabileceği görüşü desteklenmektedir (84,85). Ayrıca, NASH, HCC'nin artmış riskine katkıda bulunabilecek obezite, diyabet ve insülin direnci ile de ilişkili olabilir. Bugüne kadar, *H. pylori* enfeksiyonu ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki hakkında kesin bir sonuca varmak için yeterli kanıt yoktur, fakat HCC'li hastalarda *H. pylori*'nin saptanması, bu hastalığın patogenezinde bakterilerin rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Son zamanlarda, HCC hastalarından alınan karaciğer dokusundaki bakterilerin saptanması dikkat çekmekte, hatta siroz ve HCC gibi karaciğer hastalıklarının daha ileri

evrelerinde daha yüksek *H. pylori* prevalansı nedeniyle kronik karaciğer hastalığı tablosunun ilerlemesinde olası rolü ortaya konulmaya çalışılmaktadır (86). HBV veya HCV ile *H. pylori* ko-enfeksiyonunun, sirozdan kansere doğru ilerlemeyle sonuçlanabileceği ve HCC'nin gelişiminde *H. pylori* ve hepatit virüsü arasındaki sinerjiyi güçlendirdiği düşünülebilir.

Helicobacter pylori'nin insan karaciğerini kolonize ettiği mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır. Bazı araştırmacılar, karaciğer dokusunda *H. pylori* DNA tespitinin, portal hipertansiyon varlığında, özellikle kronik karaciğer hastalığının ileri evrelerinde, portal sistemden mideye bakteriyel translokasyondan kaynaklanabileceğini öne sürmüşlerdir (11). Ayrıca, enterik *Helicobacter* türleri *in vivo* olarak hepatosellüler hasara neden olabilen toksinler üretebilir (87). *Helicobacter spp.* DNA hasarı, büyüme uyarımı, sağkalım artışı, anjiyogenez ve konak dokuya invazyon ile karaciğer kanserinin gelişmesine katkıda bulunan proinflamatuvar kemokinlerin ve sitokinlerin üretimini indükleyebilir (88).

Kronik *H. pylori* enfeksiyonu hepatosit replikasyonunu modüle edebilir ve karaciğer hastalıklarının patogenezi için önemli olabilir. Virülan suş muhtemelen hücre proliferasyonunu durdurabilir. *H. pylori*, hepatosit apoptozu ile proliferasyon arasındaki dengeyi bozarak TGF- β 1 bağımlı tümör oluşumu riskini artırabilir ve karaciğerde karsinojenik süreçlere de dahil olabilen TNF- α 'nın indüksiyonuna yol açabilir (67).

İmmun sistemin tetiklenmesinin yanı sıra HCC'li hastaların, karaciğer örneklerinde saptanan *VacA* ve *Cag A* genleri gibi *H. pylori* virülans faktörlerinin karaciğer karsinogenезinde rol oynadığı düşünülmektedir. Bu bulgular yakın zamanda Esmat ve arkadaşları tarafından desteklenmiş (69) ve özellikle *CagA* gen pozitifliğinin karaciğer hastalığının şiddeti ile doğru orantılı olduğunu göstermektedir.

2.8. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunda tanı yöntemleri

Helicobacter pylori'yi etken olarak tespit edebilmek için kullandığımız tanı yöntemleri invaziv (kültür, histopatolojik inceleme, hızlı üreaz testi, PZR) ve invaziv olmayan (serolojik testler, üre nefes testleri, gayta *H.pylori* antijen saptanması) testler olmak üzere iki grupta incelenebilir (89).

Non-invaziv testler:

Seroloji

İmmünoglobulin G antikorlarını tespit etmek için kullandığımız laboratuvar bazlı ELISA testleri invaziv olmayan ve ucuz testlerdir. Ancak aktif ve geçirilmiş enfeksiyon arasında güvenli bir ayırım yapmayıp, doğruluğu konusundaki endişeler klinik pratikte kullanımını sınırlandırmıştır. Serolojik testlerin özellikle düşük prevalanslı popülasyonlarda kullanılması önerilmemektedir, çünkü düşük pozitiflik önemli sayıda hastada uygunsuz tedavi ile sonuçlanabilir (90).

Üre nefes testi

Üre nefes testi, *H. pylori*'nin üre hidrolizi ile amonyak ve karbondioksit üretmesi temeline dayanır. Hastaya C-13 ya da C-14 işaretli izotoplar oral yol ile verilir. Bu testin duyarlılığı ve özgüllüğü, sırasıyla, yaklaşık olarak %88-95 ve %95-100 arasındadır (91).

Gaitada antijen aranması

Bakteriyel antijenin saptanması, devam eden aktif bir *H. pylori* enfeksiyonunun ek olarak tedavi sonrası eradikasyonun doğrulanması için kullanılabilir. Taze dışkı örneği hızlıca test edilmelidir. Test hemen yapılamayacaksa 2–8°C'de üç gün ya da –20 ile –80°C arasında test yapılana kadar muhafaza edilebilir. Test hızlı kalitatif immünokromotografik esaslı immünoassay yöntemiyle gaitada *H. pylori* proteinlerini tespit etmektedir. Laboratuvar bazlı monoklonal enzim immünoassay'in duyarlılığı ve özgüllüğü (sırasıyla %94 ve %97) olarak belirlenmiştir (92). Gebe ve çocuklarda da rahatça uygulanabilen kolay, hızlı ve güvenilir bir testtir. Dışkı antijen testi, bizmut bileşiklerinin, antibiyotiklerin ve PPI'lerin kullanımından etkilenmektedir. Eradikasyon tedavisinden iki-dört hafta sonra testin yapılması önerilmektedir (93).

İnvaziv testler:

Histopatolojik tanıpatolojik tanı

Gastrik biyopsiler, *H. pylori* enfeksiyonu ve ilişkili lezyonlar (örneğin atrofik gastrit, intestinal metaplazi, displazi ve MALT lenfoma) tanısını koyabilir. *H. pylori* enfeksiyonu tanısı için histopatolojik değerlendirmenin duyarlılığı ve özgüllüğü sırasıyla %95 ve %98'dir. Akut peptik ülser kanaması olan hastalarda ve *H. pylori*'nin korpustan antruma proksimal

migrasyonuna bağlı PPİ tedavisi alan hastalarda histopatolojinin duyarlılığı azaltabilir. PPİ kullanımının yokluğunda bile *H. pylori*'nin yoğunluğu farklı bölgelerde değişebilir (94,95).

Kültür

Helicobacter pylori kültürde üremesi zor, sıcaklığa ve neme duyarlı bir bakteridir. Oda sıcaklığında canlılığı uzun sürmez bu sebeple numunenin hızlıca ve uygun saklama koşulları ile laboratuvara ulaştırılması gerekmektedir. At kanı veya koyun kanı ile zenginleştirilmiş Skirrow agar, beyin-kalp infüzyon agar, ikolatamsı agar, *Brucella* agar veya Columbia agar gibi besiyerlerine orta derecede nem, %5-10 CO₂ ve uygun ısıda ekim yapılmalıdır. Mikroaerofilik ortamda beş-yedi günde ürer. Bakteriyel kültür ekimi yüksek özgülüğe sahipken, düşük bir duyarlılığa sahiptir (89).

Hızlı üre testi

Biyopsi örneklerinde *H. pylori*'nin üreaz aktivitesinin belirlenmesine dayanan bir tanı yöntemidir. Üreaz varlığında oramdaki üre parçalanarak amonyak ve bikarbonata dönüşür, böylece ortam Ph'ı yükselir. Bir indikatör yardımıyla sonuçlar hızlıca değerlendirilir. Biyopsi üreaz testinin duyarlılığı ve özgülüğü sırasıyla yaklaşık %90 ve %95'tir (90).

Polimeraz zincir reaksiyonu

Polimeraz zincir reaksiyonu, doku biyopsilerinde düşük bakteriyel yükleri ve antimikrobiyal direne ilişkili spesifik mutasyonları tanımlamak ve tespit etmek için kullanılabilir. Biyopsi örneklerinde *H. pylori*'ye ait 23S rRNA, *ureA*, *ureB* ve *vacA* gibi hedef bölgeleri tanımlamaya yönelik çeşitli PZR yöntemleri uygulanmaktadır (96). PZR yöntemi ile çeşitli vücut sıvıları ve sekresyonlarındaki az sayıda bakterinin tespitine dahi olanak sağlanırken; uygun örneğin hazırlanmasındaki sorunlar, kontaminasyondan dolayı hedef DNA seçiminin zorlaşması, bakteri yoğunluğunun istenilen düzeyde olmaması ve yöntem ile ilgili teknik aksaklıklar testin doğru sonuç vermesini etkileyebilir. Aynı zamanda maliyetinin yüksek oluşu bir dezavantaj olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.9. *Helicobacter pylori* enfeksiyonunun tedavisi

Helicobacter pylori enfeksiyonu, gastrit, peptik ülser, mide kanseri ve mide mukozasına bağlı lenfoid doku lenfoması dahil olmak üzere gastrointestinal hastalıkların ortaya çıkması ile yakından ilişkilidir. Mevcut tedavi hala, amoksisilin, klaritromisin, metronidazol, tetrasiklinler ve levofloksasin gibi antimikrobiyal ajanların ile PPI ve bizmut bileşikleri gibi antisekretuar ajanların bir kombinasyonuna dayanmaktadır. Bir PPI ve iki antibiyotikten (klaritromisin ve amoksisilin/metronidazol) oluşan standart bir üçlü tedavi, enfeksiyon tedavisinde birinci basamak rejim olarak yaygın şekilde kullanılır, ancak *H. pylori*'nin klaritromisine ve metronidazole karşı artan direnci, eradikasyon oranını önemli ölçüde azaltmıştır. Alternatif olarak, levofloksasin bazlı üçlü tedavi, birinci basamak tedavinin başarısızlığından sonra *H. pylori* enfeksiyonu için kurtarma tedavisi olarak kullanılabilir. Levofloksasin dahil olmak üzere antibiyotiklere direncin artması, bu tür rejimlerin uygulanabilirliğini sınırlayabilir. Bununla birlikte, *H. pylori*'nin amoksisiline direnci genel olarak düşük olduğundan, bir PPI ve amoksisilin içeren bir optimize edilmiş yüksek doz ikili terapi etkili bir birinci basamak ya da kurtarma tedavisi olabilir. Ek olarak, alternatif tıbbın birlikte kullanılması, *H. pylori* enfeksiyonuna karşı ilave veya sinerjistik etkiler sağlama potansiyeline sahiptir, ancak klinik çalışmalarda etkinliğinin doğrulanması gerekir (97).

2.10. Diğer helikobakter türleri

Helicobacter pylori nin keşfi ile birlikte gastrik kanser, gastrit, mide ve duodenal ülser gibi hastalıkların patogeneze yönelik bilgi birikimi ve tedavi yaklaşımları değişkenlik göstermiştir. Araştırmalar derinleştikçe de ekstraintestinal sistemler ile ilgili diğer hastalıkların etiolojisinde *Helicobacter* türlerinin ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Hepatobiliyer yolakta *H. bilis*, *H. hepaticus*, *H. pullorum*, *H. Pylori*, *H. sp flexispira* PZR ile saptanan türlerdir. *H. canadensis*, *H. canis*, *H. Felis*, *H. fennelliae*, *H. heilmannii*, *H. pullorum*, *H. winghamensis* ve *H. cinadei* ise rezervuarı kedi, köpek gibi bazı hayvanlar olan, gastroenterit ve bakteriyemi etkeni olarak insan feçes ve kanında izole edilen diğer türlerdir (98).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Çalışma Grubu ve Örneklerin Toplanması

İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsünde 19 Nisan 2017-19 Mayıs 2018 tarihleri arasında HCC ya da kronik karaciğer hastalığı nedeniyle karaciğer nakli yapılmış 18 yaş ve üzerinde olan yetişkin hastalardan alınan 195 adet safra ve karaciğer örnekleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı. Safra örnekleri ve karaciğer dokuları alıcı ve vericilerin ameliyat sırasında hiçbir ekstra işlem ve komplikasyon tehlikesi olmadan cerrahi ekip tarafından alındı. Operasyondan önce alıcı ve vericilerin yazılı onam formları alındı.

Kullanılan Araç ve Gereçler

Otomatik DNA izolasyon sistemi, doku parçalayıcı, otomatik PZR robotu, realtime PZR cihazı, buzdolabı, -20 °C'lik derin dondurucu, elektroforez cihazı, jel görüntüleme sistemi, distile su cihazı, vorteks karıştırıcı, mikrosantrifüj, otomatik pipet, spektrofotometre, DNA dizileme cihazı.

Nükleik Asit İzolasyonu

Örneklerden nükleik asit izolasyonu için QIASymphony DSP Virus/Pathogen Midi Kit (Qiagen, Hilden Germany), Qiasymphony (Qiagen, Hilden Germany) cihazı ile birlikte kullanıldı. Doku örnekleri nükleik asit izolasyonu öncesinde ön işleme tabi tutuldu. Buna göre doku örnekler önce steril bistirü yardımıyla parçalandı daha sonra TissueLyser (Qiagen, Hilden Germany) ile homojenize edildi. Daha sonra Buffer ATL (Qiagen) (örnek başına 200 µl) ve proteinaz K (20 mg/ml) ile inkübe edildi. Safra örnekleri ise direkt olarak kullanıldı.

Nükleik asit izolasyonu yapılan örneklerinde miktar tayini ve saflık derecesinin belirlenmesi için MaestroGene ile ölçüm gerçekleştirildi. Ölçüm sonrasında her bir örnekteki toplam DNA/RNA ve protein miktarı ve nükleik asit saflık derecesi belirlendi. Tüm örnekler çalışılincaya kadar RNAlater içerisinde (RNA stabilizasyon tamponu) ve -80°C'lik derin dondurucuda saklandı.

***Helicobacter* spp.'nin endpoint PZR ile tespit edilmesi**

Helicobacter spp.'ye özgü gen bölgelerinin tespiti için Tolia ve arkadaşlarının kullandığı primer çiftleri (ilk aşamada 1F 5'-CTATGACGGGTATCCGGC-3', 1R 5'-CTCACGACACGAGCTGAC-3'; ikinci aşamada ise 1F ve 2R 5'-TCGCCTTCGCAATGAGTATT-3') kullanıldı. Her bir gen bölgesi için 25 µl amplifikasyon karışımı; 12,5 µl TopTaq Master Mix (QIAGEN, Hilden, Germany), 2,5 µl Coral Load, her primerden 1'er µl, 5,5 µl H₂O, 2,5 µl ekstraksiyon ürünü eklenerek ısı döngü cihazında (Applied Biosystems, ABD) amplifikasyon yapıldı. İlk aşamadaki primer çifti için ısı döngü profili 94°C'de 2 dakika; 30 siklus 94°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn, son uzama 72°C'de 5 dakika olarak uygulandı. İkinci aşamadaki primer çifti için ise 95°C'de 10 dakika; 35 siklus 94°C'de 30 sn, 55°C'de 30 sn, 72°C'de 30 sn, son uzama 72°C'de 5 dakika olarak uygulandı. Polimeraz zincir reaksiyonu sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri agaroz jelde elektroforeze tabi tutuldu. Oluşan PZR ürününün büyüklüğüne göre agaroz jel % 1,5 ya da %3 konsantrasyonda hazırlandı. Elektroforezden sonra agaroz jel, 5 µg/ml etidyum bromür içeren 400 ml ultra saf su içerisinde 20 dakika boyandı ve oluşan bantlar jel görüntüleme sisteminde (Gel logic 2200 imaging system (ayrım gücü: 1708x1280 pixel), Kodak Company, NY, USA) görüntülendi (99).

***Helicobacter* spp.'nin realtime PZR ile tespit edilmesi**

Örneklerde *Helicobacter* spp.'nin tespitinin erime eğrisi analizi için Syber Green tabanlı Qiagen RT2 Syber Green FAST Mastermixes kiti, Qiagen Rotorgene Q cihazı ile kullanıldı.

Reaksiyon Karışımı

- 12.5 µL SyberGreen Master Mix
- 1 µL Forward ve Reverse Primer
- 6.5 µL H₂O eklenip toplam hacim 20 µL'ye ayarlandı.
- Son olarak 5 µL cDNA eklendi. Böylece reaksiyon hacmi 25 µL olmuş oldu.

Isı döngüleri

- 10 dakika 95°C'de
 - 15 saniye 94°C
 - 30 saniye 60°C'de bağlanma
- } 40 siklus

Erime Eğrisi Parametreleri

Ramp (Artış): 60°C- 90°C

Yükselme: Her adımda 1°C

İlk adımda pre-melt koşullandırma için 90°C bekleme

Her adımda 5 sn bekleme

***Helicobacter* spp. pozitif örneklerde *H. pylori*, *H. hepaticus* ve *H. bilis*'in PZR ile tespiti**

Çalışmaya dahil edilen örneklerden *helicobacter* spp. pozitif olanların tür düzeyinde tiplendirilmesi için çalışmaya dahil edilen etkenlere özgü primer kullanıldı. Bu amaçla *H.hepaticus* için p25 primer çifti, *H. bilis* için p17 primer çifti, *H. pylori* için glmM primer çiftleri kullanıldı. Kullanılan primerlerin dizilimi ve referansları **Tablo 3.1**'de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. *Helicobacter* spp. için kullanılan primerler

Primer Adı	Primer Dizisi 5'→3'	Ref
p17 f	ATGGAACAGATAAAGATTTTAAAGCAACTTCAG	1
p17 r	CTATGCAAGTTGTGCGTTAAGCAT	
p25 f	ATGGGTAAGAAAATAGCAAAAAGATTGCAA	1
p25 r	CTATTTTCATATCCATAAGCTCTTGAGAATC	
glmM f	GGA TAA GCT TTT AGG GGT GTT AGG GG	2
glmM r	GCA TTC ACA AAC TTA TCC CCA ATC	

Ref 1 : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1074391/>

Ref 2: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3122814/>

Pozitif tespit edilen örneklerin dizi analizi ile doğrulanması

PZR sonucunda elde edilen amplifikasyon ürünleri, DNA saflaştırma işlemine alınmıştır. Bu amaçla ticari bir saflaştırma kiti (Qiaquick PZR purification Kit, Qiagen, Almanya) kullanılmıştır. Üretici firmanın önerileri doğrultusunda uygulanan protokol

uygulanmıştır. İşlem sonunda elde edilen ürünlerin saflığı %1,5'luk agaroz jelde yürütülerek kontrol edilmiş ve yeterli miktarda DNA içeren saflaştırılma ürünleri sekans reaksiyonunda kullanılmak üzere -20°C'de saklanmıştır. DNA dizi analizi için sekans reaksiyonu; çift yönlü olarak her iki primerle yapılmıştır.

Dizi analizi tepkimesi için **Tablo 3.2** takip edilmiştir.

Tablo 3.2. Dizi analizi tepkimesi için malzemeler

Komponent	Miktar (µl)
5x Cycle Sequencing Buffer (AB)	3
BigDye	2
Primer (10 pmol/ µl)	0.32
H2O	12.68
DNA	2
Toplam Hacim	20 µl

Bu şekilde hazırlanan karışım Qiagen Rotor Gene cihazına yüklendi ve amplifikasyon için şu şema takip edildi:

95 °C	5 sn (denatürasyon)	} 60 siklus
50 °C	20 sn (bağlanma)	
60 °C	4 dk (primer uzaması)	

BigDye Prepisitasyon

BigDye prepisitasyon yapmak için tablodaki stok solüsyonları **Tablo 3.3**'te verilmiştir.

Tablo 3.3. BigDye prepisitasyon yapmak için tablodaki stok solüsyonları

A	Sodyum asetat pH 4.6	3000 mM
	Na-EDTA	100 mM
	Glikojen	20 mg/ml
	Su	
B	Sekans karışımı	
C	Etanol (-20 °C)	%99

1-B, buz üzerinde 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne alındı.

2-B'nin üzerine 12.39 µl A'dan ilave edildi.

3-Daha sonra mikrosantrifüj tüpüne soğuk etanol eklenir eklenmez >18 k x g ivmesi ile 45 dakika santrifüj edildi, ardından süpernatant uzaklaştırıldı.

4-İki defa 200 µl %70 etanol (-20 °C) ile yıkama yapıldı, süpernatant uzaklaştırıldı.

5-Pellet kurutuldu.

6-Pellet 40 µl deiyonize formamid ile çözüldü.

7-Çöktürülen ve kapiller jel elektroforezine hazır hale getirilen DNA, dizi analizi için cihaza yüklenmeden hemen önce 95 °C'de 5 dakika bekletilerek denatürasyon sağlandı.

Örnekler ABI Prism 310 Genetic Analyzer'a (Applied Biosystems, ABD) yüklendi. Suşların elde edilen gen dizileri Ugene yazılımı kullanılarak (<http://ugene.unipro.ru>), tüm diziler hizalanmıştır. Bunun yanında National Centre for Biotechnology Information (NCBI) içinde yer alan GenBank ve Temel Yerel Hizalama Aracı (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast>) sunucuları kullanılmıştır.

İstatistiksel Analiz

Araştırma verilerimizin istatistiksel değerlendirmesinde SPSS for Windows Version 26.0 yayılımı kullanıldı. Nitel veriler sayı (n), yüzde (%) ile nicel veriler ise Medyan (min-max) ile tanımlandı. İstatistiksel test olarak Pearson Ki-Kare analizi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Etik Kurul

Çalışma için İnönü Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 08.03.2017 tarih ve 2017/21 karar sayılı yazısı ile etik kurul onayı alındı.



4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 195 bireyin 121'i erkek, 74'ü kadın olup medyan yaş 36 (Min:18, Maks:72) idi. Bunların 109'u alıcı, 86'sı verici idi. Hastaların demografik ve klinik özellikleri **Tablo 4.1**'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Alıcı ve Vericilerin Demografi Özellikleri ve Önceden *Helicobacter pylori* Eradikasyon Tedavi Öyküleri

Demografik Özellikler ve HP Tedavi Durumu	Alıcı	Verici	P değeri
Yaş (yıl)			
Medyan			
(Min-Maks)	49 (18-72)	28 (18-55)	0,00
Cinsiyet, n (%)			
Erkek	74 (67,9)	47 (54,7)	
Kadın	35 (32,1)	39 (45,3)	0,074
Karaciğer Nakil Türü, n (%)			
Canlı	103 (94,5)		
Kadaverik	6 (5,5)		
HP Eradikasyon Tedavisi, n (%)			
Tedavi almış	61 (56,0)	13 (15,1)	
Tedavi almamış	48 (44,0)	73 (84,9)	0,00

HP: *Helicobacter pylori*

Çalışmamızın hasta grubunu alıcılar oluştururken kontrol grubu sağlıklı vericiler olarak belirlendi. Yaşa göre vericiler alıcılara göre anlamlı derecede daha genç bir nüfusa sahipti. Cinsiyet açısından alıcı verici arasında anlamlı fark yoktu. Hastalarda aynı zamanda *H. pylori* eradikasyon tedavisi de sorgulandı, toplamda %62,1 (121/195)'inin tedavi almadığı, %37,9 (74/195)'unun tedavi aldığı saptandı. *Helicobacter pylori* tedavisi alma oranı alıcılarda vericilere göre belirgin derecede daha yüksekti. Karaciğer nakillerinin %94,5 (103/109)'ünün canlı vericili karaciğer nakli idi.

Çalışmamızda alıcı ve vericilerin safra ve karaciğer dokularında *Helicobacter* spp. PZR testi çalışıldı. Karaciğer dokusunda sadece *H. pylori*, safra sıvısında *H. pylori* ve *H. bilis* için PZR pozitifliği elde edildi. Vericilerin safra örneklerinden 8 (%9,3)'ünde *H. pylori*, 2 (%2,3)'ünde *H. bilis*, 2 (%2,3)'ünde ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptanırken,

karaciğer dokularının sadece birinde (%1,2) *H. pylori* PZR pozitifliği saptandı. Karaciğer nakli alıcılarının safra örneklerinin 18 (%16,5)'inde *H. pylori*, 5 (%4,6)'inde *H. bilis*, 2 (%1,8)'sinde ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptandı. Alıcıların karaciğer dokularından ise 2 (%1,8)'sinde *H. pylori* PZR pozitifliği saptanırken, hepsinde *H. bilis* PZR negatifti. Hastalarda rapor edilen *helicobacter* spp. sonuçları **Tablo 4.2**'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Alıcı ve Vericilerin Safra ve Karaciğer Dokusunda *Helicobacter* spp. PZR Pozitifliği

Örnek Türü	Sonuç	Alıcı n (%)	Verici n (%)	X ² P değeri
Karaciğer Dokusu	HP PZR Pozitif	2 (1,8)	1 (1,2)	3,095
	HP PZR Negatif	107 (98,2)	85 (98,8)	>0,05
Toplam		109 (100)	86 (100)	
Safra	HP PZR Negatif	84 (77,1)	74 (86h)	5,85
	HP PZR Pozitif	18 (16,5)	8 (9,3)	>0,05
	HB PZR Pozitif	5 (4,6)	2 (2,3)	
	HP+ HB PZR Pozitif	2 (1,8)	2 (2,3)	

HP: *Helicobacter pylori*, HB: *Helicobacter bilis*

Karaciğer nakli yapılan hastaların nakil nedenleri arasında kronik hepatit B (KHB), kronik hepatit C (KHC), kriptojenik siroz, hepatosellüler karsinom, alkolik siroz, primer biliyer siroz, Budd Chiari Sendromu, primer sklerozan kolanjit, otoimmün hepatit, Wilson hastalığı, dev hemanjiom, KHB+HCC, KHB+KHD+HCC, alveolar kist hastalığı bulunmaktaydı. En sık karaciğer nakli nedenleri KHB 29 (26,6%), kriptojenik siroz 23 (21 %) ve KHB+HCC 20 (18.3%) idi. Kriptojenik siroz ve Wilson hastalığı tanıları olan hastaların çıkartılan karaciğerlerinde *H. pylori* pozitif saptandı. Alıcı tanılarına göre dokuda *Helicobacter* spp. PZR sonuçları **Tablo 4.3**'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Alıcıların Hastalık Tanıları ve Dokuda *Helicobacter* spp. PZR Pozitifliği

Karaciğer Nakil Nedeni	Doku	
	n (%)	
	Negatif	Pozitif
KHB	29 (26,6)	0
KHC	2 (1,8)	0
Kriptojenik Siroz	22 (20,1)	1 (0,9)
Hepatosellüler Karsinom	7 (6,4)	0
Alkolik Siroz	5 (4,5)	0
Primer Biliyer Siroz	3 (2,7)	0
Budd Chiari	8 (7,3)	0
Primer Sklerozan Kolanjit	2 (1,8)	0
Otoimmün Hepatit	4 (3,6)	0
Wilson Hastalığı	2 (1,8)	1 (0,9)
Dev Hemanjiom	1 (0,9)	0
KHB+ HCC	20 (18,3)	0
KHB+KHD+HCC	1 (0,9)	0
Alveolar kist hastalığı	1 (0,9)	0
Toplam	107 (98,2)	2 (1,8)

KHB: Kronik Hepatit B, KHD: Kronik Hepatit Delta, HCC: Hepatosellüler karsinom

Aynı hasta grubunda safrada da bakteri araştırılmış ve *H. pylori*'nin yanı sıra *H. bilis* pozitifliği de gösterilmiştir. Sonuçlar **Tablo 4.4**'te verilmiştir.

Tablo 4.4. Alıcıların Hastalık Tanımları ve Safrada *Helicobacter* spp. PZR Pozitifliği

Karaciğer Nakil Nedeni	Safra n (%)			
	Negatif	HP Pozitif	HB Pozitif	HP+HB Pozitif
KHB	23 (21,1)	4 (3,6)	1 (0,9)	1 (0,9)
KHC	1 (0,9)	1 (0,9)	0	0
Kriptojenik Siroz	17 (15,5)	5 (4,5)	1 (0,9)	0
Hepatosellüler Karsinom	7 (6,4)	0	0	0
Alkolik Siroz	5 (4,5)	0	0	0
Primer Biliyer Siroz	3 (2,7)	0	0	0
Budd Chiari	2 (1,8)	4 (3,6)	2 (1,8)	0
Primer Sklerozan Kolanjit	2 (1,8)	0	0	0
Otoimmün Hepatit	3 (2,7)	0	1 (0,9)	0
Wilson Hastalığı	2 (1,8)	1 (0,9)	0	0
Dev Hemanjiom	0	1 (0,9)	0	0
KHB+ HCC	17 (15,5)	2 (1,8)	0	1(0,9)
KHB+KHD+HCC	1 (0,9)	0	0	0
Alveolar kist	1 (0,9)	0	0	0
Toplam	84 (%77,1)	18 (%16,5)	5 (%4,6)	2 (%1,8)

KHV: Kronik Hepatit B, KHD: Kronik Hepatit Delta, HCC: Hepatosellüler karsinom

Verici grubunda toplamda %15.1 (13/86) oranında *Helicobacter* spp. PZR pozitifliği saptanmış ve pozitifliğin en fazla 18-35 yaş aralığında olduğu görülmüştür. Alıcılarda ise bu

oran %24,7 (27/109) olup, en fazla 18-35 ve 46-65 yaş aralığında saptandığı görülmüştür. Alıcı ve vericilerin yaş aralıklarına göre dokuda PZR sonuçları **Tablo 4.5**'te ve safra örneklerindeki PZR sonuçları **Tablo 4.6**'da gösterilmiştir.

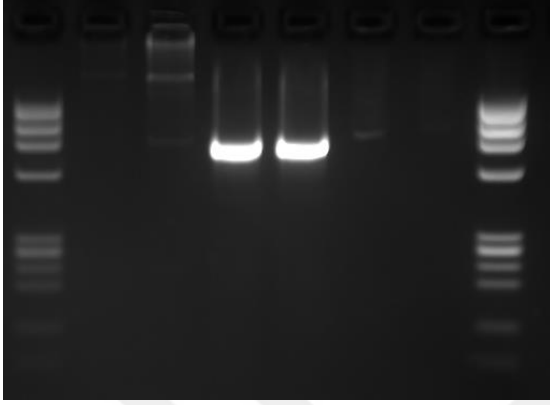
Tablo 4.5. Alıcı ve Verici Yaşı ile Dokuda *Helicobacter* spp. PZR Pozitifliği İlişkisi

Yaş	Alıcı		Verici		p Değeri
	PZR Negatif	PZR Pozitif	PZR Negatif	PZR Pozitif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
18-35 yaş	24 (92.3)	2 (7.7)	70 (98.6)	1 (1.4)	0.17
36-45 yaş	21 (100.0)	-	11 (100.0)	-	
46-65 yaş	57 (100.0)	-	4 (100.0)	-	
>65	5 (100.0)	-	-	-	

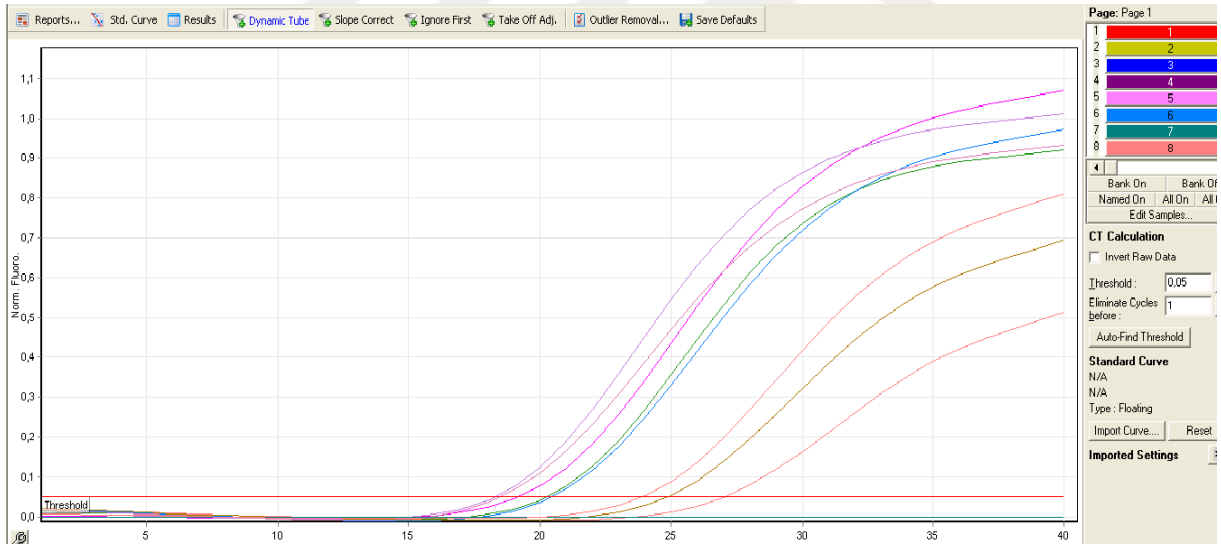
Tablo 4.6. Alıcı ve Verici Yaşı ile Safrada *Helicobacter* spp. PZR Pozitifliği İlişkisi

Yaş	Alıcı		Verici		p Değeri
	PZR Negatif	PZR Pozitif	PZR Negatif	PZR Pozitif	
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	
18-35 yaş	17 (65,4)	9 (34,6)	61 (85,9)	10 (14,1)	>0.05
36-45 yaş	17 (81.0)	4 (19,1)	9 (81,8)	2 (18,2)	
46-65 yaş	46 (80,7)	11 (19,3)	4 (100,0)	-	
>65	4 (80,0)	1 (20.0)	-	-	

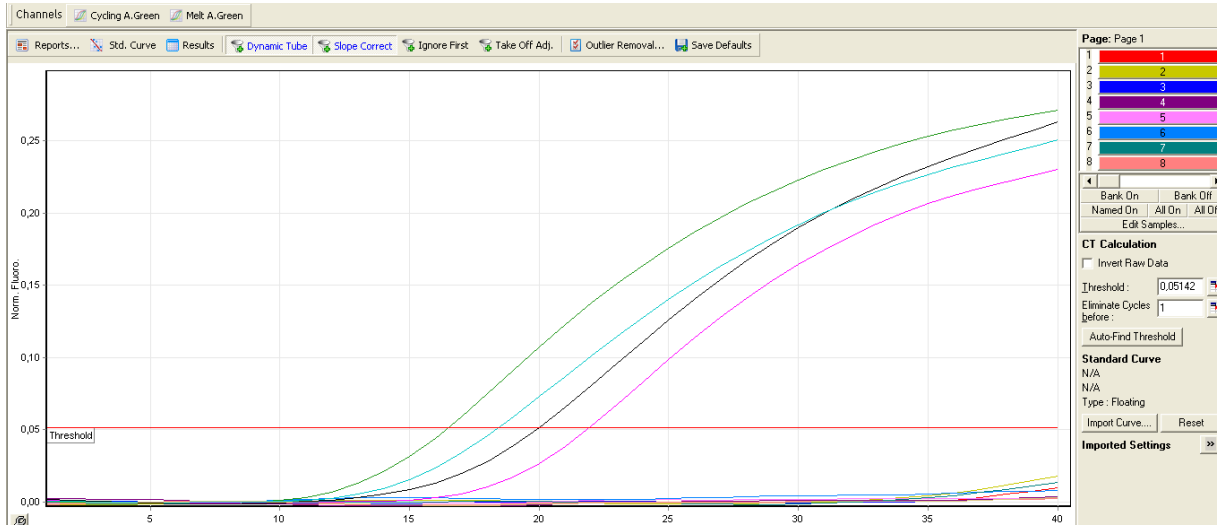
Helicobacter spp.'nin in house PZR jel elektroforez görüntüsü **Şekil 4.1**, Safra örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü **Şekil 4.2**, Karaciğer örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü **Şekil 4.3** ve *Helicobacter* spp.'nin erime eğrisi analizi görüntüsü **Şekil 4.4**'te gösterilmiştir.



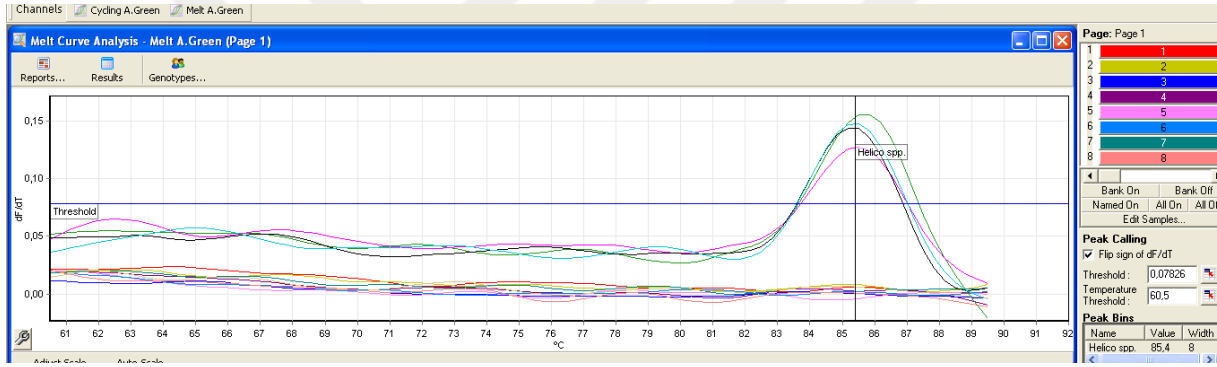
Şekil 4.1. *Helicobacter* spp.'nin in house PZR jel elektroforez görüntüsü



Şekil 4.2. Safra örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü



Şekil 4.3. Karaciğer örneklerinde *helicobacter* spp.'nin real time PZR görüntüsü



Şekil 4.4. *Helicobacter* spp.'nin erime eğrisi analizi görüntüsü

5. TARTIŞMA

Helicobacter pylori dünyada en iyi bilinen ve en eski mikroorganizmalardan biridir. *H. pylori* 'nin konakçı ve çevresel faktörlerin de devreye girmesi sonucunda peptik ülser, gastrit ve mide adenokarsinomunu da içeren bir dizi gastroduodenal hastalığın nedeni olabileceği bilinmektedir (100). Çok sayıda klinik araştırma, morfolojik ve moleküler olarak kanıtlamış *H. pylori* enfeksiyon oranının kronik hepatit, siroz ve karaciğer kanseri gibi kronik karaciğer hastalıkları ile takipli hastalarda sağlıklı kişilere göre daha yüksek olduğunu göstermiştir (101).

Kronik karaciğer hastalıkları, kronik viral hepatitler ve HCC karaciğer yetmezliğine yol açan hastalıklar olarak dünya çapında yüksek prevalansa sahiptir ve *H. pylori* enfeksiyonu ile karaciğer hastalığı arasındaki ilişki tartışılmaya devam edilmektedir. Özellikle kronik viral hepatitler başta olmak üzere kronik karaciğer hastalıklarının varlığı, siroz ve HCC için predispozan faktörlerdir. Yaş, cinsiyet, alkol alımı, obezite, hepatik steatoz, HIV, diyabet birlikteliği tetikleyen diğer değişkenler olarak yorumlanabilir ve tedaviye yanıt etkileyebilmektedir. Yapılmış farklı grup hastalardaki *Helicobacter* türlerinin araştırıldığı çalışma sonuçlarına bakıldığında hala birçok kronik karaciğer hastalığında sonuçların netleşmediği görülmektedir. Bu yüzden, karaciğer nakli için gerek ülkemiz içi gerekse yurt dışından akut ya da kronik karaciğer yetmezliği ve/veya HCC tanısı alan hastaların başvurduğu merkezimizde farklı hasta gruplarındaki karaciğer ve safra örneklerinde *H. pylori* varlığının araştırılması hedeflendi.

Merkezimizde yapılan karaciğer nakillerinin büyük çoğunluğunu canlı vericili karaciğer nakilleri oluşturmaktadır. Çalışmaya alınan evren değerlendirildiğinde çalışma süresi boyunca 109 alıcı arasında %94,5'inin canlı vericili karaciğer alıcısı olduğu dikkat çekmektedir. Bu oran genel hasta popülasyonuna göre daha yüksek olarak değerlendirilmiştir. Kadaverik alıcıların ameliyatlarının genellikle acil şartlarda yapılıyor olması ve vericilerin örneklerine ulaşma zorluklarından dolayı çalışma evrenindeki canlı vericili nakil oranının daha yüksek olduğu düşünülmektedir. Kontrol grubu olarak vericiler seçilmiş ve çalışmamızda alıcı ve vericiler arasında yaş bakımından fark olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Verici grubunun daha genç yaşta olması canlı vericili karaciğer nakillerinin ağırlıklı olduğu bu çalışmada doğal olarak karşılanabilir.

Özellikle HCC ile ilgili olarak, *H. pylori* genleri sıklıkla rezeke edilen HCC örneklerinde tespit edildiğinden, hepatokarsinogenezde *H. pylori*'nin doğrudan olmamakla birlikte olası bir rolü tanımlanmıştır. Dolayısıyla patogeneizde, altta yatan karaciğer hastalığının etiyojisine bakılmaksızın, *H. pylori* enfeksiyonuyla ortaya çıkan sitokinlerin, dolaşımda sirkülasyonu ile karaciğerin inflamatuvar durumunun kötüleşmesine yardımcı olabileceği görüşü önem kazanmıştır (13). Fukuda ve ark., mide ve bağırsak mukozal geçirgenliğindeki artış nedeniyle, *H. pylori* antijenlerinin portal ven yoluyla karaciğere ulaşabileceği ve böylece karaciğer hasarına neden olabileceğini öne sürmüşlerdir (102). *Helicobacter* enfeksiyonuna sekonder olarak karaciğerde kronik inflamasyon ve HCC ilişkisi hakkında literatürde pek az çalışma mevcuttur. Ki ve ark. bir murin modelinde, *H. pylori* enfeksiyonunun hepatik yıldız hücrelerinde artan TGF- β 1 ile indüklenen proinflamatuvar sinyal yolları yoluyla hepatik fibrozu hızlandırabileceğini ve *H. pylori* enfeksiyonunun TGF- β aracılı tümör oluşum riskini artırabileceğini göstermişlerdir (67). Xuan ve ark., 28 primer karaciğer karsinomlu hastanın üçünde (%10.7) *H. pylori*'yi pozitif olarak kültürlemişlerdir (86). Huang ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada 20 adet primer HCC tanılı ve 16 adet kontrol grubu hastasının karaciğer örnekleri incelenmiş, kanserli hastaların sekiz tanesinde *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Kontrol grubunun hiçbirinde *H. pylori* gösterilememiştir (103). Dore ve ark., hem karaciğer dokusu hem de seroloji üzerinde PZR kullanarak, HCC, karaciğer sirozu ve kronik hepatitli hastalarda *H. pylori* varlığını göstermişlerdir. HCC'li hastalarda *H. pylori* enfeksiyonu prevalansı diğer hasta gruplarından %73 kadar daha yüksek olarak bildirilmiştir (6). Verhoef ve ark., HCC'li hastaların %45'inde, kontrollerin %10'unda, Pellicano ve ark. da HCC'li hastaların %85'inde, kontrollerin %33'ünde *H. pylori* için pozitiflik bulmuşlardır (104,105) Çalışmamızda ise, HCC tanısı almış tüm hastaların safra ve karaciğer dokuları incelendiğinde toplamda 28 hastanın üçünde (%10.7) *Helicobacter* spp. PZR pozitifliği saptandı. Toplam 86 verici örneğinin %15,1'inde *Helicobacter* spp. mevcudiyeti, her iki grup arasında bir farklılık olmadığını gösterdi ($p>0,05$). Merkezimizin yüksek volümlü bir karaciğer nakli merkezi olması ve hasta gruplarının çeşitliliği, ayrıca verici örneklerinde de pozitifliklerin saptanması gruplar arasında farkın bulunamamasının nedenleri olarak değerlendirildi.

Karaciğer nakli yapılan hastaların nakil nedenleri arasında KHB, KHC, kriptojenik siroz, HCC, alkolik siroz, PBS, Budd Chiari Sendromu, PSK, otoimmün hepatit, Wilson hastalığı, dev hemanjiom, KHB+HCC, KHB+KHD+HCC, alveolar kist hastalığı gibi oldukça farklı hasta grupları bulunmaktaydı. Ancak, en sık görülen ilk üç nakil nedeni KHB (n=29), kriptojenik siroz (n=23) ve HCC (n=28) idi. Alıcı ve verici toplam karaciğer dokularının sadece

üçünde *H. pylori* gösterilmişken, safra sıvılarının 37'sinde *H. pylori* ve/veya *H. bilis* için PZR pozitifliği gösterildi. Toplamda alıcı grubunda %24.7 (27/109) verici grubunda %15.1 (13/86) hastada *Helicobacter* spp. pozitif saptanmıştır. İstatistiksel anlamlılık sınırında olmasa da klinik olarak destekleyen görüşlerin olması sevindiricidir. Ayrıca çalışmamız esnasında hastaların eradikasyon tedavisi alıp almadıkları da sorgulanmış, alıcı grubunda *H. pylori* eradikasyon tedavisinin çok daha yüksek oranda olduğu göz önüne alındığında, hasta ve kontrol grubu arasında beklenenden daha az farkın olmasının bir nedeninin de operasyon öncesinde *H. pylori* enfeksiyonu tedavisi ile eradikasyonun sağlanması olarak değerlendirildi. Ancak, yine de alıcıların kronik hastalıklarının uzun süredir devam etmesi ve daha ileri yaş ortalamasına sahip olmaları nedeniyle bu grupta *H. pylori* enfeksiyon sıklığının daha fazla olması beklenebilir. Alternatif invaziv ve invaziv olmayan testlerin çalışmamızda kullanılmamış olmasının da oranları etkilemiş olabileceği kanısındayız.

Aslında her ne kadar *H. pylori*'nin karaciğer hastalıklarının progresyon ya da oluşumunda rolü olduğu savunulsa da, henüz araştırmacılar arasında tutarlı bir görüş söz konusu değildir. Goo ve ark., Ito ve ark. ve Rocha ve ark., *H. pylori*'nin sadece kolonize bir bakteri olmadığını, aynı zamanda hepatik hastalıkların evrimine katkıda bulunduğunu bildirmelerine rağmen; Matsukura ve ark. klinik deneylerde, García ve ark. ise, hepatik steatoz ile karakterize edilen işaretli transgenik farelerde *H. pylori*'nin karaciğerden ziyade mideyi kolonize ettiğini ve HCC gelişiminde *H. pylori*'nin rolü olmadığı yönünde çalışma sonuçları bildirmişlerdir (67,106–109). Hatta Matsukura ve ark. *H. bilis*'in riskli hastalarda safra yolu ve safra kesesi kanserlerine neden olabileceği görüşünü ortaya atmışlardır. Garcia ve ark. ise, yukarıda bahsedilen çalışmada *H. pylori* ile enfekte olmadığı bilinen fareleri enfekte etmelerine rağmen, karaciğerde bakteriyi gösterememişlerdir. Ancak, midedeki değişiklikleri göstermişlerdir. Orrego ve ark.'nın bildirdikleri HCV ile ilişkili sirozu ve vaskülitli olan orta yaşlı bir erkek olguda rutin görüntüleme yöntemleri ile açıklanamayan bir alfa fetoprotein yüksekliği tespit edilmiş ve takiplerinde karaciğer nakli gerekliliği doğmuştur. Çıkarılan karaciğer ve komşu lenf nodları dahil olmak üzere histopatolojik olarak değerlendirilmiş ve MALT lenfoma olduğu tespit edilmiştir. Ancak hastada herhangi bir gastrointestinal tümör ya da *H. pylori* enfeksiyonu gösterilememiştir (110). Aynı şekilde Fox ve ark.'nın işaretli 22 fare üzerinde yaptığı bir çalışmada da hiç bir karaciğer dokusunda *H. pylori* izole edilememiştir. İlginç bir şekilde karaciğer dokusundaki morfoloji ve histopatolojik değişiklikler *Helicobacter* enfeksiyonu ile uyumlu olmasına rağmen, diğer bir tür olan *H. bilis* saptanmıştır. Literatürdeki farklı verilere dayanarak günümüzde araştırmacılar özellikle karaciğer patolojisine sahip

hastalarda *H. pylori* dışında izole edilen alt türlerden *H. bilis* ya da *H. pullorum* üzerinde yoğunlaşmışlardır. Bizim çalışmamızda verici ve alıcılarda, sadece safrada, azımsanmayacak oranda alıcı ve vericiler dahil toplam 40 *Helicobacter* saptanan örneğin 11 (%27.5)'inde *H. bilis* pozitifliği tespit edildi. Patogenez hakkında net yorum yapabilme şansı olmasa da, bir KHB, bir kriptojenik siroz, bir otoimmün hepatit ve iki Budd-Chiari tanısı almış alıcının safra örneğinde tek başına *H. bilis* saptanmış olup, bir KHB ve bir KHB+HCC'li alıcıda hem *H. pylori* hem de *H. bilis* PZR pozitifliğinin olduğu görülmüştür. İki sağlıklı verici safrasında izole *H. bilis* varlığı dikkat çekmektedir. İstatistiksel olarak değerlendirme yapılamasa da alıcı grubunda PZR pozitiflik oranlarının yüksek olması, gerek hasta bireylerin kolonizasyonu gerekse hastalıklar için risk faktörü olarak değerlendirilebilir. Ancak daha ileri çalışmalara gereksinim bulmakta olduğu kanaatindeyiz.

Helicobacter pylori, ektragastrik durumlar için de otoimmün tetikleyici bir faktör olarak kabul edilmiştir (111). Goo ve ark., *H. pylori* ile enfekte olmuş farelerde, insanlarda tanımlanana çok benzer şekilde PBS formu geliştiğini göstermiştir. Yazarlar, *VacA*'ya karşı yüksek serum IgG seviyeleri nedeniyle, anti-*VacA* antikörlerinin PBS'nin gelişiminde rol oynayabileceğini öne sürmüşlerdir (112). Shapira ve ark. kontrollere kıyasla PBS'li hastalarda daha yüksek anti-*H. pylori* IgG prevalansı bulmuşlardır (113). Nilsson ve ark., PBS ve PSK tanıları olan hastalardan elde edilen 24 karaciğer biyopsisini değerlendirmişler ve 24 hastanın 20 (%83)'sinde *H. pylori*'nin mevcut olduğunu saptamışlardır (114). Krasinskas ve ark.'nın ABD'de nakil gerektiren karaciğer yetmezliği tanıları olan hasta grubunda yaptığı bir çalışmada PSK tanılı 25 hastanın altısında (%24), mikrodisseke edilen safra kanallarında 16Sr RNA dizilerinin amplifikasyonu ile *Helicobacter* DNA'sı tespit edilmiştir. Kontrol grubunu oluşturan safra yolu hastalığı olmayan 31 hastanın ise üçü (%9,7) *H. pylori* için pozitif bulunmuştur. Aynı hasta grubunun serumları da *H. pylori* antikörleri için test edildiğinde *H. pylori* 56 hastanın 9 (%16)'unda pozitif saptanmıştır (81). Bizim çalışmamızda PSK tanılı iki ve PBS tanılı üç hastanın hem karaciğer dokusu hem safra sıvısı PZR yöntemiyle incelenmiş, fakat numunelerde *Helicobacter spp.* PZR pozitifliği saptanmamıştır. Literatür verilerinin kısıtlı olmasının yanında bizim alıcı grubumuz içinde tanı sayısı değerlendirme yapmak için yeterli görünmemektedir. Ayrıca çalışılan numunelerin safra ve karaciğer dokusu ile sınırlı kalması, antikör testlerinin yapılmamış olması çalışmamızın kısıtlılıkları olarak değerlendirilebilir.

Son yıllarda, *H. pylori* enfeksiyonu ile NAFLD arasındaki ilişkiye artan bir ilgi bulunmaktadır. NAFLD dünyanın birçok yerinde kronik karaciğer hastalıklarının önde gelen nedenidir (115). NAFLD, basit steatozdan alkolsüz karaciğer hastalığına kadar uzanan bir

hastalık yelpazesidir. Sumida ve ark. (116) gibi bazı yazarlar, *H. pylori*'nin eradikasyonunun NASH tedavisinde proinflamatuvar sitokinlerden biri olan TNF- α 'nın azalması yoluyla hastalığın klinik seyrini etkileyebileceğini rapor etmişlerdir. Ayrıca, diğer sitokinlerden IL-1 β , IL-6 ve IL-8'in de insülin direnci ve NASH etiyopatogenezi ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (117). Ülkemizde NAFLD riskinin de giderek arttığı bilinmekle beraber hala farkındalık konusunda sorunlar yaşanmaktadır. Yüksek volümlü bir merkez olduğumuzdan dolayı çoğunlukla hastalar dış merkez tanıları ile merkezimize gelmektedir. Kriptojenik siroz tanısı olmuş toplam 23 hasta içerisinde tanıların irdelenmemiş olması NAFLD konusunda gerçek bir veri elde edilememesine neden olmuştur. Bu hasta grubunun beş safra örneğinde *H. pylori* ve bir safra örneğinde *H. bilis* pozitifliği görülmüşken, sadece bir karaciğer dokusunda *H. pylori* tespit edilmiştir.

Helicobacter pylori varlığının sirotik hastalarda porto-sistemik ensefalopatiyi kötüleştirdiği üzerinde durulmaktadır. Kesin bir kanıt olmamakla birlikte sitotoksik suşların, PBS ve PSK tanısı olan hastalarda hepatik dokuya hasar verdiği, karaciğer enzimlerini artırdığı, ensefalopatisi gelişenlerden alınan doku örneklerinde PZR pozitifliği ile gösterilmiştir. Francavilla ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada izole karaciğer transaminaz yüksekliği ile takipli beş erkek hastanın üçünün endoskopisinde midede mukozal hiperemi ve bir hastada duodenum ülseri saptanmış, histopatolojik özellikler hepsinde aktif kronik pangastrit şeklinde raporlanmış ve *H. pylori*'nin pozitif olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda karaciğer perkutan biyopsilerinde minimal değişiklik saptanmıştır. Hastaların tümü üçlü eradikasyon tedavisine alındıktan sonra üre nefes testi yapılmış ve eradikasyondan sekiz ay sonra transaminaz seviyelerinin hala anormal düzeyde devam ettiği rapor edilmiştir. Çalışma sonucunda hem izole transaminaz yüksekliği olan hastalarda, hem de *H. pylori*'nin sitotoksik suşları ile enfekte olan hasta hepatositlerinde *vac A*'nın saptanabileceği görülmüştür. Yani tek başına *H. pylori* enfeksiyonu transaminaz enzimlerinde yükselemelere neden olamayabileceği gibi, *H. pylori* eradikasyonu sağlananlarda enzim yüksekliğinin devam ediyor olması eşlik eden başka patolojilerin olabileceğini düşündürmektedir (3).

HCC'nin gelişiminde *H. pylori* ile HBV veya HCV birlikteliği arasındaki ilişki de tanımlanmıştır. HCV ile enfekte olmuş insanlarda yapılan önceki çalışmalar, *H. pylori*'nin HCC patogenezinde ve ilerlemesinde rol oynayabildiği, toksin ya da proinflamatuvar sitokinler aracılığı ile doğrudan ya da dolaylı mekanizmalarla karaciğer hasarına sebep olabileceğini düşündürmektedir. HCV ile enfekte olmuş hastalarda yapılan bir araştırmada sirotik olmayan kronik hepatitli bireylerin %3,5'inde, sirotik karaciğerde %61-68 ve HCC tümör dokusunda

%90 oranlarında *H.pylori* DNA'sının varlığı gösterilmiştir (107). HCV ile ilişkili kronik hepatitli 18 hasta, 12 siroz tanılı ve 11 HCC'li toplam 41 hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada *H. pylori*'nin, HCC dokularının %55'inde ve HCV ile ilişkili kronik hepatit-siroz grubunun %17'sinde pozitif bulunduğu bildirilmiştir (6).

Helicobacter pylori ve HBV nedenli karaciğer hastalıkları arasındaki ilişkileri düşündüren çalışmalar da bulunmaktadır (118). Çin toplumunun değerlendirildiği bir meta-analizde, HBV ile ilişkili karaciğer hastalığı olanlarda *H. pylori* enfeksiyon prevalansının, hastalık şiddeti ile korele olarak arttığı saptanmıştır (119). Çalışmada KHB hastalarında sağlıklı popülasyona göre *H. pylori*'nin pozitiflik oranı 2,44 kat daha yüksek bulunmuş, HBV ilişkili sirozlu hastalarda *H. pylori* oranı 4,28 kat artmış iken, HBV ilişkili HCC'li hastalarda ise bu oran 6,02'ye çıkmıştır. Bu sonuçları desteklemeyen görüşler de mevcuttur, örneğin Ceylan ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada KHB tanılı, gastrik örneklerinde *H.pylori* pozitif olan 93 hastada karaciğer hasarına bakılmış ve midedeki *H. pylori* ile karaciğerdeki histopatoloji ve fibröz derecesi ilişkilendirilememiştir (120). Bizim çalışmamızda da HCV ilişkili kronik hepatit nedeniye nakil olan iki hastanın bir tanesinin safra sıvısında *H. pylori* pozitif saptanmıştır. Çalışma grubumuzda kronik hepatit B nedeniyle karaciğer nakli yapılan 29 alıcımızın karaciğer doku örneğinde *H. pylori* saptanmazken, safra sıvılarının altısında *Helicobacter spp.* PZR pozitif sonuçlanmıştır. Sonuç olarak, hem KHC hem de KHB'li alıcıların karaciğerinde *H. pylori* veya *H. bilis* pozitifliği saptanmamıştır.

Çoğunlukla ileri veya son evrelerde tanı konulduğundan dolayı, HCC kötü prognozlu bir kanser türüdür. Bugüne kadar, *H. pylori* enfeksiyonu ile karaciğer hastalıkları arasındaki ilişki hakkında kesin bir sonuca varmak için yeterli kanıt yoktur. Ancak, eradikasyon sonrası azalan hastalık oranları bildirilmiştir. HCC için karaciğer transplantasyonu, erken evre tümörleri olan hastalar için en iyi tedavi seçeneğidir ve dünya çapındaki çoğu merkezde gerçekleştirilen tüm karaciğer nakillerinin yaklaşık %20-40'ını oluşturmaktadır (121). Çeşitli ilaçların etkinliğini test eden çok sayıda çalışma, HCC'nin kemoterapiye düşük duyarlılığa sahip olduğunu göstermiştir ve bazı kemoterapikler intrinsik veya edinilmiş ilaç direncine bağlı olarak başarısız kalmaktadır. Bu sebeple erken evrede teşhis ve uygun şartlar sağlandığında günümüzün en etkin tedavi rejimi olarak kabul edilen karaciğer nakli tüm dünyada giderek önem kazanmaktadır.

Transplantasyon yapılan hastaların önemli bir kısmında karaciğerin ve safra yollarının kronik inflamatuvar veya otoimmün hastalıkları yanında hepatosellüler kanser bulunmaktadır. Bu hastalıkların patogenezi ve prognozuna kronik *H. pylori* enfeksiyonlarının katkısı hala

araştırma konusudur. Her ne kadar kısıtlı yurt dışı verileri olsa da bölgemize ait verilerin farklılık arz edebileceği göz önüne alındığında konu daha da önemli hale gelmektedir ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duymaktadır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

- İnönü Üniversitesi Karaciğer Nakli Enstitüsünde 19 Nisan 2017-19 Mayıs 2018 tarihleri arasında HCC ya da kronik karaciğer hastalığı nedeniyle karaciğer nakli yapılmış 18 yaş ve üzerinde olan yetişkin hastalardan alınan 195 adet safra ve karaciğer örnekleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, Moleküler Mikrobiyoloji Laboratuvarında çalışıldı.
- Çalışmaya toplam 109 alıcı ve 86 verici alındı. Alıcı ve verici grubunda karaciğer ve safrada *Helicobacter* türlerinin varlığı PZR testi ile araştırıldı.
- Alıcıların %24,7 (27/109)'sinde ve vericilerin %15,1 (13/86)'inde *Helicobacter* spp. enfeksiyonu saptandı.
- Vericilerin safra örneklerinden sekizinde (%9,3) *H. pylori*, ikisinde (%2,3) *H. bilis*, ikisinde (%2,3) ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptanırken, karaciğer dokularının sadece birinde (%1,2) *H. pylori* PZR pozitifliği mevcuttu.
- Karaciğer nakli alıcılarının safra örneklerinin 18 (%16,5)'inde *H. pylori*, beşinde (%4,6) *H. bilis*, ikisinde (%1,8) ise *H. pylori*+*H. bilis* PZR pozitifliği saptandı.
- Alıcıların karaciğer dokularından ise ikisinde (%1,8) *H. pylori* PZR pozitifliği saptanırken, hepsinde *H. bilis* PZR negatifti. Alıcı ve vericiler arasında hem safra hem de karaciğer dokusunda *Helicobacter* türlerinin mevcudiyeti açısından istatistiksel olarak bir fark görülmedi.
- Bu çalışma hastanemizin Karaciğer Nakil Enstitüsünde bu profildeki hasta grubu ve etkenin değerlendirildiği prospektif bir vaka-kontrol çalışmasıdır.
- Ükemizde kronik karaciğer hastalığı ve/veya hepatosellüler karsinom nedeniyle karaciğer nakli olan özellikli hasta grubu ile vericilerinin birlikte değerlendirilip *H. pylori* varlığının araştırıldığı ilk çalışmadır.
- Çalışmamızın bulgularına dayanarak karaciğer nakli yapılan hastaların nakil nedenleri ile *Helicobacter* türlerine bağlı enfeksiyonlar arasında korelasyon kurabilme şansı istatistiksel olarak mümkün değildir. Ancak, ülkemizde ve literatürde az sayıda çalışma olması nedeniyle özgün değerinin yüksek olduğu düşünülmektedir.
- Çalışmamız sonuçlarına göre *H. pylori* enfeksiyonunun sıklığı, kontrol grubuna kıyasla daha fazladır. Hastalık süresi uzadıkça ve yaş ilerledikçe enfeksiyon oranlarında artışlar beklenebilir. Gerek nakil öncesi gerekse nakil sonrasında gereken her hastada eradikasyon tedavisinin hasta yararına olacağı açıktır.

KAYNAKLAR

1. Venerito M, Vasapolli R, Rokkas T, Malfertheiner P. Helicobacter pylori and Gastrointestinal Malignancies. 2015;20(March):36–9.
2. Wu X, Chen D. Helicobacter pylori and hepatocellular carcinoma : Correlated or uncorrelated ? 2006;21:345–7.
3. Francavilla A, Ierardi E. Helicobacter species in liver and biliary diseases. Dig Liver Dis. 2000;32(SUPPL. 3):217–9.
4. Article O. Effect of Helicobacter bilis Infection on Human Bile Duct Cancer Cells. 2010;1905–10.
5. Casswall TH, Németh A, Nilsson I, Wadström T, Nilsson H. Helicobacter species DNA in liver and gastric tissues in children and adolescents with chronic liver disease. 2010;(July 2009):160–7.
6. Dore MP, Realdi G, Mura D, Graham DY, Sepulveda AR. Helicobacter Infection in Patients with HCV-Related Chronic Hepatitis , Cirrhosis , and Hepatocellular Carcinoma. 2002;47(7):1638–43.
7. Castera L. Invasive and non-invasive methods for the assessment of fibrosis and disease progression in chronic liver disease. Best Pract Res Clin Gastroenterol [Internet]. 2011;25(2):291–303. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2011.02.003>
8. Incidence NC, Lived Y, Disability W. Erratum: Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 32 cancer groups, 1990 to 2015: A systematic analysis for the global burden of disease study (JAMA. JAMA Oncol. 2017;3(3):418.
9. Yang JD, Hainaut P, Gores GJ, Amadou A, Plymoth A, Roberts LR, et al. HHS Public Access prevention and management. 2019;16(10):589–604.
10. Fox JG, Yan LL, Dewhirst FE, Paster BJ, Shames B, Murphy JC, et al. Helicobacter

- bilis sp. nov., a novel *Helicobacter* species isolated from bile, livers, and intestines of aged, inbred mice. *J Clin Microbiol.* 1995;33(2):445–54.
11. Tu Q V, Okoli AS, Kovach Z, Mendz GL. Hepatocellular carcinoma: prevalence and molecular pathogenesis of. 2010;1283–301.
 12. Rabelo-gonçalves EMA, Roesler BM, Zeitune J. Extragastric manifestations of *Helicobacter pylori* infection : Possible role of bacterium in liver and pancreas diseases. 2015;7(30):2968–79.
 13. Waluga M, Kukla M, Żorniak M, Bacik A, Kotulski R, Waluga M, et al. From the stomach to other organs : *Helicobacter pylori* and the liver. 2015;7(18):2136–46.
 14. Barry J. Saturday 16. 1984;1(June).
 15. Roesler BM, Rabelo-Gonçalves EMA, Zeitune JMR. Virulence factors of *Helicobacter pylori*: A review. *Clin Med Insights Gastroenterol.* 2014;7:9–27.
 16. Goh KL, Chan WK, Shiota S, Yamaoka Y. Epidemiology of *Helicobacter pylori* Infection and Public Health Implications. *Helicobacter.* 2011;16(SUPPL. 1):1–9.
 17. Kivi M, Johansson ALV, Reilly M, Tindberg Y. *Helicobacter pylori* status in family members as risk factors for infection in children. *Epidemiol Infect.* 2005;133(4):645–52.
 18. Torres J, Leal-Herrera Y, Perez-Perez G, Gomez A, Camorlinga-Ponce M, Cedillo-Rivera R, et al. A community-based seroepidemiologic study of *Helicobacter pylori* infection in Mexico. *J Infect Dis.* 1998;178(4):1089–94.
 19. Kao CY, Sheu BS, Wu JJ. *Helicobacter pylori* infection: An overview of bacterial virulence factors and pathogenesis. *Biomed J [Internet].* 2016;39(1):14–23. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bj.2015.06.002>
 20. Ilver D, Arnqvist A, Ögren J, Frick IM, Kersulyte D, Incecik ET, et al. *Helicobacter pylori* adhesin binding fucosylated histo-blood group antigens revealed by retagging. *Science (80-).* 1998;279(5349):373–7.
 21. Weeks DL, Eskandari S, Scott DR, Sachs G. A H⁺-gated urea channel: The link between *Helicobacter pylori* urease and gastric colonization. *Science (80-).* 2000;287(5452):482–5.

22. Mobley HLT. The role of *Helicobacter pylori* urease in the pathogenesis of gastritis and peptic ulceration. *Aliment Pharmacol Ther Suppl.* 1996;10(1):57–64.
23. Nilius M, Malfertheiner P. *Helicobacter pylori* enzymes. *Aliment Pharmacol Ther Suppl.* 1996;10(1):65–71.
24. Atherton JC, Cover TL, Twells RJ, Morales MR, Hawkey CJ, Blaser MJ. Simple and accurate PCR-based system for typing vacuolating cytotoxin alleles of *Helicobacter pylori*. *J Clin Microbiol.* 1999;37(9):2979–82.
25. Carcinogenesis H, Varga MG, Carolina N, Hill C, States U, Epplein M, et al. *Helicobacter pylori*-Mediated Carcinogenesis [Internet]. 3rd ed. *Encyclopedia of Cancer*, 3rd Edition. Elsevier Inc.; 2018. 1–12 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.65172-3>
26. Censini S, Lange C, Xiang Z, Crabtree JE, Ghiara P, Borodovsky M, et al. *cagA*, a pathogenicity island of *Helicobacter pylori*, encodes type I-specific and disease-associated virulence factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(25):14648–53.
27. Covacci A, Censini S, Bugnoli M, Petracca R, Burroni D, Macchia G, et al. Molecular characterization of the 128-kDa immunodominant antigen of *Helicobacter pylori* associated with cytotoxicity and duodenal ulcer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90(12):5791–5.
28. Shiota S, Watada M, Matsunari O, Iwatani S, Suzuki R, Yamaoka Y. *Helicobacter pylori iceA*, clinical outcomes, and correlation with *cagA*: A meta-analysis. *PLoS One.* 2012;7(1).
29. Yamaoka Y, Kwon DH, Graham DY. A Mr 34,000 proinflammatory outer membrane protein (*oipA*) of *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(13):7533–8.
30. Tabassam FH, Graham DY, Yamaoka Y. *OipA* plays a role in *Helicobacter pylori*-induced focal adhesion kinase activation and cytoskeletal re-organization. *Cell Microbiol.* 2008;10(4):1008–20.
31. Šterbenc A, Jarc E, Poljak M, Homan M. *Helicobacter pylori* virulence genes. *World J Gastroenterol.* 2019;25(33):4870–84.
32. Yanaka A. Role of heat shock protein in gastric mucosal protection. *Nippon rinsho Japanese J Clin Med.* 2007;65(10):1890–5.

33. Ernst PB, Jin Y, Reyes VE, Crowe SE. The role of the local immune response in the pathogenesis of peptic ulcer formation. *Scand J Gastroenterol.* 1994;29(S205):22–8.
34. Ee EC. Gastric mucosal inflammatory responses to. 1996;10:29–37.
35. Tummuru MKR, Sharma SA, Blaser MJ. *Helicobacter pylori* picB, a homologue of the *Bordetella pertussis* toxin secretion protein, is required for induction of IL-8 in gastric epithelial cells. *Mol Microbiol.* 1995;18(5):867–76.
36. Covacci A, Rappuoli R. Tyrosine-phosphorylated bacterial proteins: Trojan horses for the host cell. *J Exp Med.* 2000;191(4):587–92.
37. El-Omar EM, Carrington M, Chow WH, McColl KEL, Bream JH, Young HA, et al. Interleukin-1 polymorphisms associated with increased risk of gastric cancer. *Nature.* 2000;404(6776):398–402.
38. Byrne MF, Kerrigan SW, Corcoran PA, Atherton JC, Murray FE, Fitzgerald DJ, et al. *Helicobacter pylori* binds von Willebrand factor and interacts with GPIb to induce platelet aggregation. *Gastroenterology.* 2003;124(7):1846–54.
39. Van Duynhoven YTHP, De Jonge R. Transmission of *Helicobacter pylori*: A role for food? *Bull World Health Organ.* 2001;79(5):455–60.
40. Marshall BJ, Armstrong JA, McGeachie DB, Glancy RJ. Attempt to fulfil Koch's postulates for pyloric campylobacter. *Med J Aust.* 1985;142(8):436–9.
41. Harford W V., 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(4):467–72.
42. Kadanalı A, Özkurt Z. *Helicobacter pylori* infeksiyonu: Epidemiyoloji, patogenez ve ilişkili hastalıkları. *Klimik Derg.* 2004;17(3):146–50.
43. Paull G, Yardley JH. Gastric and esophageal *Campylobacter pylori* in patients with Barrett's esophagus. *Gastroenterology* [Internet]. 1988;95(1):216–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/0016-5085\(88\)90316-2](http://dx.doi.org/10.1016/0016-5085(88)90316-2)
44. Väänänen H, Vauhkonen M, Helske T, Kääriäinen I, Rasmussen M, Tunturi-Hihnala H, et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: A

- multicentre study. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2003;15(8):885–91.
45. Lu CL, Chang SS, Wang SS, Chang FY, Lee SD. Silent peptic ulcer disease: Frequency, factors leading to “silence,” and implications regarding the pathogenesis of visceral symptoms. *Gastrointest Endosc*. 2004;60(1):34–8.
 46. Matthewson K, Pugh S, Northfield TC. Which peptic ulcer patients bleed? *Gut*. 1988;29(1):70–4.
 47. Lanas A, Chan FKL. Peptic ulcer disease. *Lancet* [Internet]. 2017;390(10094):613–24. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32404-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32404-7)
 48. Yamaoka Y. Roles of the plasticity regions of *Helicobacter pylori* in gastroduodenal pathogenesis. *J Med Microbiol*. 2008;57(5):545–53.
 49. Peek RM, Miller GG, Tham KT, Perez-Perez GI, Cover TL, Atherton JC, et al. Detection of *Helicobacter pylori* gene expression in human gastric mucosa. *J Clin Microbiol*. 1995;33(1):28–32.
 50. Strömberg E, Edebo A, Lundin BS, Bergin P, Brisslert M, Svennerholm AM, et al. Down-regulation of epithelial IL-8 responses in *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients depends on host factors, rather than bacterial factors. *Clin Exp Immunol*. 2005;140(1):117–25.
 51. El-Serag HB, Sonnenberg A. Opposing time trends of peptic ulcer and reflux disease. *Gut*. 1998;43(3):327–33.
 52. Hackelsberger A, Schultze V, Gunther T et al. *Helicobacter pylori* prevalence in reflux esophagitis: A case control study. *Gastroenterology*; 1997. p. 112: A137.
 53. Shirota T, Kusano M, Kawamura O, Horikoshi T, Mori M, Sekiguchi T. *Helicobacter pylori* infection correlates with severity of reflux esophagitis: With manometry findings. *J Gastroenterol*. 1999;34(5):553–9.
 54. Vaezi MF, Falk GW, Peek RM, Vicari JJ, Goldblum JR, Perez-Perez GI, et al. CagA-positive strains of *Helicobacter pylori* may protect against Barrett’s esophagus. *Am J Gastroenterol*. 2000;95(9):2206–11.
 55. Ağbaba E, Nazlıgül Y, Yeniova AÖ, Yıldız M, Bulur O, Tezer A, et al. *Helikobakter pilori* eradikasyonun fonksiyonel dispepsi semptomları üzerine kısa dönem etkileri The

- short-term effects of *Helicobacter pylori* eradication on symptoms of functional dyspepsia. 2010;37(3):211–6.
56. Moayyedi P. An update of the Cochrane systematic review of *Helicobacter pylori* eradication therapy in nonulcer dyspepsia: resolving the discrepancy between systematic reviews. *Am J Gastroenterol*. 2003;98(12):2621–6.
 57. Salar A. Gastric MALT lymphoma and *Helicobacter pylori*. *Med Clin (Barc)* [Internet]. 2019;152(2):65–71. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.09.006>
 58. Wang F, Meng W, Wang B, Qiao L. *Helicobacter pylori*-induced gastric inflammation and gastric cancer. *Cancer Lett* [Internet]. 2014;345(2):196–202. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.canlet.2013.08.016>
 59. Violeta Filip P, Cuciureanu D, Sorina Diaconu L, Maria Vladareanu A, Silvia Pop C. MALT lymphoma: epidemiology, clinical diagnosis and treatment. *J Med Life*. 2018;11(3):187–93.
 60. Huang JQ, Sridhar S, Chen Y, Hunt RH. Meta-analysis of the relationship between *Helicobacter pylori* seropositivity and gastric cancer. *Gastroenterology*. 1998;114(6):1169–79.
 61. Parsonnet J, Vandersteen D, Goates J, Sibley RK, Pritikin J, Chang Y. *Helicobacter pylori* infection in intestinal- and diffuse-type gastric adenocarcinomas. *J Natl Cancer Inst*. 1991;83(9):640–3.
 62. Forman D, Coleman M, De Backer G, Elder J, Moller H, Cayolla da Motta L, et al. An international association between *Helicobacter pylori* infection and gastric cancer. *Lancet*. 1993;341(8857):1359–63.
 63. Aomi N, Emura U, Kamoto HO, Oichiro S, Amamoto Y, Obutoshi N, et al. The New England Journal of Medicine HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND THE DEVELOPMENT OF GASTRIC CANCER A BSTRACT Background Although many studies have found. *N Engl J Med* [Internet]. 2001;345(11):784–9. Available from: www.nejm.org
 64. Goni E, Franceschi F. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases. *Helicobacter*. 2016;21:45–8.
 65. Pellicano R, Ménard A, Rizzetto M, Mégraud F. *Helicobacter* species and liver

- diseases: association or causation? *Lancet Infect Dis*. 2008;8(4):254–60.
66. Goo MJ, Ki MR, Lee HR, Yang HJ, Yuan DW, Hong IH, et al. *Helicobacter pylori* promotes hepatic fibrosis in the animal model. *Lab Investig* [Internet]. 2009;89(11):1291–303. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/labinvest.2009.90>
 67. Ki MR, Goo MJ, Park JK, Hong IH, Ji AR, Han SY, et al. *Helicobacter pylori* accelerates hepatic fibrosis by sensitizing transforming growth factor-B1-induced inflammatory signaling. *Lab Investig*. 2010;90(10):1507–16.
 68. Wheeler MD, Kono H, Yin M, Nakagami M, Uesugi T, Arteel GE, et al. The role of kupffer cell oxidant production in early ethanol-induced liver disease. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(12):1544–9.
 69. Esmat G, El-Bendary M, Zakarya S, Ela MA, Zalata K. Role of *Helicobacter pylori* in patients with HCV-related chronic hepatitis and cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma: Possible association with disease progression. *J Viral Hepat*. 2012;19(7):473–9.
 70. de Alwis NMW, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: The mist gradually clears. *J Hepatol*. 2008;48(SUPPL. 1):104–12.
 71. Rafiq N, Bai C, Fang Y, Srishord M, McCullough A, Gramlich T, et al. Long-Term Follow-Up of Patients With Nonalcoholic Fatty Liver. *Clin Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2009;7(2):234–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cgh.2008.11.005>
 72. Li M, Shen Z, Li YM. Potential role of *Helicobacter pylori* infection in nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*. 2013;19(41):7024–31.
 73. Cindoruk M, Cirak MY, Unal S, Karakan T, Erkan G, Engin D, et al. Identification of *Helicobacter* species by 16S rDNA PCR and sequence analysis in human liver samples from patients with various etiologies of benign liver diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20(1):33–6.
 74. Pirouz T, Zounubi ÆL, Keivani ÆH. Detection of *Helicobacter pylori* in Paraffin-Embedded Specimens from Patients with Chronic Liver Diseases , Using the Amplification Method. 2009;1456–9.
 75. Abenavoli L, Milic N, Masarone M, Persico M. Association between non-alcoholic

- fatty liver disease , insulin resistance and *Helicobacter pylori*. *Med Hypotheses* [Internet]. 2013;81(5):913–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mehy.2013.08.011>
76. Polyzos SA, Kountouras J, Papatheodorou A, Patsiaoura K, Katsiki E, Zafeiriadou E, et al. *Helicobacter pylori* infection in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism* [Internet]. 2013;62(1):121–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2012.06.007>
 77. Dindzans VJ, Thiel DHVAN, Gavalier JS. Prevalence of Endoscopic Findings in 510 Consecutive Individuals with Cirrhosis Evaluated Prospectively. 1990;35(6):705–10.
 78. Abdel-hady H, Zaki A, Badra G, Lotfy M, Selmi C. *Helicobacter pylori*. 2007;1026–33.
 79. Encephalopathy H. Does H . *pylori* Eradication Therapy Benefit Patients With Systematic Review. 2014;48(6):491–9.
 80. Lampertico P, Vigano M, Cheroni C, Facchetti F, Invernizzi F. *Helicobacter pylori* Induced Cognitive Dysfunction Might Be Associated With Reply : 2013;(March):2013.
 81. Krasinskas AM, Yao Y, Randhawa P, Dore MP, Sepulveda AR. *Helicobacter pylori* May Play a Contributory Role in the Pathogenesis of Primary Sclerosing Cholangitis. 2007;2265–70.
 82. Lau WY. Primary Liver Tumors. 2000;(852):135–44.
 83. Marrazzo J. Liver cancer in low and middle income countries. 2003;326(May):994–5.
 84. Liu C, Kao J. Hepatitis B Virus-related Hepatocellular Carcinoma : Epidemiology and Pathogenic Role of Viral Factors. *J Chinese Med Assoc* [Internet]. 2007;70(4):141–5. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901\(09\)70346-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1726-4901(09)70346-6)
 85. Farinati F, Cardin R, Bortolami M, Burra P, Russo FP, Rugge M, et al. Hepatitis C virus : from oxygen free radicals to hepatocellular carcinoma. 2007;821–9.
 86. Xuan S, Li N, Qiang X, Zhou R, Shi Y, Jiang W. *Helicobacter* infection in hepatocellular carcinoma tissue. 2006;12(15):2335–40.
 87. Taylor NS, Fox JG, Yan L. I n -vitro hepatotoxic factor in *Helicobacter hepaticus* , H . *pylori* and other *Helicobacter* species. 1995;42:48–52.

88. Balkwill F, Mantovani A. Inflammation and cancer : back to Virchow ? 2001;357:539–45.
89. Wang YK, Kuo FC, Liu CJ, Wu MC, Shih HY, Wang SSW, et al. Diagnosis of helicobacter pylori infection: Current options and developments. *World J Gastroenterol.* 2015;21(40):11221–35.
90. Chey WD, Wong BCY, Ph D. American College of Gastroenterology Guideline on the Management of Helicobacter pylori Infection. 2007;1808–25.
91. Laine L, Estrada R, Trujillo M, Knigge K, Fennerty MB. Effect of Proton-Pump Inhibitor Therapy on Diagnostic Testing for Helicobacter pylori. 1998;129(7):547–50.
92. Gisbert JP, Ph D, Morena F De, Ph D. Accuracy of Monoclonal Stool Antigen Test for the Diagnosis of H . pylori Infection : A Systematic Review and Meta-Analysis. 2006;1921–30.
93. Gatta L, Vakil N, Ricci C, Osborn JF, Ph D, Sc B, et al. Effect of Proton Pump Inhibitors and Antacid Therapy on 13 C Urea Breath Tests and Stool Test for Helicobacter Pylori Infection. 2004;(November 2002).
94. Wright CL, Kelly JK. The use of routine special stains for upper gastrointestinal biopsies. *Am J Surg Pathol.* 2006;30(3):357–61.
95. Faigel DO, Childs M, Furth EE, Alavi A, Metz DC. New Noninvasive Tests for Helicobacter pylori Gastritis: Comparison with Tissue-Based Gold Standard. *Dig Dis Sci.* 1996;41(4):740–8.
96. Lim C, Lee K, Cho M, Chang M, Kim S, Myong N, et al. Detection of Helicobacter pylori in Gastric Mucosa of Patients with Gastroduodenal Diseases by PCR-Restriction Analysis Using the RNA Polymerase Gene (rpoB). 2003;41(7):3387–91.
97. Yang J, Lu C, Lin C. Treatment of Helicobacter pylori infection : Current status and future concepts. 2014;20(18):5283–93.
98. Nilsson HO. Enteric Helicobacter and H. pylori in chronic inflammation and cancer of the hepatobiliary tract and pancreas. Printed by KFS AB, Lund, Sweden, 2004.
99. Roosendaal, R., Kuipers, E. J., Vandenbroucke-Grauls, C. M., & Kusters, J. G. (2002). Helicobacter Species Are Not Detectable by 16S rDNA PCR in Bile from Dutch

- Patients with Common Bile Duct Stones. *Digestion*, 66(2), 89-91.
100. Gravina AG, Zagari RM, Musis C De, Romano L, Loguercio C, Gravina AG, et al. *Helicobacter pylori* and extragastric diseases : A review. 2018;24(29):3204–21.
 101. Nilsson I, Lindgren S, Eriksson S, Wadström T. Serum antibodies to *Helicobacter hepaticus* and *Helicobacter pylori* in patients with chronic liver disease. *Gut*. 2000;46(3):410–4.
 102. Aspects N, Repair M. *Helicobacter pylori* Infection Increases Mucosal Permeability of the Stomach. 2001;63(suppl 1):93–6.
 103. Huang Y, Fan XG, Wang ZM, Zhou JH, Tian XF, Li N. Identification of *Helicobacter* species in human liver samples from patients with primary hepatocellular carcinoma. *J Clin Pathol*. 2004;57(12):1273–7.
 104. Verhoef C, Pot RGJ, Man RA De, Zondervan PE, Kuipers EJ, Ijzermans JNM, et al. Detection of identical *Helicobacter* DNA in the stomach and in the non-cirrhotic liver of patients with hepatocellular carcinoma. 13:1171–4.
 105. Pellicano R, Mazzaferro V, Grigioni WF, Cutufia MA, Fagoonee S, Silengo L, et al. *Helicobacter* species sequences in liver samples from patients with and without hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol*. 2004;10(4):598–601.
 106. Ito K, Nakamura M, Toda G, Negishi M, Torii A, Ohno T. Potential role of *Helicobacter pylori* in hepatocarcinogenesis. *Int J Mol Med*. 2004;13(2):221–7.
 107. Rocha M, Avenaudo P, Me A, Bail B Le, Balabaud C, Magalha DM De, et al. Association of *Helicobacter* species with hepatitis C cirrhosis with or without hepatocellular carcinoma. 2005;396–401.
 108. Matsukura N, Yokomuro S, Yamada S, Tajiri T, Sundo T, Hadama T, et al. Association between *Helicobacter bilis* in bile and biliary tract malignancies: *H. bilis* in bile from Japanese and Thai patients with benign and malignant diseases in the biliary tract. *Japanese J Cancer Res*. 2002;93(7):842–7.
 109. García A, Feng Y, Parry NMA, McCabe A, Mobley MW, Lertpiriyapong K, et al. *Helicobacter pylori* infection does not promote hepatocellular cancer in a transgenic mouse model of hepatitis C virus pathogenesis. *Gut Microbes*. 2013;4(6):577–90.

110. Orrego M, Guo L, Reeder C, De Petris G, Balan V, Douglas DD, et al. Hepatic B-cell non-Hodgkin's lymphoma of MALT type in the liver explant of a patient with chronic hepatitis C infection. *Liver Transplant*. 2005;11(7):796–9.
111. Smyk DS, Koutsoumpas AL, Mytilinaiou MG, Rigopoulou EI, Sakkas LI. *Helicobacter pylori* and autoimmune disease : Cause or bystander. 2014;20(3):613–29.
112. Goo M, Ki M, Lee H, Hong I, Park J, Yang H, et al. Primary biliary cirrhosis , similar to that in human beings , in a male C57BL / 6 mouse infected with *Helicobacter Pylori*. :1045–8.
113. Shapira Y, Agmon-levin N, Renaudineau Y, Porat-katz BS, Barzilai O, Ram M, et al. Serum markers of infections in patients with primary biliary cirrhosis : evidence of infection burden. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2012;93(3):386–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yexmp.2012.09.012>
114. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org on March 29, 2011. For personal use only. No other uses without permission. *N Engl J Med* [Internet]. 1991;329(14):977–86. Available from: <http://content.nejm.org/cgi/content/abstract/329/14/977%5Cnhttp://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJM199309303291401>
115. Fazel Y, Koenig AB, Sayiner M, Goodman ZD, Younossi ZM. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Metabolism* [Internet]. 2016;65(8):1017–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2016.01.012>
116. Sumida Y, Kanemasa K, Imai S, Mori K, Tanaka S. *Helicobacter pylori* infection might have a potential role in hepatocyte ballooning in nonalcoholic fatty liver disease. 2015;(C1d).
117. Basso D, Plebani M, Kusters JG. Pathogenesis of *Helicobacter pylori* Infection. 2010;15:14–20.
118. Ponzetto A, Pellicano R, Leone N, Berrutti M, Turrini F, Rizzetto M. *Helicobacter pylori* seroprevalence in cirrhotic patients with hepatitis B virus infection. *Neth J Med*. 2000;56(6):206–10.
119. Wang J, Chen RC, Zheng YX, Zhao SS, Li N, Zhou RR, et al. *Helicobacter pylori*

infection may increase the risk of progression of chronic hepatitis B disease among the Chinese population: a meta-analysis. *Int J Infect Dis* [Internet]. 2016;50:30–7.
Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijid.2016.07.014>

120. Ernst PB, Gold BD. THE DISEASE SPECTRUM OF HELICOBACTER PYLORI :
The Immunopathogenesis of Gastroduodenal Ulcer and Gastric Cancer CONTENTS.
Microbiol Immunol. 2000;9(1):34–41.
121. Sapisochin G, Bruix J. Liver transplantation for hepatocellular. *Nat Publ Gr*.

